

(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2004-509617

(P2004-509617A)

(43) 公表日 平成16年4月2日(2004.4.2)

(51) Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/09	C 1 2 N 15/00	A 4 B O 2 4
A 6 1 K 38/00	A 6 1 K 39/00	H 4 B O 6 4
A 6 1 K 39/00	A 6 1 K 39/395	D 4 B O 6 5
A 6 1 K 39/395	A 6 1 P 37/02	4 C O 8 4
A 6 1 P 37/02	A 6 1 P 43/00	1 O 5 4 C O 8 5
	審査請求 未請求 予備審査請求 有	(全 276 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2002-525188 (P2002-525188)	(71) 出願人	596129215
(86) (22) 出願日	平成13年9月7日 (2001.9.7)		シェーリング コーポレイション
(85) 翻訳文提出日	平成15年3月6日 (2003.3.6)		Schering Corporation
(86) 国際出願番号	PCT/US2001/028013		アメリカ合衆国 ニュージャージー 07
(87) 国際公開番号	W02002/020569		033-0530, ケニルワース, ギ
(87) 国際公開日	平成14年3月14日 (2002.3.14)		ャロッピング ヒル ロード 2000,
(31) 優先権主張番号	60/231, 267		パテント デパートメント - ケイ-6
(32) 優先日	平成12年9月8日 (2000.9.8)		-1 1990
(33) 優先権主張国	米国 (US)		2000 Galloping Hill
			Road, Kenilworth,
			New Jersey 07033-05
			30, U. S. A
		(74) 代理人	100078282
			弁理士 山本 秀策
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 哺乳動物遺伝子；関連試薬および方法

(57) 【要約】

哺乳動物（例えば、霊長類または齧歯類）の遺伝子、精製タンパク質およびそのフラグメントをコードする核酸。ポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体の両方もまた、提供される。診断的有効性および治療的有効性の両方についての組成物の使用方法も提供される。本発明は、形態形成または免疫系機能を含めた哺乳動物生理学に作用するための組成物および方法に関する。特に本発明は、発生および/または免疫系を調節する核酸、タンパク質および抗体を提供する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

配列番号 2 (D I R S 4) ; 配列番号 9、11、13 または 53 (T N F x または T N F y) ; 配列番号 15、17、19、21、23、25 または 27 (T L R - L 1 ~ T L R - L 5) ; 配列番号 29 (T G F x) ; 配列番号 31 または 33 (5 6 8 5 C 6) ; 配列番号 35、37、39 または 41 クローディング ; あるいは配列番号 43、45、47、49 または 51 シュラーフェンのセグメントと同一である、少なくとも 4 個のアミノ酸のセグメントが、少なくとも 3 個の別個の非重複セグメントを含む、実質的に純粋なポリペプチドまたは組換えポリペプチド。

【請求項 2】

請求項 1 に記載の実質的に純粋なポリペプチドまたは単離された抗原性ポリペプチドであって、同一性を有する前記別個の非重複セグメントが、以下 :

- a) 1 つのセグメントが少なくとも 8 個のアミノ酸を含み ;
 - b) 1 つのセグメントが少なくとも 4 個のアミノ酸を含み、そして第 2 のセグメントが少なくとも 5 個のアミノ酸を含み ;
 - c) 少なくとも 3 個のセグメントが少なくとも 4、5 および 6 個のアミノ酸を含み ; または
 - d) 1 つセグメントが少なくとも 12 個のアミノ酸を含む、
- ポリペプチド。

【請求項 3】

請求項 1 に記載の物質の組成物であって、前記ポリペプチドが、以下 :

- a) グリコシル化されておらず ;
 - b) 霊長類、例えばヒトに由来し ;
 - c) 前記配列番号の少なくとも連続した 17 個のアミノ酸を含み ;
 - d) 前記配列番号の少なくとも 7 個のアミノ酸のセグメントが、少なくとも 4 個の非重複セグメントを示し ;
 - e) 少なくとも約 30 アミノ酸長を有し ;
 - f) 天然グリコシル化を伴う少なくとも 30 k D の分子量を有し ;
 - g) 合成ポリペプチドであり ;
 - h) 固体基質に付着され ;
 - i) 別の化学部分と結合され ; あるいは
 - j) 検出タグまたは F L A G、H i s 6 または I g 配列を含む精製タグを含む、
- 組成物。

【請求項 4】

以下 :

- a) 請求項 1 に記載の実質的に純粋なポリペプチド ;
 - b) 請求項 1 に記載の滅菌ポリペプチド ; あるいは
 - c) 請求項 1 に記載のポリペプチドおよびキャリアであって、該キャリアが、以下 :
 - i) 水、生理食塩水および / もしくは緩衝液を含む水性化合物であり ; ならびに / または
 - i i) 経口投与、直腸投与、経鼻投与、局所投与または非経口投与のために処方される、
- キャリア、
- を含む、組成物。

【請求項 5】

請求項 1 に記載のポリペプチドを含むキットであって、以下 :

- a) 該ポリペプチドを含むコンパートメント ; あるいは
 - b) 該キット中の試薬の使用または廃棄に関する指示書、
- を包含する、キット。

【請求項 6】

請求項 1 に記載のポリペプチドと特異的に結合する抗体由来の抗原結合部位を含む結合化合物であって、以下 :

10

20

30

40

50

- a) 該結合化合物が容器中に存在し；
- b) 該ポリペプチドがヒトに由来し；
- c) 該結合化合物が F v、F a b または F a b 2 フラグメントであり；
- d) 該結合化合物が別の化学部分と結合され；あるいは
- e) 該抗体が：
 - i) 請求項 1 に記載の組換えポリペプチドに対して産生され；
 - i i) 請求項 1 に記載の精製ポリペプチドに対して産生され；
 - i i i) 免疫選択され；
 - i v) ポリクローナル抗体であり；
 - v) 変性抗原と結合し；
 - v i) 少なくとも 30 μ M の抗原に対する K d を示し；
 - v i i) ビーズまたはプラスチック膜を含む固体基質に付着され；
 - v i i i) 滅菌組成物中に存在し；または
 - i x) 放射性標識または蛍光標識を含み、検出可能的に標識される、結合化合物。

10

【請求項 7】

請求項 6 に記載の結合化合物を含むキットであって、以下：

- a) 該結合化合物を含むコンパートメント；または
- b) 該キット中の試薬の使用または廃棄に関する指示書、を包含する、キット。

20

【請求項 8】

抗原：抗体複合体の産生方法であって、霊長類ポリペプチドを、適切な条件下で請求項 7 に記載の抗体と接触させる工程、それにより該複合体を形成させる工程を包含する、方法。

【請求項 9】

抗原：抗体複合体の産生方法であって、請求項 1 に記載のポリペプチドを、適切な条件下でそれに結合する抗体と接触させる工程、それにより該複合体を形成させる工程を包含する、方法。

【請求項 10】

結合化合物の産生方法であって、以下：

30

- a) 請求項 1 に記載のポリペプチドを用いて免疫系を免疫する工程；または
- b) 請求項 1 に記載のポリペプチドをコードする核酸を、免疫応答をもたらす条件下で細胞に導入する工程、それにより該結合化合物を産生する工程；または
- c) 請求項 1 に記載のポリペプチドと結合するこれらのファージに関して、ファージディスプレイライブラリーを選択する工程、を包含する、方法。

【請求項 11】

以下：

- a) 請求項 7 に記載の滅菌結合化合物、あるいは
- b) 請求項 7 に記載の結合化合物およびキャリアであって、該キャリアが以下：
 - i) 水、生理食塩水および / もしくは緩衝液を含む水性化合物であり；ならびに / または
 - i i) 経口投与、直腸投与、経鼻投与、局所投与または非経口投与のために処方される、キャリア、を含む、組成物。

40

【請求項 12】

請求項 1 に記載のポリペプチドをコードする単離された核酸または組換え核酸であって、これらが以下：

- a) ポリペプチドが霊長類に由来し、あるいは
- b) 該核酸が：
 - i) 抗原性ポリペプチドをコードし；

50

i i) 配列番号 2、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53 の複数の抗原性ポリペプチド配列をコードし；

i i i) セグメントをコードする天然 c D N A と少なくとも 13 個のヌクレオチドにわたって同一性を示し；

i v) 発現ベクターであり；

v) 複製起点をさらに含み；

v i) 天然供給源に由来し；

v i i) 検出可能標識を含み；

v i i i) 合成ヌクレオチド配列を含み；

10

i x) 6 k b 未満、好ましくは 3 k b 未満であり；

x) 該ポリペプチドをコードする遺伝子のためのハイブリダイゼーションプローブであり；または

x i) P C R プライマー、P C R 産物または突然変異誘発プライマーである、核酸。

【請求項 13】

請求項 12 に記載の組換え核酸を含む、細胞。

【請求項 14】

前記細胞が、以下：

a) 原核生物細胞；

20

b) 真核生物細胞；

c) 細菌細胞；

d) 酵母細胞；

e) 昆虫細胞；

f) 哺乳動物細胞；

g) マウス細胞；

h) 霊長類細胞；または

i) ヒト細胞、

である、請求項 13 に記載の細胞。

【請求項 15】

30

請求項 12 に記載の核酸を含むキットであって、そして以下：

a) 該核酸を含むコンパートメント、

b) 霊長類ポリペプチドをさらに含むコンパートメント、あるいは

c) 該キット中の試薬の使用または廃棄に関する指示書、を包含する、キット。

【請求項 16】

核酸であって、以下：

a) 37 かつ 2 M 未満の塩で 30 分間の洗浄条件下で、配列番号 1、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50 または 52 のコード部分とハイブリダイズし；あるいは

40

b) 配列番号 1、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50 または 52 と少なくとも約 30 個のヌクレオチドのストレッチにわたって同一性を示す、核酸。

【請求項 17】

請求項 16 に記載の核酸であって、これらが以下：

a) 前記洗浄条件が 45 かつ / または 500 m M 塩であり；あるいは

b) 前記ストレッチが少なくとも 55 個のヌクレオチドである、核酸。

50

【請求項 18】

請求項 16 に記載の核酸であって、これらが以下：

- a) 前記洗浄条件が 55℃ かつ / または 150 mM 塩であり；あるいは
- b) 前記ストレッチが少なくとも 75 個のヌクレオチドである、核酸。

【請求項 19】

製造方法であって、以下：

- a) 二重鎖核酸の製造方法であって、以下の工程：
 - i) 請求項 12 に記載の核酸を、適切な条件下で相補的核酸に接触させる工程、それにより前記複合体を形成するためのハイブリダイゼーションを生じる工程；または
 - ii) 請求項 12 に記載の核酸と相補的な核酸を、適切な条件下で該相補的核酸に接触させる工程、それにより前記複合体を形成するためのハイブリダイゼーションを生じる工程、
- を包含する二重鎖核酸の作製方法；あるいは
- b) 該核酸の発現を生じる条件下で、請求項 12 に記載の核酸を含む細胞を培養する工程を包含する、ポリペプチドの製造方法である、方法。

10

【請求項 20】

方法であって、以下の工程：

- a) 前記細胞を、配列番号 9、11、13、29、31、33 または 53 を含むポリペプチドと接触させる工程を包含する、細胞の生理機能または発現を調整する工程；
 - b) 前記細胞を、配列番号 9、11、13、29、31 または 33 と結合する請求項 6 に記載の結合化合物と接触させる工程、それにより前記配列番号を含むタンパク質によって媒介されるシグナル伝達をブロックする工程を包含する、細胞の生理機能または発現を調整する工程；
 - c) 前記細胞を、配列番号 2、15、17、19、21、23、25 または 27 と結合する結合化合物と接触させる工程を包含する細胞を標識する工程、
 - d) 配列番号 34、36、38、40、42、44、46、48 または 50 を含む核酸の発現を評価する工程を包含する、医学状態を診断する工程、
- を包含する、方法。

30

【発明の詳細な説明】

【0001】

(発明の分野)

本発明は、形態形成または免疫系機能を含めた哺乳動物生理学に作用するための組成物および方法に関する。特に本発明は、発現および / または免疫系を調節する核酸、タンパク質および抗体を提供する。これらの物質の診断的および治療的使用も開示される。

【0002】

(発明の背景)

組換え DNA 技術は一般に、ドナー供給源からの遺伝子情報を、例えば宿主中への導入によってその後のプロセッシングのためにベクター中に組込み、それにより移入された遺伝子情報が新しい環境中でコピーされおよび / または発現される技術を指す。一般に、遺伝子情報は、所望のタンパク質産物をコードするメッセンジャー RNA (mRNA) 由来の相補的 DNA (cDNA) の形態で存在する。キャリアはしばしば、宿主中に後期複製のために cDNA を組み込む能力を、また場合によっては、実際に cDNA の発現を制御し、それにより宿主中でのコード産物の合成を指図する能力を有するプラスミドである (例えば Sambrook et al. (1989) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, (2d ed.), vols. 1-3, CSH Press, NY 参照)。

40

【0003】

しばらくの間、哺乳動物免疫応答は、「免疫ネットワーク」と呼ばれる一連の複合体細胞

50

相互作用に基づいていることが既知であった。近年の研究は、このネットワークの内部作用への新規の洞察を提供した。免疫応答の多くが、実際、リンパ球、マクロファージ、顆粒球およびその他の細胞のネットワーク様相互作用にを中心に展開することは依然として明らかであるが、免疫学者は、今日一般的には、リンホカイン、サイトカインまたはモノカインとして公知の可溶性タンパク質がこれらの細胞相互作用の制御に重要な役割を演じるという考えを有している。インターフェロンは一般に、サイトカインファミリーのメンバーであると考えられる。したがって、細胞調整因子の単離、特性化および作用メカニズムはかなり興味深く、その理解は多数の医学的異常、例えば免疫系障害の診断および治療における有意の進歩をもたらす。

【0004】

10

リンホカインは、種々の方法で細胞活性を媒介すると思われる（例えば Paul (ed. 1998) Fundamental Immunology 4th ed., Lippincott、および Thomson (ed. 1998) The Cytokine Handbook 3d ed., Academic Press, San Diego 参照）。それらは、複雑な免疫系を作り上げる多様な細胞系統を含む膨大な数の前駆物質への多能性造血性幹細胞の増殖、成長および/または分化を支持することが示されている。細胞構成成分間の適正かつ平衡的相互作用は、健全免疫応答に必要である。異なる細胞系統は、リンホカインが他の作用物質とともに投与される場合、しばしば異なる方法で応答する。

【0005】

20

免疫応答に特に重要な細胞系統としては、2つの種類のリンパ球、すなわち免疫グロブリン（その除去を実行するために外来物質を認識し、それを結合する能力を有するタンパク質）を産生し、分泌し得るB細胞、ならびにリンホカインを分泌し、B細胞およびネットワークを作り上げているその他の種々の細胞（例えばその他のT細胞）を誘導または抑制する種々のサブセットのT細胞が挙げられる。これらのリンパ球は、多数のその他の細胞型と相互作用する。

【0006】

そのレセプターとの結合時にサイトカインの作用を調整し、したがって不適切な免疫応答、例えば自己免疫、炎症、敗血症および癌状態を治療するのにおそらくは有用である一手段は、レセプターシグナル伝達を阻止することである。サイトカインレセプターの構造的 30
特性をより詳細に特性化し、分子レベルでの作用メカニズムを理解するためには、精製レセプターが非常に有用である。本明細書中で提供されるレセプターは、他のレセプターとの比較により、または構造的構成成分を組み合わせることににより、リガンド結合によって誘導されるシグナル伝達のさらなる理解を提供する。

【0007】

単離レセプター遺伝子は、レセプターの経済的供給源を生成し、アッセイ感度増大をもたらす細胞上のより多くのレセプターの発現を可能にし、種々のレセプター亜型および改変体の特性化を促し、活性とレセプター構造を相関させるための手段を提供するはずである。さらにレセプターのフラグメントは、リガンド結合のアゴニストまたはアンタゴニストとして有用であり得る（例えば Harada, et al. (1992) J. Biol. Chem. 267: 22752 - 22758 参照）。しばしば機能的レセプター中には少なくとも2つの重要なサブユニットが存在する（例えば Gonda and D'Andrea (1997) Blood 89: 355 - 369; Presky, et al. (1996) Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 93: 14002 - 14007; Drachman and Kaushansky (1995) Curr. Opin. Hematol. 2: 22 - 28; Theze (1994) Eur. Cytokine Netw. 5: 353 - 368; および Lemmon and Schlessinger (1994) Trends Biochem. Sci. 19: 459 - 463 参照）。その他のレセプター型、例えばTLR様は同様に有用である。

【0008】

40

50

新規のリガンドの同定は、有用である。リガンドの腫瘍壊死因子 (TNF) ファミリーおよびトランスフォーミング成長因子 (TGF) ファミリーのメンバーは、同定された生理学的作用を有する。

【0009】

最後に、疾患関連発現パターンを示す遺伝子は、診断またはその他の用途に有用である。分子診断的効用は、特定の治療に応答性である患者を同定するために、または治療に対する応答性を予測するために適用され得る。

【0010】

上記から、新規の可溶性タンパク質およびその他のレセプター (リンホカインと類似のものを含む) の発見および開発が、例えば免疫系および/または造血細胞の発生、分化または機能に直接的または間接的に関与する広範囲の変性または異常症状のための新しい療法に寄与するに違いないことは明らかである。さらに新規のマーカーは、分子診断または治療方法に有用である。特にその他のリンホカインの有益な活性を強化または増強する新規のレセプターまたはリンホカイン様分子の発見および理解は、非常に有益である。本発明は、これらのおよび関連する化合物、ならびにそれらの使用方法を提供する。

【0011】

(発明の要旨)

本発明は、新規の遺伝子、例えば霊長類の実施形態に関する。これらの遺伝子は、サイトカインレセプターに関連したレセプター、例えばDNA X インターフェロン様レセプターサブユニット 4 (DIRS 4) と呼ばれるサイトカインレセプター様分子構造; TNF x および TNF y と呼ばれる TNF 関連サイトカイン; TLR - L 1、TLR - L 2、TLR - L 3、TLR - L 4 および TLR - L 5 と呼ばれる Toll 様レセプター様分子; TGF x と呼ばれる TGF 関連分子; 5685C6 と呼ばれる可溶性 Th 2 細胞産生性存在物; クローディン (claudin) と呼ばれる、その発現パターンが医学的症状と関連するものに関連した遺伝子一群 (本明細書中ではクローディン D 2、D 8、D 17 および D 7.2 と呼ばれる); ならびにシュラーフェン (schlafen) と呼ばれる (本明細書中ではシュラーフェン B、C、D、E および F と呼ばれる)、その発現パターンが医学症状と関連するものに関連した遺伝子の第二群を包含する。

【0012】

特に本発明は、配列番号 2 (DIRS 4); 配列番号 9、11、13 または 53 (TNF x または TNF y); 配列番号 15、17、19、21、23、25 または 27 (TLR - L 1 ~ TLR - L 5); 配列番号 29 (TGF x); 配列番号 31 または 33 (5685C6); 配列番号 35、37、39 または 41 (クローディン); または配列番号 43、45、47、49 または 51 (シュラーフェン) のセグメントと同一である少なくとも 4 つのアミノ酸のうちの少なくとも 3 つの別個の非重複セグメントを含む実質的純粋または組換えポリペプチドから選択される物質の組成物を提供する。好ましい実施形態では、同一性を有する別個の非重複セグメントは、少なくとも 8 つのアミノ酸のうちの 1 つを包含するか、少なくとも 4 つのアミノ酸のうちの 1 つおよび少なくとも 5 つのアミノ酸のうちの第二のものを包含するか、少なくとも 4、5 および 6 つのアミノ酸のうちの少なくとも 3 つのセグメントを包含するか、または少なくとも 12 のアミノ酸のうちの 1 つを包含する。ある種の実施形態では、ポリペプチドは、グリコシル化されていないか、霊長類、例えばヒトに由来するか、前記配列番号の少なくとも連続 17 アミノ酸を含むか、前記配列番号の少なくとも 7 つのアミノ酸のうちの少なくとも 4 つの非重複セグメントを示すか、少なくとも約 30 アミノ酸長を有するか、天然グリコシル化を伴う少なくとも 30 kD の分子量を有するか、合成ポリペプチドであるか、固体支持体に付着されるか、別の化学部分と結合されるか、または検出または精製タグ、例えば FLAG、His 6 または Ig 配列を含む。その他の実施形態では、組成物は、実質的純粋ポリペプチド、滅菌ポリペプチド、または上記ポリペプチドおよびキャリア (ここで、キャリアは、水性化合物 (水、生理食塩水および/または緩衝液を含む)、そして/または経口、直腸、鼻、局所または非経口投与のために配合される) を含む。

10

20

30

40

50

【0013】

キット実施形態は、このようなポリペプチド、ならびに以下の：上記ポリペプチドを含むコンパートメント；またはキット中の試薬の使用または廃棄に関する指示書を包含する。

【0014】

結合化合物の実施形態は、上記ポリペプチドと特異的に結合する抗体からの抗原結合部位を含む結合化合物を含み、ここで、上記結合化合物が容器中に存在するか、上記ポリペプチドがヒトに由来するか、上記結合化合物がFv、FabまたはFab2フラグメントであるか、上記結合化合物が別の化学部分と結合されるか、あるいは上記抗体が：組換えポリペプチドに対して産生されるか、精製ポリペプチドに対して産生されるか、免疫選択されるか、ポリクローナル抗体であるか、変性抗原と結合するか、少なくとも30 μMの抗原に対するKdを示すか、固体支持体（ビーズまたはプラスチック膜を含む）に付着されるか、滅菌組成物中に存在するか、または放射性もしくは蛍光標識を含めて、検出可能的に標識される化合物を包含する。

10

【0015】

キット実施形態は、このような結合化合物、ならびに以下の：上記結合化合物を含むコンパートメント；またはキット中の試薬の使用または廃棄に関する指示書を包含する。

【0016】

抗原：抗体複合体の産生方法であって、適切な条件下で霊長類ポリペプチドをこのような上記抗体と接触させ、それにより複合体を形成させる方法が提供される。また、抗原：抗体複合体の産生方法であって、適切な条件下でポリペプチドをそれに結合する抗体と接触させ、それにより複合体を形成させる方法も提供される。結合化合物の産生方法であって、以下の：上記のポリペプチドを用いて免疫系を免疫するか、上記ポリペプチドをコードする核酸を免疫応答をもたらす条件下で細胞に導入して、それにより上記結合化合物を産生するか、または所望の上記ポリペプチドと結合するファージに関してファージディスプレイライブラリーを選択することを包含する方法も提供される。

20

【0017】

例えば滅菌結合化合物、または上記結合化合物、およびキャリア（ここでキャリアは、以下：水性化合物（水、生理食塩水および/または緩衝液を含む）である；そして/または経口、直腸、鼻、局所または非経口投与のために配合される）含む組成物がさらに提供される。

30

【0018】

例えば上記ポリペプチドをコードする単離または組換え核酸の、核酸の実施形態が提供され、ここで、このポリペプチドが霊長類に由来するか、あるいはこの核酸が、抗原性ポリペプチドをコードするか、配列番号2、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51または53の複数の抗原性ポリペプチド配列をコードするか、上記セグメントをコードする天然cDNAと少なくとも13のヌクレオチドにわたって同一性を示すか、発現ベクターであるか、複製起点をさらに包含するか、天然供給源からであるか、検出可能標識を含むか、合成ヌクレオチド配列を含むか、6 kb未満、好ましくは3 kb未満であるか、上記ポリペプチドをコードする遺伝子のためのハイブリダイゼーションプローブであるか、またはPCRプライマー、PCR産物もしくは突然変異誘発プライマーである。

40

【0019】

種々の実施形態は、組換え核酸を含む細胞も包含し、特にこの場合、細胞は、原核生物細胞、真核生物細胞、細菌細胞、酵母細胞、昆虫細胞、哺乳動物細胞、マウス細胞、霊長類細胞、またはヒト細胞である。

【0020】

キット実施形態は、上記核酸、ならびに上記核酸を含むコンパートメント、霊長類ポリペプチドをさらに含むコンパートメント、あるいはキット中の試薬の使用または廃棄に関する指示書を包含する。

【0021】

50

37 で2 M未満の塩で30分間の洗浄条件下で配列番号1、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50または52のコード部分とハイブリダイズするか、あるいは配列番号1、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50または52と少なくとも約30ヌクレオチドのストレッチにわたって同一性を示すその他の核酸が提供される。好ましくは、洗浄条件は45 および/または500 mM塩であるか、または55 および/または150 mM塩であるか、またはストレッチは少なくとも55または75ヌクレオチドである。

【0022】

10

上記核酸を適切な条件下で相補的核酸と接触させ、それにより複合体を形成するためのハイブリダイゼーションを生じるか、または上記核酸と相補的である核酸を適切な条件下でその相補的核酸と接触させ、それにより複合体を生成するためのハイブリダイゼーションを生じることを包含する二重鎖核酸の製造方法、あるいは上記核酸の発現を生じる条件下で上記核酸を含む細胞を培養することを包含するポリペプチドの製造方法が提供される。

【0023】

さらに、細胞を配列番号9、11、13、29、31または33を含むポリペプチドと接触させることを包含する細胞の生理学または発生を調整するための方法、細胞を配列番号9、11、13、29、31、33または53と結合する結合化合物と接触させることを包含する細胞の生理学または発生を調整し、それによりその配列番号を含むタンパク質によって媒介されるシグナル伝達を遮断するための方法、細胞を配列番号15、17、19、21、13、15または37と結合する結合化合物と接触させることを包含する細胞を標識するための方法、あるいは配列番号34、36、38、40、42、44、46、48または50を含む核酸の発現を評価する工程を包含する医学症状を診断するための方法が提供される。

20

【0024】

(好ましい実施形態の詳細な説明)

(I. 概説)

本発明は、哺乳動物(本明細書中では霊長類)遺伝子のアミノ酸配列および核酸配列を提供する。それらのうちの1つが、構造的および生物学的両面で、特定の規定された特性を有する、DNA Xインターフェロンレセプターファミリーサブユニット4(DIRS4)と呼ばれるインターフェロンレセプター様サブユニット分子である。その他の例としては、TNF α およびTNF β ; Toll様レセプター様分子TLR-L1、TLR-L2、TLR-L3、TLR-L4およびTLR-L5; TGF α ; 5685C6; クローディングD2、D8、D17およびD7.2と呼ばれる分子; ならびにシュラーフェンB、C、D、EおよびFと呼ばれる分子が挙げられる。これらの分子をコードする種々のcDNAは、霊長類、例えばヒトcDNA配列ライブラリーから得られる。その他の霊長類またはその他の哺乳動物同等物も望ましい。ある場合には、代替的スプライス改変体も利用可能であるはずである。

30

【0025】

40

適用可能な標準的方法のいくつかは、例えばManiatis, et al. (1982) Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Press; Sambrook et al. (1989) Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2d ed.) vols. 1-3, CSH Press, NY; Ausubel, et al. Biology, Greene Publishing Associates, Brooklyn, NY; ; またはAusubel, et al. (1987および定期補遺) Current Protocols in Molecular Biology, Greene/Wiley, New York (これらの記載内容は、参照により本明細書中に援用

50

される)に記載され、または言及されている。

【0026】

霊長類、例えばヒトD I R S 4コードセグメントに関するヌクレオチドおよび対応するアミノ酸配列は、それぞれ配列番号1および2で示されている。新規のD I R S 4は膜貫通セグメントを欠いており、これは、サブユニットが可溶性サブユニットとして作用し、したがってレセプターサブユニットであることを示唆する。あるいはまたはさらに、膜貫通セグメントを含有するスプライス改変体が存在する。これは、2つの転写物が多数の細胞型に見出されるという観察と一致する。インターフェロンレセプター様サブユニットは、I L - 10ファミリーのリガンド、例えばI L - 10、A K 155、I L - 19、I L - 20 / m d a - 7、A K 155、I L - D 110、I L - D 210等のためのレセプターであり得る(例えばD e r w e n t 特許配列データベース参照)。

【0027】

霊長類および齧歯類形態のT N F xならびに霊長類および齧歯類形態のT N F yに関するヌクレオチド(配列番号8、10、12および52)ならびに対応するアミノ酸配列(配列番号9、11、13および53)も提供される。霊長類T N F xに関する特徴としては、以下のものが挙げられる：c A M P P K部位約38、74、79、205；C a s P h o s部位約41、61；C y t c - M e部位約43；ヒストン - M e部位約35；ミリスチル部位約5、57、220、232 N - G L Y C O S Y L部位約229；P H O S 2部位約38~41、79~82、134~136；P K C p h部位約77、142。セグメント119~250、ならびに209~221も注目に値する。齧歯類T N F xに関しては、特徴としては以下のものが挙げられる：予測シグナル1~19；成熟は約20で開始する。その他の特徴：c A M P P K部位約34、93、132、229、248、263；C a s P h o s部位約119、232、251；C y t c - M e部位約26、90、172；ヒストン - M e部位約82；ミリスチル部位約278、290、303；N - G L Y C O S Y L：3つの部位約39、287、297；P H O S 2部位約26~29、34~37、90~92、93~96、138~140、192~194、248~251；ならびにP K C p h部位約43、51、80、81、152；T y K i n部位約154。シグナル切断部位は、位置19~20間に予測された：A G A - G A。その他の有意のセグメントとしては、約74~132、94~118、168~308および193~201が挙げられる。

【0028】

T L R - L 1 ~ T L R - L 5に関するヌクレオチドおよび対応するアミノ酸配列は、配列番号14~27で提供される。T L R 1に関するE S T分布は、m R N A発現が脳組織に制限されることを示唆する。染色体X q 27.1~28コード領域は、単一エキソン上に存在する。霊長類T L R 1(配列番号15)に関する特徴としては、以下のものが挙げられる：T y r K i n部位約704(K E G D P V A Y)；T y r K i n部位約713(R N L Q E F S Y)、825(K P Q S E P D Y)；N - G L Y C O S Y L部位約84(N Y S)、219(N C T)、294(N P T)、366(N I S)、421(N L T)、583(N L S)；見込みのあるI a型膜タンパク質；考え得る非切断可能N末端シグナル配列；ならびに約618~634<612~646>の膜貫通予測。齧歯類T L R - L 1(配列番号17)に関しては、特徴としては以下のものが挙げられる：残基約56~75由来の予測膜貫通セグメント；ならびに残基約136および145由来の予測T y K i n部位。

【0029】

霊長類T L R - L 2(配列番号19)に関しては、以下の特徴が挙げられる：N - グリコシル部位約82(N Y T)、217(N C S)、623(N S T)、674(N Q S)；T y K i n部位約889(R L R E P V L Y)、450(R L S P E L F Y)、917(K L N V E P D Y)；T y K i n部位約889(R L R E P V L Y)、917(K L N V E P D Y)。構造的には、この分子はI a型膜タンパク質と相同性を有する。

【0030】

霊長類 TLR - L3 (配列番号 23) は、以下の特徴を有する：SIGNAL 1 ~ 26 ; TRANS 14 ~ 34 ; Pfam : LRRNT 43 ~ 73 ; Pfam : LRR 78 ~ 101 ; LRR__TYP 100 ~ 123 ; Pfam : LRR 102 ~ 125 ; LRR__TYP 124 ~ 147 ; Pfam : LRR 126 ~ 149 ; LRR__TYP 148 ~ 171 ; Pfam : LRR 150 ~ 173 ; LRR__TYP 172 ~ 195 ; LRR__PS 172 ~ 194 ; Pfam : LRR 174 ~ 197 ; LRR__TYP 196 ~ 219 ; LRRCT 232 ~ 282 ; Pfam : LRRCT 232 ~ 282 (SEG 331 ~ 349 または SEG 365 ~ 379 を伴う) ; Pfam : LRRNT 372 ~ 405 ; LRRNT 372 ~ 410 ; Pfam : LRR 409 ~ 432 ; LRR__TYP 431 ~ 454 ; Pfam : LRR 433 ~ 456 ; LRR__PS 455 ~ 477 ; LRR__TYP 455 ~ 478 ; Pfam : LRR 457 ~ 480 ; LRR__TYP 479 ~ 502 ; Pfam : LRR 481 ~ 504 (SEG 502 ~ 519 を伴う) ; LRR__TYP 503 ~ 526 ; LRR__PS 503 ~ 525 ; Pfam : LRR 505 ~ 528 ; Pfam : LRRCT 562 ~ 612 ; LRRCT 562 ~ 612 ; TRANS 653 ~ 673 ; SEG 653 ~ 676 ; SEG 712 ~ 723 ; SEG 760 ~ 776 ; SEG 831 ~ 855。構造的には、この分子は Ia 型膜タンパク質と相同性を有する。

10

【0031】

霊長類 TLR - L4 (配列番号 25) EST 分布は、mRNA 発現が脳組織に制限されることを示唆する。ヒト染色体 Xq 26.3 ~ 28 ; 予測特徴：例えば約 SIGNAL 1 ~ 18 ; SEG 22 ~ 38 ; Pfam : LRR 60 ~ 83 ; LRR__TYP 82 ~ 105 ; Pfam : LRR 84 ~ 107 ; LRR__PS 106 ~ 128 ; LRR__TYP 106 ~ 129 ; Pfam : LRR 108 ~ 131 ; LRR__TYP 130 ~ 153 ; Pfam : LRR 132 ~ 155 ; LRR__SD 22__154 ~ 174 ; LRR__PS 154 ~ 176 ; LRR__TYP 154 ~ 177 ; Pfam : LRR 156 ~ 178 ; LRR__SD 22__177 ~ 198 ; LRR__PS 177 ~ 198 ; LRR__TYP 178 ~ 201 ; Pfam : LRR 179 ~ 200 ; Pfam : LRRCT 213 ~ 263 ; LRRCT 213 ~ 263 ; LRRNT 341 ~ 379 ; Pfam : LRRNT 341 ~ 374 ; Pfam : LRR 378 ~ 401 ; LRR__TYP 400 ~ 423 ; LRR__SD 22__400 ~ 421 ; Pfam : LRR 402 ~ 425 ; LRR__TYP 424 ~ 447 ; LRR__SD 22__424 ~ 450 ; LRR__PS 424 ~ 447 ; Pfam : LRR 426 ~ 449 ; LRR__TYP 448 ~ 471 ; LRR__PS 448 ~ 470 ; Pfam : LRR 450 ~ 473 ; LRR__TYP 472 ~ 495 ; LRR__PS 472 ~ 494 ; Pfam : LRR 474 ~ 497 ; SEG 474 ~ 488 ; LRRCT 531 ~ 581 ; Pfam : LRRCT 531 ~ 581 ; SEG 617 ~ 643 ; TRANS 623 ~ 643 ; N - GLYCOSYL 部位約 81 (NFS)、216 (NCS)、308 (NPS)、325 (NLS)、423 (NLT) ; 染色体 Xq 26.3 ~ 28。コード領域は、単一エキソン上に存在する。構造的には、この分子は Ia 型膜タンパク質であると思われる。

20

30

【0032】

霊長類 TLR - L5 (配列番号 27) に関しては、全コード領域はヒト第 13 染色体上の単一エキソン上にある。予測特徴：例えばおよそ SIGNAL 1 ~ 20 ; Pfam : LRR 65 ~ 88 ; LRR__TYP 87 ~ 110 ; Pfam : LRR 89 ~ 112 ; LRR__TYP 111 ~ 134 ; Pfam : LRR 113 ~ 136 ; LRR__PS 135 ~ 157 ; LRR__SD 22__135 ~ 156 ; LRR__TYP 135 ~ 158 ; Pfam : LRR 137 ~ 160 ; LRR__TYP 159 ~ 182 ; LRR__SD 22__159 ~ 177 ; LRR__PS 159 ~ 181 ; Pfam : LRR 161 ~ 184 ; LRR__SD 22__182 ~ 203 ; LRR__TYP 185 ~ 206 ; Pfam : LRR 185 ~ 205 ; LRRCT 218 ~ 268 ; Pfam : LRRCT 218 ~ 268 ; Hybrid : LRRNT 328 ~ 364 ; Pfam : LRRNT 328 ~ 360 ; LRR__SD 22__386 ~ 407 ; Pfam : LRR 388 ~ 411 ; LRR__TYP 389 ~ 409 ; LRR__PS 410 ~ 432 ; LRR__TYP 410 ~ 433 ; LRR__SD 22__410 ~ 42

40

50

8 ; P f a m : L R R 4 1 2 ~ 4 3 5 ; L R R _ S D 2 2 4 3 4 ~ 4 5 3 ; L R R _ P S 4 3 4 ~ 4 5 7 ; L R R _ T Y P 4 3 4 ~ 4 5 7 ; P f a m : L R R 4 3 6 ~ 4 5 9 ; S E G 4 3 6 ~ 4 4 5 ; L R R _ P S 4 5 8 ~ 4 8 0 ; L R R _ S D 2 2 4 5 8 ~ 4 8 4 ; L R R _ T Y P 4 5 8 ~ 4 8 1 ; S E G 4 5 9 ~ 4 7 6 ; P f a m : L R R 4 6 0 ~ 4 8 3 ; S E G 5 0 3 ~ 5 1 6 ; L R R C T 5 1 7 ~ 5 6 7 ; P f a m : L R R C T 5 1 7 ~ 5 6 7 ; S E G 5 8 5 ~ 5 9 6 ; T R A N S 6 0 7 ~ 6 2 7 ; S E G 7 0 1 ~ 7 1 0 ; N - G L Y C O S Y L 3 部位約 2 9 2 (N D S)、4 0 9 (N L T)、5 7 2 (N P S) ; T y K i n 部位約 7 9 8 (K L M E T L M Y)。

【 0 0 3 3 】

霊長類、例えばヒト T G F x コードセグメントに関するヌクレオチドおよび対応するアミノ酸配列は、それぞれ配列番号 2 8 および 2 9 により表される。ヒト T G F x は、第 5 染色体に位置づけられる (クローン C I T B - H 1 _ 2 3 1 9 M 2 4)。予測される特徴 (配列番号 2 9) を以下に挙げる : T G F B ドメイン 1 1 5 ~ 2 1 2 ; P f a m : T G F - 1 1 5 ~ 1 6 7 ; P f a m : T G F - 2 0 5 ~ 2 1 2 ; T G F - 様保存 C y s 残基の位置 1 1 5、1 4 4、1 4 8、1 7 7、2 0 9、2 1 1。

10

【 0 0 3 4 】

5 6 8 5 C 6 コードセグメントに関するヌクレオチドおよび対応するアミノ酸配列は、配列番号 3 0 ~ 3 3 に存在する。霊長類クローンは、染色体 2 1 q 2 2 . 1 に位置づけられる。霊長類 5 6 8 5 C 6 (配列番号 3 1) の特徴を以下に挙げる : N - G L Y C O S Y L 部位約 1 0 (N S T)、2 3 (N C S)、7 6 (N F T)、1 6 9 (N V T)、1 9 1 (N K S) ; 位置 1 9 ~ 2 0 間で予測されるもっとも見込みのある切断部位 : V F A - L N。T h 2 細胞により産生される分泌タンパク質。対応する齧歯類ポリペプチド (配列番号 3 3) は、以下の予測特徴を有する : N - G L Y C O S Y L 部位約 6 (N N T)、1 9 (N C S)、1 5 9 (N R S) ; 位置 2 6 ~ 2 7 間でもっとも見込みのある切断部位 : T K A - Q N。5 6 8 5 C 6 分子は、T h 2 クローン中で発現される可溶性存在物であると思われる。上記存在物は T h 2 細胞の有用なマーカーであり、このような細胞型を特性化するのに有用である。

20

【 0 0 3 5 】

クローディング D 2、D 8、D 1 7 および D 7 . 2 に関するヌクレオチドおよび対応するアミノ酸配列は、配列番号 3 4 ~ 4 1 である (例えば S i m o n , e t a l . (1 9 9 9) S c i e n c e 2 8 5 : 1 0 3 - 1 0 6 参照)。

30

【 0 0 3 6 】

シュラーフェン B、C、D、E および F に関するヌクレオチドおよび対応するアミノ酸配列 (例えば S c h w a r z , e t a l . (1 9 9 8) I m m u n i t y 9 : 6 5 7 - 6 6 8 参照) は、配列番号 4 2 ~ 5 1 である。

【 0 0 3 7 】

本明細書中で用いる場合、D I R S 4 という用語は、上記の配列番号で示されるアミノ酸配列またはその実質的フラグメントを有するかまたは共有するタンパク質またはペプチドセグメントを含むタンパク質を記載するために用いられる。本発明は、その配列が提供されるそれぞれの D I R S 4 対立遺伝子のタンパク質変異、例えば突然変異タンパク質または可溶性細胞外構築物も含む。通常は、このようなアゴニストまたはアンタゴニストは、約 1 0 % 未満の配列差を示し、したがってしばしば 1 ~ 1 1 倍の置換、例えば 2、3、5、7 倍等の置換を有する。本発明は、上記のタンパク質の対立遺伝子およびその他の改変体、例えば天然多型も包含する。通常は、それは、おそらくは二次レセプターサブユニットを有する二量体化状態で、高親和性で、例えば少なくとも約 1 0 0 n M で、通常は約 3 0 n M より良好に、好ましくは約 1 0 n M より良好に、さらに好ましくは約 3 n M より良好に、その対応する生物学的リガンドと結合する。本用語は、哺乳動物タンパク質の関連する天然に存在する形態、例えば対立遺伝子、多型改変体および代謝改変体に言及するためにも本明細書中で用いられる。

40

【 0 0 3 8 】

50

同様に、本明細書中に記載される他の遺伝子に対する参照がなされる。製造方法または構造的特徴に関する一般的な説明は、本明細書中に提供されたその他の存在物、例えばTNF α 、TNF β 、TLR-L1、TLR-L2、TLR-L3、TLR-L4、TLR-L5、TGFA、5685C6、クローディン(claudins)D2、D8、D17、D7.2ならびにシュラーフェン(schlaafen)B、C、D、EおよびFにもしばしば適用可能である。それらに対する抗体、それらをコードする核酸等は、異なる存在物に対して同様に適用可能である。

【0039】

本発明はまた、上記アミノ酸配列と実質的にアミノ酸配列同一性を有するタンパク質またはペプチドも包含する。本発明は、相対的に少ない置換、例えば好ましくは約3~5未満の置換を含む配列改変体を包含する。

10

【0040】

実質的なポリペプチド「フラグメント」または「セグメント」は、少なくとも約8個のアミノ酸、一般的に少なくとも10個のアミノ酸、より一般的には少なくとも12個のアミノ酸、しばしば少なくとも14個のアミノ酸、より頻繁に少なくとも16個のアミノ酸、代表的には少なくとも18個のアミノ酸、より代表的には少なくとも20個のアミノ酸、通常は少なくとも22個のアミノ酸、より通常では少なくとも24個のアミノ酸、好ましくは少なくとも26個のアミノ酸、より好ましくは少なくとも28個のアミノ酸、特に好ましい実施形態では少なくとも約30個のまたはそれ以上のアミノ酸のアミノ酸残基のストレッチである。異なるタンパク質のセグメントの配列は、適切な長さのストレッチにわたって互いに比較され得る。

20

【0041】

フラグメントは、実質的にすべての位置で開始および/または終結し得る。フラグメントは、異なる長さのすべての実際的な組合せで、例えば、残基1、2、3等で開始し、そして例えば、カルボキシ末端(N)、N-1、N-2等で終結する末端を有する。特に興味深いポリペプチドは、上記のような構造ドメインまたはモチーフ境界に対応する一端または両端を有するか、あるいは上記の境界の1つに隣接する一端を有する指定された長さのポリペプチドである。核酸の実施形態において、このようなポリペプチドをコードするセグメントは、特に興味深い。

【0042】

アミノ酸配列相同性または配列同一性は、残基の一致を最適化することにより決定される。いくつかの比較において、ギャップが、必要に応じて導入され得る(例えば、Needleham, et al. (1970) J. Mol. Biol. 48:443-453; Sankoff, et al. (1983) Time Warps, String Edits, and Macromolecules, chapter one: The Theory and Practice of Sequence Comparison, Addison-Wesley, Reading, MA; およびIntelliGenetics, Mountain View, CAのソフトウェアパッケージ; ならびにthe University of Wisconsin Genetics Computer Group (GCG), Madison, WIを参照のこと)(これらは、参考として本明細書中に援用される)。この分析は、保存的置換を一致とみなす場合に、特に重要である。保存的置換は、代表的に、以下の群内での置換を包含する: グリシン、アラニン; バリン、イソロイシン、ロイシン; アスパラギン酸、グルタミン酸; アスパラギン、グルタミン; セリン、スレオニン; リジン、アルギニン; およびフェニルアラニン、チロシン。相同なアミノ酸配列は、サイトカイン配列における天然の対立遺伝子改変体および種間改変体を含むことが意図される。代表的な相同なタンパク質またはペプチドは、上記適切な配列番号のアミノ酸配列セグメントと、50~100%の相同性(ギャップが導入され得る場合)から60~100%の相同性(保存的置換が含まれる場合)を有する。相同性の測定値は、少なくとも約70%、一般的に少なくとも76%、より一般的には少なくとも81%、頻繁に少なくとも85%、より頻繁に少なくとも88%、代表的に

30

40

50

は少なくとも90%、さらに代表的には少なくとも92%、通常は少なくとも94%、より通常は少なくとも95%、好ましくは少なくとも96%、より好ましくは少なくとも97%、そして特に好ましい実施形態では、少なくとも98%またはそれ以上である。相同性の程度は、比較されるセグメントの長さに伴って変化する。相同なタンパク質またはペプチド、例えば対立遺伝子改変体は、最も高い生物学的活性を共有し、その実施形態が個別に記載される（例えば、種々の表において）。

【0043】

本明細書中で用いる場合、「生物学的活性」という用語は、サイトカイン様リガンドによる炎症性応答、先天性免疫および/または形態形成的発達に対する好かを説明するために用いられるが、これらに限定されない。例えばレセプターは、代表的に、ホスファターゼまたはホスホリラーゼ活性を媒介し、その活性は標準的な手順により容易に測定される（例えば、Hardie, et al. (eds. 1995) The Protein Kinase FactBook vol. Iおよびvol. II, Academic Press, San Diego, CA; Hanks, et al. (1991) Meth. Enzymol. 200:38-62; Hunter, et al. (1992) Cell 70:375-388; Lewin (1990) Cell 61:743-752; Pines, et al. (1991) Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 56:449-463; およびParker, et al. (1993) Nature 363:736-738を参照のこと）。レセプターまたはその一部分は、一般的または特定の基質を標識するためのホスフェート標識酵素として有用であり得る。

【0044】

例えば、DIRS4__のリガンド、アゴニスト、アンタゴニストおよびアナログという用語は、サイトカインリガンドタンパク質に対する特徴的な細胞応答を調整する分子、ならびに例えばレセプターが天然のレセプターまたは抗体であるリガンド-レセプター相互作用のより標準的な構造的結合競合特徴を保有する分子を包含する。細胞応答はおそらく、代表的にレセプターチロシンキナーゼ経路を介して媒介される。

【0045】

また、リガンドは、上記のレセプターまたはそのアナログが結合する天然リガンドか、あるいは天然リガンドの機能的アナログである分子として機能する分子である。機能的なアナログは、構造的修飾を有するリガンドであり得るし、あるいは適切なりガンド結合決定因子と相互作用する分子形状を有する全体的に関連のない分子であり得る。リガンドは、アゴニストまたはアンタゴニストとして機能し得る（例えば、Goodman, et al. (eds. 1990) Goodman & Gilman's: The Pharmacological Bases of Therapeutics, Pergamon Press, New Yorkを参照のこと）。

【0046】

合理的な薬剤設計もまた、レセプターまたは抗体ならびにその他のエフェクターまたはリガンドの分子形状の構造的な研究に基づき得る（例えば、Herz, et al. (1997) J. Recept. Signal Transduct. Res. 17:671-776; およびChaiken, et al. (1996) Trends Biotechnol. 14:369-375を参照のこと）。エフェクターは、リガンド結合に応答して他の機能を媒介する他のタンパク質、あるいは通常はレセプターと相互作用する他のタンパク質であり得る。どの部位が特定の他のタンパク質と相互作用するかを決定するための一つの手段は、物理的構造決定、例えばX線結晶学または二次元NMR技術である。これらは、どのアミノ酸残基が分子接触領域を形成するかに関する指針を提供する。タンパク質構造決定の詳細な説明に関しては、例えば、Blundell and Johnson (1976) Protein Crystallography, Academic Press, New York（これは、本明細書中で参考として援用される）を参照のこと。

【0047】

(II. 活性)

サイトカインレセプター様タンパク質は、多数の異なる生物学的活性（例えば、細胞増殖を調整する活性、あるいはホスフェート代謝においては、特定の基質、代表的にはタンパク質に活性を与えるかまたはそれから除去する活性）を有する。これにより、一般に、炎症性機能、その他の先天性免疫応答または形態学的作用が調整される。サブユニットは、おそらくはリガンドとの特定の低親和性結合を有する。

【0048】

異なるレセプターは、異なるシグナルを媒介し得る。TLR-Lレセプターは、基本的な先天免疫または発生的応答を媒介するTLRと類似の生物学をシグナル伝達し得る（例えば、Aderem and Ulevitch (2000) Nature 406: 782-787を参照のこと）。TNFおよびTGFは、見かけ上、Th2細胞により発現される、5685C6と同様に、サイトカインとしてシグナル伝達すると考えられる。5685C6遺伝子は、切断可能シグナル配列を示す分泌タンパク質であると思われる。

10

【0049】

クローディンは、4つの膜貫通セグメントを示す膜タンパク質であるようであり、接着結合および/または傍細胞輸送に関連すると考えられる。それらはまた、膜を通過する上皮透過性またはコンダクタンス（例えばイオン）に影響を及ぼし得る。クローディンファミリーのクローディンD2メンバーは、クローン病と相関する調節された発現を有することが見出されている。他のファミリーのメンバーは、疾患状態（例えば、クローン病、潰瘍性結腸炎および種々の間質性肺疾患）における差示的調節を示す。これは、これらの疾患プロセスにおける重要な役割と一致する。接着結合/傍細胞性輸送における機能的役割は、腸管の生理学における問題と一致する。

20

【0050】

クローディンは、別個の組織分布パターンを有する4つのTMタンパク質の構造的に関連する多遺伝子ファミリーを限定する。クローディンは、接着結合(TJ)の主要な構造タンパク質であり、それらの形成を促進し得る。それらの発現は必要であるが、接着結合形成には十分でない。線維芽細胞中で発現される場合、クローディン1は、隣接細胞の連続的な結合を誘導し、丸石様(cobblestone like)パターンを生じ得る。しかしながらこの連続的な障壁は、接着結合ではない。クローディンは、特定の細胞における接着結合の外側に見出され得る。クローディン3およびクローディン4は、下痢を引き起こす腸管中の流体蓄積の原因因子であるClostridium perfringens外毒素に対するレセプターである。クローディン5は、口蓋-心臓-顔面症候群(VCFs)において欠失している。クローディン5は、内皮細胞中で発現されるのみであり、いくつかの組織中では、さらに動脈に制限されさえする。

30

【0051】

クローディンファミリーメンバーおよび主要腎臓接着結合タンパク質であるパラセリン-1における突然変異体は、腎石灰症を伴う腎臓マグネシウム消耗を引き起こす。したがってクローディンは、異なる上皮の透過性を決定することにより、選択的傍細胞性コンダクタンスにおいて重要な役割を果たし得る。

40

【0052】

シュラーフェンは、成長調節因子のタンパク質のファミリーのメンバーである（例えば、Schwarz, et al. (1998) Immunity 9: 657-668を参照のこと）。これらの新規のヒト配列は、マウスシュラーフェン2遺伝子に関連する。マウスIBDにおいて、これは、差次的に調節されることが観察され：RagHh+ (IL-10処理)の結腸発現は、RagHh+単独より高く、RagHh-の発現を模倣した。

【0053】

DIRS4は、JAK経路によるレセプターのシグナル伝達に特徴的な細胞外モチーフを有する（例えば、Ihle, et al. (1997) Stem Cells 15(s

50

uppl. 1) : 105 - 111 ; Silvennoinen, et al. (1997) APMIS 105 : 497 - 509 ; Levy (1997) Cytokine Growth Factor Review 8 : 81 - 90 ; Winston and Hunter (1996) Current Biol. 6 : 668 - 671 ; Barrett (1996) Baillieres Clin. Gastroenterol. 10 : 1 - 15 ; および Briscoe, et al. (1996) Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci. 351 : 167 - 171 を参照のこと)。

【0054】

サイトカインまたは他のレセプターサブユニットの生物学的活性は、通常は特異的な様式で、しかし時には非特異的な様式で、基質へのホスフェート部分の付加または除去に関連する。例えば Hardie, et al. (eds. 1995) The Protein Kinase FactBook vol. I および vol. II, Academic Press, San Diego, CA ; Hanks, et al. (1991) Meth. Enzymol. 200 : 38 - 62 ; Hunter, et al. (1992) Cell 70 : 375 - 388 ; Lewin (1990) Cell 61 : 743 - 752 ; Pines, et al. (1991) Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 56 : 449 - 463 ; および Parker, et al. (1993) Nature 363 : 736 - 738 に記載されているような標準方法により、基質が同定され得るか、または酵素活性に関する条件がアッセイされ得る。

10

20

【0055】

(III. 核酸)

本発明は、これらまたは密接に関連したタンパク質またはそのフラグメントをコードする(例えば、対応するポリペプチド、好ましくは生物学的に活性なポリペプチドをコードする)単離された核酸またはフラグメントの使用を意図する。さらに本発明は、DIRS 4 または他の遺伝子に特徴的な配列を有するこのようなタンパク質またはポリペプチドをコードする単離されたDNAまたは組換えDNAを網羅する。代表的には、核酸は、適切な条件下で、上記適切な配列番号で示される核酸配列セグメントとハイブリダイズし得るが、好ましくは他の遺伝子とはハイブリダイズしない。上記生物学的活性タンパク質またはポリペプチドは、全長タンパク質またはフラグメントであり得、通常は上記のものと高度に相同性である(例えば、同一な有意のストレッチを示すアミノ酸配列のセグメントを有する。さらに本発明は、上記タンパク質と等価であるフラグメントを有するタンパク質をコードする単離された核酸または組換え核酸あるいはそのフラグメントの使用を網羅する。単離された核酸は、5' および 3' 側面にそれぞれの調節配列を(例えば、プロモーター、エンハンサー、ポリ-A 付加シグナルおよび天然遺伝子由来の他の調節配列)を有し得る。

30

【0056】

「単離された」核酸は、実質的に純粋である、例えばネイティブの配列を天然で伴う他の構成成分(例えば、起始種からのリボソーム、ポリメラーゼおよびフランキングゲノム配列)から分離された核酸、例えばRNA、DNAまたは混合ポリマーである。本用語は、その天然に存在する環境から除去された核酸配列を包含し、組換えDNAまたはクローン化DNA単離体を含み、これはそれにより天然に存在する組成物ならびに化学合成されたアナログまたは異種系により生物学的に合成されたアナログから区別可能である。実質的に純粋な分子は、完全にまたは実質的に純粋である単離形態の分子を包含する。

40

【0057】

単離された核酸は、一般的に分子の均質な組成物であるが、いくつかの実施形態では、不均質性を、好ましくはごく少量の不均質性を含有する。この不均質性は、代表的に、所望の生物学的機能または活性に重要でないポリマー末端または一部分で見出される。

【0058】

50

「組換え」核酸は、代表的に、その製造方法または構造のいずれかにより規定される。製造方法（例えば、プロセスにより製造される生産物）に関して、そのプロセスは、例えば、ヌクレオチド配列におけるヒトの介入を含めた、組換え核酸技術の使用である。代表的に、本発明はインビトロ操作を包含するが、特定の環境下では、それはより古典的な動物繁殖技術を包含し得る。あるいはそれは、互いに天然では連続しない2つのフラグメントの融合を含む配列を生成することにより作製される核酸であり得る（しかし、天然の産物、例えばそれらの天然状態で見出されるような天然に存在する突然変異体を排除することを意味する）。したがって、任意の合成オリゴヌクレオチドプロセスを用いて得られる配列を含む核酸の場合と同様に、例えば天然に存在しないベクターを用いて細胞を形質転換することにより生成される生成物が包含される。このような方法はしばしば、代表的に制限酵素配列認識部位を導入または除去しつつ、あるコドン、同一または保存的アミノ酸をコードする重複コドンで置き換えるために実行される。あるいは本プロセスは、所望の機能を有する核酸セグメントと一緒に連結して、一般に利用可能な天然形態では見出されない機能（例えば融合タンパク質をコードする機能）の所望の組合せを含む単一遺伝子産物を生成するために実施される。制限酵素認識部位はしばしば、このような人工的操作の標的であるが、他の部位特異的標的、例えばプロモーター、DNA複製部位、調節配列、制御配列、または他の有用な特徴が設計により組み込まれ得る。同様の概念は、組換えポリペプチド（例えば、融合ポリペプチド）に関して意図される。これは、二量体反復を包含する。遺伝コード重複による、上記の配列および種々の異なる関連分子（例えば他のサイトカインレセプターファミリーメンバー）由来の配列の融合物のフラグメントと等価のポリペプチドをコードする合成核酸が特に含まれる。

10

20

【0059】

核酸の関係において、「フラグメント」は、少なくとも約17個のヌクレオチド、一般的に少なくとも21個のヌクレオチド、より一般的には少なくとも25個のヌクレオチド、普通は少なくとも30個のヌクレオチド、より普通には少なくとも35個のヌクレオチド、頻繁に少なくとも39個のヌクレオチド、より頻繁には少なくとも45個のヌクレオチド、代表的には少なくとも50個のヌクレオチド、より代表的には少なくとも55個のヌクレオチド、通常は少なくとも60個のヌクレオチド、より通常は少なくとも66個のヌクレオチド、好ましくは少なくとも72個のヌクレオチド、より好ましくは少なくとも79個のヌクレオチド、特に好ましい実施形態では、少なくとも85個のヌクレオチドまたはそれ以上の連続セグメントである。代表的には、異なる遺伝子配列のフラグメントは、適切な長さのストレッチにわたって（特に下記のドメインのような規定されたセグメントにわたって）互いに比較され得る。

30

【0060】

例えばDIRS4をコードする核酸は、それ自体または密接に関連するタンパク質をコードする遺伝子、mRNAおよびcDNA種、ならびに、例えば、異なる個体または関連する種由来の多型、対立遺伝子または他の遺伝子改変体をコードするDNAを同定するために特に有用である。他の遺伝子は、特定の細胞型に対するマーカーとして、あるいは種々の生理学的条件の診断のためのマーカーとして有用である。このようなスクリーニングのための好ましいプローブは、特定の環境において、異なる多型改変体間で保存されているか、または特異性を欠くヌクレオチドを含有する遺伝子の領域であり、好ましくは全長またはほぼ全長である。その他の状況では、多型改変体特異的配列がより有用である。

40

【0061】

本発明はさらに、本明細書中に示される単離されたDNAと同一のまたは高度に相同な核酸配列を有する組換え核酸分子およびフラグメントを網羅する。特に、この配列はしばしば、転写、翻訳およびDNA複製を制御するDNAセグメントと作動可能に連結される。あるいは例えばイントロンを含有するゲノム配列由来の組換えクローンは、例えばトランスジェニック細胞およびトランスジェニック生物を含むトランスジェニック研究および遺伝子療法に有用である（例えば、Goodnow (1992) "Transgenic Animals" in Roitt (ed.) Encyclopedia of Im

50

munology Academic Press, San Diego, pp. 1502-1504; Travis (1992) Science 256: 1392-1394; Kuhn, et al. (1991) Science 254: 707-710; Capecchi (1989) Science 244: 1288; Robertson (1987) (ed.) Teratocarcinomas and Embryonic Stem Cells: A Practical Approach IRL Press, Oxford; および Rosenberg (1992) J. Clinical Oncology 10: 180-199を参照のこと)。異種プロモーターと天然の遺伝子配列との操作可能な会合も提供され、レセプターパートナーと、例えばDIRS4をコードするベクターの場合も同様である(例えば、Treco, et al. WO96/29411またはUSN08/406,030を参照のこと)。

10

【0062】

相同な核酸配列のまたは高度に同一な核酸配列(例えば、DIRS4配列)は、互いに比較される場合、有意な類似性を示す。核酸における相同性に関する標準は、配列比較により当該分野で一般に用いられている相同性についての測定値であるか、またはハイブリダイゼーション条件に基づくかのいずれかである。比較ハイブリダイゼーション条件は、以下でより詳細に記載される。

【0063】

核酸配列比較の関係における実質的な同一性は、セグメントまたはそれらの相補鎖が、比較した場合に、適切なヌクレオチド挿入物または欠失物と、少なくとも約60%のヌクレオチドで、一般的に少なくとも66%、普通は少なくとも71%、頻繁に少なくとも76%、より頻繁に少なくとも80%、通常は少なくとも84%、より通常は少なくとも88%、代表的には少なくとも91%、より代表的には少なくとも約93%、好ましくは少なくとも約95%、より好ましくは少なくとも約96%~98%またはそれ以上、そして特定の実施形態では、約99%またはそれ以上のヌクレオチド(例えば、下記のセグメントのような構造的ドメインをコードするセグメント)において最適に整列される場合、同一である。あるいは、実質的な同一性は、セグメントが選択的ハイブリダイゼーション条件下で、代表的には上記配列を用いて、ある鎖またはその相補体とハイブリダイズする場合に存在する。代表的に、選択的ハイブリダイゼーションは、少なくとも約14個のヌクレオチドのストレッチにわたって少なくとも約55%の相同性が、さらに通常は少なくとも約65%、好ましくは少なくとも約75%、より好ましくは少なくとも約90%の相同性が存在する場合に起こる(Kanehisa (1984) Nucleic Acids Res. 12: 203-213を参照のこと)(これは、本明細書中で参考として援用される)。相同性比較の長さは、上記のように、より長いストレッチにわたり、そして、特定の実施形態では、少なくとも約17個のヌクレオチド、一般的には少なくとも約20個のヌクレオチド、普通は少なくとも約24個のヌクレオチド、通常は少なくとも約28個のヌクレオチド、典型的には少なくとも約32個のヌクレオチド、より典型的には少なくとも約40個のヌクレオチド、好ましくは少なくとも約50個のヌクレオチド、より好ましくは少なくとも約75個~100個のまたはそれ以上のヌクレオチドにわたる。これは、例えば125、150、175、200、225、250、275、300、400、500、700、900等の長さを包含する。

20

30

40

【0064】

ストリンジェントな条件は、ハイブリダイゼーション状況における相同性に言及する場合、通常はハイブリダイゼーション反応において制御される塩、温度、有機溶媒およびその他のパラメーターのストリンジェントな組合せの条件である。ストリンジェントな温度条件は、通常は約30℃を超える温度、さらに通常では約37℃を超える、代表的には約45℃を超える、さらに代表的には約55℃を超える、好ましくは約65℃を超える、より好ましくは約70℃を超える温度を包含する。ストリンジェントな塩条件は、普通は約500mM未満、通常は約400mM未満、さらに通常では約300mM未満、代表的には約200mM未満、好ましくは約100mM未満、より好ましくは約80mM未満、さらに

50

約 20 mM 未満より低いことさえある。しかしながらパラメーターの組合せは、任意の単一パラメーターの測定よりもはるかに重要である（例えば、Wetmur Davidson (1968) J. Mol. Biol. 31: 349-370 を参照のこと）（これは、本明細書中で参考として援用される）。

【0065】

単離された DNA は、ヌクレオチド置換、ヌクレオチド欠失、ヌクレオチド挿入およびヌクレオチドストレッチの逆位により容易に修飾され得る。これらの修飾は、このタンパク質またはその誘導体をコードする新規の DNA 配列を生じる。これらの修飾配列を用いて、変異タンパク質（ムテイン）を産生するか、または改変体種の発現を増強し得る。増強された発現は、遺伝子増幅、転写増大、翻訳増大およびその他のメカニズムに關与し得る。このような変異誘導体としては、タンパク質またはそのフラグメントの予め決定された変異または部位特異的変異（例えば遺伝暗号縮重を用いたサイレント変異）が挙げられる。「変異 DIRS4」とは、本明細書中で用いる場合、そうでなければ上記のような DIRS4 の相同性の定義内に含まれるが、欠失によるのであれ、置換または挿入によるのであれ、天然に見出されるような他のサイトカインレセプター様タンパク質の場合とは異なるアミノ酸配列を有するポリペプチドを包含する。特に、「部位特異的変異 DIRS4」は、配列番号 2 のタンパク質と実質的な配列同一性を有するタンパク質を包含し、通常は本明細書中に開示された形態の生物学的活性または作用のほとんどを共有する。

10

【0066】

部位特異的変異部位は予め決定されるが、変異体は部位特異的である必要はない。哺乳動物 DIRS4 変異誘発は、発現と結び付いた、遺伝子におけるアミノ酸挿入または欠失を作製することにより達成され得る。置換、欠失、挿入または多数の組合せが作製されて、最終構築物で到達し得る。挿入は、アミノ末端融合物またはカルボキシ末端融合物を包含する。ランダム変異は標的コドンで実行され、次に発現された哺乳動物 DIRS4 変異体は、所望の活性についてスクリーニングされて、構造 - 活性関係のいくつかの局面を提供する。既知の配列を有する DNA における予め決定された部位での置換変異の作製方法は、例えば、M13 プライマー変異誘発により、当該技術分野で既知である (Sambrook et al. (1989) および Ausubel, et al. (1987 および 定期付録) もまた参照のこと)。

20

【0067】

DNA における変異は、普通はリーディングフレームの中のコード配列を置くべきでなく、好ましくはハイブリダイズして mRNA 二次構造（例えば、ループまたはヘアピン）を生じる相補的領域を作製しない。

30

【0068】

Beaucage および Carruthers (1981) Tetra. Letts. 22: 1859-1862 により記載されたホスホルアミダイト法は、適切な合成 DNA フラグメントを産生する。二本鎖フラグメントはしばしば、相補鎖を合成し、その鎖を適切な条件下で一緒にアニーリングすることによるか、または適切なプライマー配列とともに DNA ポリメラーゼを用いて相補鎖を付加することにより得られる。

【0069】

ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) 技術は、変異誘発においてしばしば適用され得る。あるいは、変異誘発プライマーは、予め決定された部位での規定された変異を生成するために一般的に用いられる方法である（例えば、Innis, et al. (eds. 1990) PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications Academic Press, San Diego, CA; および Diefenbach and Dveksler (1995; eds.) PCR Primer: A Laboratory Manual Cold Spring Harbor Press, CSH, NY を参照のこと）。

40

【0070】

これらの遺伝子の発現を遮断するためのアンチセンスおよびその他の技術もまた利用可能

50

である（例えば、Misquitta and Patterson (1999) Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 96:1451-1456 もまた参照のこと）。

【0071】

（IV．タンパク質、ペプチド）

上記のように、本発明は、霊長類DIRS4（例えば、その配列が配列番号2で開示され、そして上記されるもの）を包含する。対立遺伝子および他の改変体（例えば、このような配列の部分を他の部分（例えば、エピトープタグおよび機能的ドメイン）と組み合わせた融合タンパク質）もまた意図される。本明細書中に記載した他の遺伝子に関する類似の方法および用途が存在する。

10

【0072】

本発明はまた、組換えタンパク質（例えば、これらのタンパク質由来のセグメントを用いる異種融合タンパク質）を提供する。異種融合タンパク質は、天然では同一の様式で普通は融合されないタンパク質またはセグメントの融合物である。したがって、例えば、DIRS4と別のサイトカインレセプターとの融合産物は、代表的には単一翻訳産物として作成される、代表的なペプチド結合において融合された配列を有し、そして各々の供給源ペプチド由来の特性（例えば配列または抗原性）を示す連続するタンパク質分子である。同様の概念は、異種核酸配列に適用される。

【0073】

さらに、新規の構築物は、他の関連タンパク質（例えばサイトカインレセプターまたはToll様レセプター様遺伝子（種改変体を含む））由来の類似の機能的または構造的ドメインを組合せることにより作製され得る。例えばリガンド結合セグメントまたは他のセグメントは、異なる新規の融合ポリペプチドまたはフラグメント間で「交換」され得る。（例えばCunninghamら（1989）Science 243:1330-1336；およびO'Dowdら（1988）J. Biol. Chem. 263:15985-15992（これらの各々は、本明細書中に参考として援用される）を参照のこと。したがって、特異性の新規の組合せを示す新規のキメラポリペプチドは、レセプター結合特異性の機能的結合から生じる。例えば、他の関連レセプター分子由来のリガンド結合ドメインは、このタンパク質または関連タンパク質の他のドメインに付加され得るかまたはそれによって置換され得る。得られるタンパク質はしばしば、ハイブリッド機能およびハイブリッド特性を有する。例えば融合タンパク質は、特定の細胞下小器官への融合タンパク質の隔離を提供するように作用し得る標的化ドメインを包含し得る。

20

30

【0074】

候補融合パートナーおよび配列は、種々の配列データベース、例えばGenBank、c/o IntelliGenetics、Mountain View、CA；およびBCG、University of Wisconsin Biotechnology Computing Group、Madison、WI（これらの各々は、参考として本明細書中に援用される）から選択され得る。

【0075】

本発明は特に、サイトカイン様リガンドを結合し、および/またはシグナル伝達において影響される突然変異タンパク質を提供する。サイトカインレセプターファミリーの他のメンバーとの、ヒトDIRS4の構造的アラインメントは、保存された特徴/残基を示す。サイトカインレセプターファミリーの他のメンバーとの、ヒトDIRS4配列のアラインメントは、種々の構造的および機能的共有特徴を示す。Bazanら（1996）Nature 379:591；Lodiら（1994）Science 263:1762-1766；SayleおよびMilner-White（1995）TIBS 20:374-376；ならびにGronenbergら（1991）Protein Engineering 4:263-269もまた参照のこと。同様に、他の遺伝子は、ファミリーメンバーと関連する。

40

【0076】

50

マウス配列またはヒト配列のいずれかによる置換は、特に好ましい。逆に、リガンド結合相互作用領域から離れた保存的置換は、おそらくほとんどのシグナル伝達活性を保存し；そして細胞内ドメインから離れた保存的置換は、おそらくほとんどのリガンド結合特性を保存する。

【0077】

種々のタンパク質の「誘導体」としては、アミノ酸配列変異体、グリコシル化改変体、代謝誘導体、ならびに他の化学部分との共有結合的または集合的結合体が挙げられる。共有結合的誘導体は、例えば当該技術分野で周知の手段により、アミノ酸側鎖中に、あるいはN末端またはC末端に見出される基に対する官能基の結合により調製され得る。これらの誘導体としては、カルボキシル末端の、またはカルボキシル側鎖を含有する残基の脂肪族エステルまたはアミド、ヒドロキシル基含有残基のO-アシル誘導体、ならびにアミノ末端アミノ酸またはアミノ基含有残基（例えばリジンまたはアルギニン）のN-アシル誘導体が挙げられ得るが、これらに限定されない。アシル基は、アルキル部分（C3～C18一級アルキルを含む）の群から選択され、それによりアルカノイルアロイル種を生成する。

10

【0078】

特に、例えばその合成およびプロセッシング中の、またはさらなるプロセッシング工程におけるポリペプチドのグリコシル化パターンを改変することにより作製される、グリコシル化変化が包含される。これを達成するための特に好ましい手段は、通常このようなプロセッシングを提供する細胞由来のグリコシル化酵素（例えば哺乳動物グリコシル化酵素）にポリペプチドを曝露することによる。脱グリコシル化酵素もまた意図される。他の小修飾を有する同一の一次アミノ酸配列（リン酸化アミノ酸残基（例えばホスホチロシン、ホスホセリンまたはホスホトレオニン）を含む）のバージョンも包含される。

20

【0079】

誘導体の主要群は、タンパク質またはそのフラグメントとポリペプチドの他のタンパク質との共有結合的結合体である。これらの誘導体は、組換え培養物中で合成され得る（例えばN末端もしくはC末端融合物）か、または反応性側鎖基を介した架橋タンパク質におけるそれらの有用性に関して当該技術分野で公知の薬剤の使用により、合成され得る。架橋剤による好ましい誘導体化部位は、遊離アミノ基、炭水化物部分およびシステイン残基である。

30

【0080】

タンパク質と他の同種または異種タンパク質との間の融合ポリペプチドもまた提供される。同種ポリペプチドは、異なるタンパク質間の融合物であり、例えば複数の異なるサイトカインリガンドに対する結合特異性を示すハイブリッドタンパク質、または基質効果の特異性を広範化または弱体化し得るレセプターを生じる。同様に、誘導体タンパク質の特性または活性の組合せを示す異種融合物が構築され得る。典型的な例は、所望のリガンドの存在また配置が容易に決定され得るような、レポーターポリペプチド（例えば、ルシフェラーゼ）とレセプターのセグメントまたはドメイン（例えば、リガンド結合セグメント）との融合物である。例えば、Dullら米国特許第4,859,609号（これは、参考として本明細書中に援用される）を参照のこと。他の遺伝子融合パートナーとしては、グルタチオン-S-トランスフェラーゼ（GST）、細菌性 - ガラクトシダーゼ、trpE、プロテインA、 - ラクタマーゼ、アミラーゼ、アルコールデヒドロゲナーゼおよび酵母接合因子が挙げられる。例えば、Godowskiら（1988）Science 241:812-816を参照のこと。

40

【0081】

BeaucageおよびCarruthers（1981）Tetra.Letters. 22:1859-1862により記載されたホスホラミダイト法は、適切な合成DNAフラグメントを産生する。二本鎖フラグメントはしばしば、相補鎖を合成して、その鎖を適切な条件下で一緒にアニーリングすることにより、または適切なプライマー配列とともにDNAポリメラーゼを用いて相補鎖を付加することのいずれかにより得られる。

50

【0082】

このようなポリペプチドはまた、リン酸化、スルホン化、ビオチン化、または他の部分（特にホスフェート基と類似の分子形状を有する部分）の付加または除去により、化学的に修飾されたアミノ酸残基も有し得る。いくつかの実施形態では、修飾は、有用な標識試薬であり、または精製標的（例えばアフィニティーリガンド）として機能する。

【0083】

融合タンパク質は、代表的には、組換え核酸法、または合成ポリペプチド法のいずれかにより作製される。核酸操作および発現のための技術は、例えばSambrookら（1989）Molecular Cloning: A Laboratory Manual（第二版）、1～3巻、Cold Spring Harbor Laboratory およびAusubelら（1987編および定期増補）Current Protocols in Molecular Biology、Greene/Wiley、New York（これらの各々は、参考として本明細書中に援用される）に一般に記載されている。ポリペプチドの合成のための技法は、例えば、Merrifield（1963）J. Amer. Chem. Soc. 85: 2149 - 2156; Merrifield（1986）Science 232: 341 - 347; およびAthertonら（1989）Solid Phase Peptide Synthesis: A Practical Approach、IRL Press、Oxford（これらの各々は、参考として本明細書中に援用される）に記載されている。より大きいポリペプチドの製造方法に関しては、Dawsonら（1994）Science 266: 776 - 779 も参照のこと。

【0084】

本発明はまた、アミノ酸配列またはグリコシル化におけるバリエーション以外のこれらのタンパク質の誘導体の使用も意図する。このような誘導体は、化学部分との共有結合的または集合的会合を包含し得る。これらの誘導体は一般に、以下の3つのクラスに入る：（1）塩、（2）側鎖および末端残基の共有結合的修飾、ならびに（3）例えば細胞膜との吸着複合体。このような共有結合的または集合的誘導体は、免疫原として、イムノアッセイにおける試薬として、または例えば、レセプターまたは他の結合分子（例えば抗体）のアフィニティー精製のための精製方法において有用である。例えばサイトカインリガンドは、当該技術分野で周知である方法によって、固体支持体（例えば臭化シアン活性化セファロース）との共有結合により固定され得るか、あるいはサイトカインレセプター、抗体または他の類似の分子のアッセイまたは精製において用いるために、グルタルアルデヒド架橋を用いてか、または用いずに、ポリオレフィン表面に吸着され得る。リガンドはまた、診断アッセイに用いるために、検出可能基を用いて標識され得る（例えば、クロラミンT手順により放射性ヨウ素化されるか、希土類キレートと共有結合されるか、または別の蛍光部分と接合される）。

【0085】

本発明のポリペプチドは、抗血清または抗体の産生のための免疫原として用いられ得る。これらは特異的であり、例えば他の関連ファミリーメンバーまたは種々のそれらのフラグメント間を検出または区別し得る。精製タンパク質は、タンパク質を含有する種々の形態の不純調製物を用いた免疫により調製されるモノクローナル抗体または抗原結合フラグメントをスクリーニングするために用いられ得る。特に、「抗体」という用語はまた、天然抗体の抗原結合フラグメント（例えばFab、Fab2、Fvなど）も包含する。精製タンパク質はまた、高レベルの発現の存在、または内因性レセプターに対する抗体産生をもたらす免疫学的障害に応答して生成される抗体を検出するための試薬としても用いられ得る。さらに、フラグメントは、本発明の抗体を産生するための免疫原としても作用し得る。例えば、本発明は、提供されたアミノ酸配列との結合親和性を有するか、またはそれに対して惹起される抗体、そのフラグメント、または種々の相同ペプチドを意図する。特に本発明は、外部タンパク質表面で曝露されると予測されるかまたは実際に曝露される特定のフラグメントに対する結合親和性を有するかまたはそれに対して惹起された抗体を意図

する。

【 0 0 8 6 】

レセプターリガンドに対する生理学的応答のブロックは、おそらくは競合的阻害による、レセプターとのリガンドの結合の阻害から生じ得る。リガンドに対する抗体は、アンタゴニストであり得る。したがって本発明のインビトロアッセイは、しばしば、抗体もしくはこれらの抗体の抗原結合セグメント、または固相基板に付着されたフラグメントを用いる。アッセイは、例えばシグナル伝達または酵素機能に影響を及ぼす変異および改変の影響の診断的決定も可能にする。

【 0 0 8 7 】

本発明はまた、例えば、レセプターまたはフラグメントに対する中和抗体が、リガンドまたは他の抗体との結合に関して試験化合物と競合する、競合的薬剤スクリーニングアッセイの使用も意図する。この様式では、中和抗体またはフラグメントは、レセプターとの1つまたはそれ以上の結合部位を共有するポリペプチドの存在を検出するために用いられ、そして、そうでなければリガンドを結合し得るレセプター上に結合部位を占めるためにもまた用いられ得る。

【 0 0 8 8 】

(V . 核酸およびタンパク質の作製)

タンパク質またはそのフラグメントをコードするDNAは、化学合成、cDNAライブラリーのスクリーニングにより、または広範な種々の細胞株または組織試料から調製されたゲノムライブラリーをスクリーニングすることにより得られ得る。天然配列は、標準的な方法ならびに本明細書中に提供された配列を用いて単離され得る。他の種の対応物は、ハイブリダイゼーション技術もしくは種々のPCR技術またはそれらを組合せにより、あるいは配列データベース(例えばGenBank)における検索により、同定され得る。

【 0 0 8 9 】

このDNAは、広範な種々の宿主細胞中で発現され得、これは次に、例えば、ポリクローナルまたはモノクローナル抗体を生成するために；結合研究のために；改変構築物の構築および発現のために；ならびに構造/機能研究のために用いられ得る。改変体またはフラグメントは、適切な発現ベクターを用いて形質転換またはトランスフェクトされた宿主細胞中で発現され得る。これらの分子は、組換え宿主由来のもの以外のタンパク質または細胞夾雑物を実質的に含有しないことができ、したがって、薬学的に許容可能なキャリアおよび/または希釈剤と組合せた場合、薬学的組成物中で特に有用である。タンパク質またはその一部分は、他のタンパク質との融合物として発現され得る。

【 0 0 9 0 】

発現ベクターは、代表的には、適切な宿主細胞中で認識される適切な遺伝子制御エレメントと通常は作動可能に連結される所望のレセプター遺伝子またはそのフラグメントを含有する自己複製性のDNA構築物またはRNA構築物である。これらの制御エレメントは、適切な宿主内での発現をもたらし得る。発現もたらしするのに必要な特定の型の制御エレメントは、用いる最終的な宿主細胞に依存する。一般的に、遺伝子制御エレメントとしては、原核生物プロモーター系または真核生物プロモーター発現制御系が挙げられ得、代表的には、転写プロモーター、転写の開始を制御するための任意のオペレーター、mRNA発現のレベルを増大するための転写エンハンサー、適切なりボソーム結合部位をコードする配列、ならびに転写および翻訳を終結する配列が挙げられる。発現ベクターはまた、通常、宿主細胞とは独立してベクターを複製させる複製起点も含有する。

【 0 0 9 1 】

本発明のベクターとしては、記載したようなタンパク質をコードするDNAまたは生物学的に活性な等価なポリペプチドをコードするそのフラグメントを含有するベクターが挙げられる。DNAは、ウイルスプロモーターの制御下にあり得、選択マーカーをコードし得る。本発明はさらに、原核生物または真核生物の宿主中でこのようなタンパク質をコードする真核生物cDNAを発現し得るこのような発現ベクターの使用を意図し、ここで、このベクターは宿主と適合性であり、そしてレセプターをコードする真核生物cDNAは、

10

20

30

40

50

ベクターを含有する宿主の増殖が当該 cDNA を発現するように、ベクター中に挿入される。通常は、発現ベクターは、それらの宿主細胞中での安定した複製のために、または 1 細胞当たりの所望の遺伝子の総コピー数を大いに増大する増幅のために設計される。発現ベクターが宿主細胞中で複製することを必要とすることが常に必要なわけではなく、例えば、宿主細胞により認識される複製起点を含有しないベクターを用いて、種々の宿主中でタンパク質またはそのフラグメントの一時的発現をもたらすことが可能である。組換えにより、タンパク質コード部分またはそのフラグメントの宿主 DNA 中への組込みを引き起こすベクターを用いることも、可能である。

【0092】

ベクターは、本明細書中で用いる場合、プラスミド、ウイルス、バクテリオファージ、組込み可能な DNA フラグメント、ならびに宿主のゲノム中への DNA フラグメントの組込みを可能にする他のビヒクルを含む。発現ベクターは、作動可能に連結した遺伝子の発現をもたらす遺伝子制御エレメントを含有する特殊ベクターである。プラスミドは、最も一般的に用いられる形態のベクターであるが、等価な機能を供し、当該技術分野で既知であるかまたは既知になる他のすべての形態のベクターが、本明細書中で用いるために適している。例えば、Pouwels ら (1985 および補遺) *Cloning Vectors: A Laboratory Manual*, Elsevier, N.Y., および Rodriguez ら (1988 編) *Vectors: A Survey of Molecular Cloning Vectors and Their Uses*, Butterworth, Boston (これらは、参考として本明細書中に援用される) を参照のこと。 10 20

【0093】

形質転換細胞は、組換え DNA 技術を用いて構築されたレセプターベクターで形質転換またはトランスフェクトされた細胞、好ましくは哺乳動物細胞である。形質転換宿主細胞は、通常は、所望のタンパク質またはそのフラグメントを発現するが、その DNA をクロニングし、増幅し、操作する目的のためには、目的のタンパク質を発現する必要はない。本発明はさらに、栄養培地中で形質転換細胞を培養し、したがってレセプターを細胞膜中に蓄積させるのを可能にすることを意図する。タンパク質は、培養物、またはある場合には培養培地のいずれかから回収され得る。

【0094】

本発明の目的のために、核酸配列は、それらが互いに機能的に関連する場合、作動可能に連結される。例えば、プレ配列または分泌リーダーのための DNA は、プレタンパク質として発現されるか、またはポリペプチドを細胞膜に指向させること、もしくはポリペプチドの分泌に関与する場合に、ポリペプチドと作動可能に連結される。プロモーターは、ポリペプチドの転写を制御する場合にはコード配列と作動可能に連結され；リボソーム結合部位は、翻訳を可能にするよう配置される場合には、コード配列と作動可能に連結される。通常は、作動可能に連結されるとは、隣接し、かつリーディングフレームとインフレームである (in reading frame) ことを意味するが、ある種の遺伝子エレメント、例えばレプレッサー遺伝子は、隣接して連結されないが、次に発現を制御するオペレーター配列とは依然として結合している。 30 40

【0095】

適切な宿主細胞としては、原核生物、下等真核生物および高等真核生物が挙げられる。原核生物としては、グラム陰性生物およびグラム陽性生物の両方 (例えば、*E. coli* および *B. subtilis*) が挙げられる。下等真核生物としては、酵母 (例えば、*S. cerevisiae* および *Pichia*) ならびに *Dictyostelium* 属の種が挙げられる。高等真核生物としては、非哺乳動物起源 (例えば、昆虫細胞および鳥類) の動物細胞、ならびに哺乳動物起源 (例えば、ヒト、霊長類および齧歯類) の動物細胞の両方由来の樹立された組織培養細胞株が挙げられる。

【0096】

原核生物宿主 - ベクター系としては、多数の異なる種についての広範な種々のベクターが 50

挙げられる。本明細書中で用いる場合、*E. coli*およびそのベクターは、他の原核生物中で用いられる等価なベクターを含むよう総称的に用いられる。DNAを増幅するための代表的ベクターは、pBR322または多数のその誘導体である。レセプターまたはそのフラグメントを発現するために用いられ得るベクターとしては、lacプロモーター（pUCシリーズ）；trpプロモーター（pBR322-trp）；Ippプロモーター（pINシリーズ）；lambda-pPまたはpRプロモーター（pOTS）；あるいはハイブリッドプロモーター（例えばptac（pDR540））を含有するベクターのようなものが挙げられるが、これらに限定されない。Brosiusら（1988）「Expression Vectors Employing Lambda-, trp-, lac-, and Ipp-derived Promoters」、Vectors: A Survey of Molecular Cloning Vectors and Their Uses、(RodriguezおよびDenhardt編)、Butterworth、Boston、第10章、205-236頁（これは、参考として本明細書中に援用される）を参照のこと。

10

【0097】

下等真核生物、例えば酵母および*Dictyostelium*は、DIRS4配列含有ベクターで形質転換され得る。本発明の目的のために、最も一般的な下等真核生物宿主は、パン酵母である*Saccharomyces cerevisiae*である。これは、下等真核生物を総称的に表すために用いられるが、多数の他の菌株および種も利用可能である。酵母ベクターは、代表的には、複製起点（組込み型でない場合）、選択遺伝子、プロモーター、レセプターをコードするDNAまたはそのフラグメント、ならびに翻訳終結、ポリアダニル化および転写終結のための配列からなる。酵母のための適切な発現ベクターは、3-ホスホグリセレートキナーゼおよび種々の他の解糖酵素遺伝子のプロモーターのような構成的プロモーター、またはアルコールデヒドロゲナーゼ2プロモーターまたはメタロチオニンプロモーターのような誘導性プロモーターを包含する。適切なベクターは、以下の型の誘導体を包含する：自己複製性低コピー数（例えばYRpシリーズ）、自己複製性高コピー数（例えばYEpシリーズ）；組込み型（例えばYIpシリーズ）またはミニ染色体（例えばYCPシリーズ）。

20

【0098】

高等真核生物組織培養細胞は、通常は、機能的に活性なインターロイキンタンパク質の発現のための好ましい宿主細胞である。原則的に、無脊椎動物供給源からであれ、脊椎動物供給源からであれ、多数のより高等な真核生物組織培養細胞株（例えば、昆虫バキュロウイルス発現系）が機能できる。しかしながら哺乳動物細胞が好ましい。このような細胞の形質転換またはトランスフェクションおよび増殖は、慣用的な手順になった。有用な細胞株の例としては、HeLa細胞、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞株、新生仔ラット腎臓（BRK）細胞株、昆虫細胞株、トリ細胞株およびサル（COS）細胞株が挙げられる。このような細胞株のための発現ベクターは、通常は、複製起点、プロモーター、翻訳開始部位、RNAスプライス部位（ゲノムDNAが用いられる場合）、ポリアダニル化部位および転写終結部位を包含する。これらのベクターはまた、通常は、選択遺伝子または増幅遺伝子も含有する。適切な発現ベクターは、例えばアデノウイルス、SV40、パルボウイルス、ワクシニアウイルスまたはサイトメガロウイルスのような供給源から誘導されるプロモーターを保有するプラスミド、ウイルスまたはレトロウイルスであり得る。適切な発現ベクターの代表例としては、pCDNA1；pCD（Okayamaら（1985）*Mol. Cell Biol.* 5: 1136-1142を参照のこと）、pMC1neoポリA（Thomasら（1987）*Cell* 51: 503-512を参照のこと）およびバキュロウイルスベクター（例えば、pAC373またはpAC610）が挙げられる。

30

40

【0099】

分泌タンパク質に関しては、オープンリーディングフレームは、通常、そのN末端でシグナルペプチドと共有結合的に結合される成熟生成物または分泌生成物からなるポリペプチ

50

ドをコードする。シグナルペプチドは、成熟ポリペプチドまたは活性ポリペプチドの分泌前に切断される。切断部位は、経験則（例えば、von Heijne (1986) *Nucleic Acids Research* 14:4683-4690 および Nielsen (1997) *Protein Eng.* 10:1-12）から高い精度で予測され得、そして、シグナルペプチドの正確なアミノ酸組成は、しばしばその機能に重要であるとは思われない。例えば、Randall (1989) *Science* 243:1156-1159; Kaiser (1987) *Science* 235:312-317。

【0100】

特定のまたは規定されたグリコシル化パターンを提供する系においてこれらのポリペプチドを発現することは、しばしば望ましい。この場合、通常のパターンは、発現系によって天然に提供されるものである。しかしながら、このパターンは、異種発現系に導入される適切なグリコシル化タンパク質に、例えば非グリコシル化形態のポリペプチドを曝露することにより改変可能である。例えば、この遺伝子は、哺乳動物または他のグリコシル化酵素をコードする1つ以上の遺伝子を用いて同時形質転換され得る。このアプローチを用いて、ある種の哺乳動物グリコシル化パターンは、原核生物細胞または他の細胞において達成可能である。

10

【0101】

タンパク質の供給源は、例えば上記のような組換え遺伝子を発現する真核生物宿主または原核生物の宿主であり得る。供給源は、マウス Swiss 3T3 線維芽細胞のような細胞株でもあり得るが、他の哺乳動物細胞株も本発明により意図され、好ましい細胞株はヒト種由来である。

20

【0102】

配列が既知であるので、霊長類タンパク質、そのフラグメントまたは誘導体は、ペプチドを合成するための慣用的プロセスにより調製され得る。これらは、Stewart および Young (1984) *Solid Phase Peptide Synthesis*、Pierce Chemical Co.、Rockford, IL; Bodanszky および Bodanszky (1984) *The Practice of Peptide Synthesis*、Springer-Verlag、New York; ならびに Bodanszky (1984) *The Principles of Peptide Synthesis*、Springer-Verlag、New York (これらの各々は全て、参考として本明細書中に援用される)に記載されているようなプロセスを包含する。例えば、アジドプロセス、酸塩化物プロセス、酸無水物プロセス、混合無水物プロセス、活性エステルプロセス（例えば、p-ニトロフェニルエステル、N-ヒドロキシスクシンイミドエステルまたはシアノメチルエステル）、カルボジイミダゾールプロセス、酸化還元プロセスまたはジシクロヘキシルカルボジイミド (DCCD) / 付加プロセスが用いられ得る。固相および溶液相合成は両方とも、上記のプロセスに適用可能である。類似の技術は、部分的ポリペプチド配列と共に用いられ得る。

30

【0103】

種々のタンパク質、フラグメントまたは誘導体は、一般的に、配列中に一つずつ、アミノ酸を末端アミノ酸に縮合することを包含するいわゆる段階的プロセスによるか、または末端アミノ酸にペプチドフラグメントをカップリングすることによるかのいずれかでペプチド合成に通常用いられるような上記の方法に従って、適切に調製される。カップリング反応に用いられていないアミノ基は、代表的には、不正確な位置でのカップリングを防止するために保護されねばならない。

40

【0104】

固相合成が採用される場合、C末端アミノ酸は、そのカルボキシル基を介して不溶性キャリアまたは支持体に結合される。不溶性キャリアは、それが反応性カルボキシル基との結合能力を有する限り、特に限定されない。このような不溶性キャリアの例としては、ハロメチル樹脂（例えば、クロロメチル樹脂またはブロモメチル樹脂）、ヒドロキシメチル樹

50

脂、フェノール樹脂、t-アルキルオキシカルボニルヒドラジド化樹脂等が挙げられる。

【0105】

アミノ基保護アミノ酸は、その活性化カルボキシル基と予め形成されたペプチドまたは鎖の反応性アミノ基との縮合により配列に結合されて、段階的にペプチドを合成する。完全配列を合成後、ペプチドは不溶性キャリアから分離 (split off) されて、ペプチドを産生する。この固相アプローチは、Merrifieldら (1963) J. Am. Chem. Soc. 85: 2149 - 2156 (これは、参考として本明細書中に援用される) により一般的に記載されている。

【0106】

調製されたタンパク質およびそのフラグメントは、ペプチド分離の手段 (例えば、抽出、沈降、電気泳動、種々の形態のクロマトグラフィー等) により、反応混合物から単離され得、そして精製され得る。本発明のタンパク質は、所望の用途に依存して、種々の程度の純度で得られ得る。精製は、本明細書中に開示されたタンパク質精製技術 (下記を参照のこと) の使用によるか、または免疫吸着剤アフィニティークロマトグラフィーの方法に記載された本明細書中の抗体の使用により、達成され得る。この免疫吸着剤アフィニティークロマトグラフィーは、まず抗体を固体支持体に連結し、次に連結抗体を適切な細胞の可溶化溶解物、レセプターを発現する他の細胞の溶解物またはDNA技術の結果としてタンパク質を産生する細胞の溶解物または上清と接触させることにより実行される (下記を参照のこと)。

10

【0107】

一般に、精製タンパク質は、少なくとも約40%の純度、普通は少なくとも約50%の純度、通常は少なくとも約60%の純度、代表的には少なくとも約70%の純度、さらに代表的には少なくとも約80%の純度、好ましくは少なくとも約90%の純度、そしてより好ましくは少なくとも約95%の純度であり、そして特定の実施形態では97~99%またはそれ以上の純度である。純度は、通常は重量ベースであるが、モルベースでもあり得る。異なるアッセイが、必要に応じて適用される。

20

【0108】

(VI. 抗体)

抗体は、種々の哺乳動物、例えば霊長類のDIRS4、タンパク質およびそのフラグメントに対して、天然に存在するネイティブ形態で、ならびにそれらの組換え形態で、産生され得るが、その差は、ネイティブコンフォメーションで存在するだけであるエピトープを活性レセプターに対する抗体がより多く認識すると思われる点である。変性抗原検出も、例えばウエスタン分析において有用であり得る。抗イディオタイプ抗体も企図され、これは天然レセプターまたは抗体のアゴニストまたはアンタゴニストとして有用である。

30

【0109】

タンパク質の所定のフラグメントに対する、結合フラグメントおよび単一鎖バージョンを含めた抗体は、フラグメントと免疫原性タンパク質との接合体を用いて動物を免疫感作することにより産生され得る。モノクローナル抗体は、所望の抗体を分泌する細胞から調製される。これらの抗体は、正常タンパク質または欠陥タンパク質との結合に関してスクリーニングされ得るし、またはアゴニストまたはアンタゴニスト活性に関してスクリーニングされ得る。これらのモノクローナル抗体は、通常は少なくとも約1mMの K_D で、より通常は少なくとも約300 μ Mの、典型的には少なくとも約100 μ Mの、より典型的には少なくとも約30 μ Mの、好ましくは少なくとも約10 μ Mの、より好ましくは少なくとも約3 μ Mまたはそれより良好な K_D で結合する。

40

【0110】

本発明の、抗原結合フラグメントを含めた抗体は、有意の診断的または治療的価値を有し得る。それらは、例えばレセプターと結合し、リガンドとの結合を抑制または刺激するか、または生物学的応答を引き出す、例えばその基質上で作用するレセプターの能力を抑制する強力なアゴニストまたはアンタゴニストであり得る。それらは、非中和抗体としても、または検出もしくは診断のためのマーカーとしての使用のためにも有用であり得るし、

50

産生細胞を結合するために毒素または放射性核種と結合され得る。さらにこれらの抗体は、直接またはリンカーにより間接的に、薬剤またはその他の治療剤と結合され得る。

【0111】

本発明の抗体は、診断的用途においても有用であり得る。捕捉抗体または非中和抗体として、それらは、例えばリガンドまたは基質結合を抑制することなく、抗原と結合し得る。中和抗体として、それらは競合結合アッセイにおいて有用であり得る。それらは、抗原を検出または定量するのに有用である。それらは、ウエスタンブロット分析のための試薬、またはそれぞれのタンパク質の免疫沈降または免疫精製のための試薬として用いられ得る。

【0112】

タンパク質フラグメントは、その他の物質、特にポリペプチドと、免疫原として用いられる融合または共有結合ポリペプチドとして連結され得る。哺乳動物サイトカインレセプター、サイトカイン、酵素、マーカータンパク質およびフラグメントは、種々の免疫原、例えばカギアナカサガイヘモシアニン、ウシ血清アルブミン、破傷風毒素等と融合または共有結合され得る (Microbiology, Hoeber Medical Division, Harper and Row, 1969; Landsteiner (1962) Specificity of Serological Reactions, Dover Publications, New York; および Williams, et al. (1967) Methods in Immunology and Immunochemistry, Vol. 1, Academic Press, New York (これらの記載内容は各々、ポリクローナル抗血清の調製方法の説明のために、参考として本明細書中で援用される) を参照のこと)。通常の方法は、抗原による動物の超免疫感作を包含する。動物の血液は次に、反復免疫感作の直後に収集され、ガンマグロブリンが単離される。

【0113】

いくつかの場合には、種々の哺乳動物宿主、例えばマウス、齧歯類、霊長類、ヒト等から、モノクローナル抗体を調製するのが望ましい。このようなモノクローナル抗体を調製するための技法の説明は、例えば Stites, et al. (eds.) Basic and Clinical Immunology (4th ed.), Lange Medical Publications, Los Altos, CA およびそこに引用された参考文献; Harlow and Lane (1988) Antibodies: A Laboratory Manual, CSH Press; Goding (1986) Monoclonal Antibodies: Principles and Practice (2d ed.) Academic Press, New York; および特に Kohler and Milstein (1975) in Nature 256: 495 - 497 (これは、モノクローナル抗体の1つの生成方法を考察する) に見出され得る。簡潔に要約すると、この方法は、免疫原を動物に注射することを包含する。動物は次に屠殺され、その脾臓から細胞が採取されて、これは次に骨髓腫細胞と融合される。結果は、インビトロで増殖可能であるハイブリッド細胞すなわち「ハイブリドーマ」である。ハイブリドーマの集団は次に、個々のクローンを単離するためにスクリーニングされ、その各々は免疫原に対する単一抗体種を分泌する。この方法では、得られた個々の抗体種は、免疫原性物質上で認識された特定部位に応答して生成された免疫動物からの不死化およびクローン化した単一のB細胞の産物である。

【0114】

その他の適切な技法は、抗原性ポリペプチドへの、またはファージまたは類似のベクター中の抗体のライブラリーの選択へのリンパ球のインビトロ曝露を包含する (Huse, et al. (1989) "Generation of a Large Combinatorial Library of the Immunoglobulin Repertoire in Phage Lambda," Science 246: 1275 - 1281; および Ward, et al. (1989) Nature 341: 50

5 4 4 - 5 4 6 参照)。本発明のポリペプチドおよび抗体は、キメラまたはヒト化抗体を含めた修飾を伴ってまたは伴わずに用いられ得る。しばしばポリペプチドおよび抗体は、検出可能なシグナルを提供する物質を共有結合的または非共有結合的に結合することにより標識される。広範な種々の標識および接合技法は既知であり、科学文献および特許文献で広範に報告されている。適切な標識としては、放射性核種、酵素、基質、補因子、阻害剤、蛍光部分、化学発光部分、磁気粒子等が挙げられる。このような標識の使用を教示する特許としては、米国特許第 3, 8 1 7, 8 3 7 号、第 3, 8 5 0, 7 5 2 号、第 3, 9 3 9, 3 5 0 号、第 3, 9 9 6, 3 4 5 号、第 4, 2 7 7, 4 3 7 号、第 4, 2 7 5, 1 4 9 号および第 4, 3 6 6, 2 4 1 号が挙げられる。さらに、組換えまたはキメラ免疫グロブリンが産生され得る (C a b i l l y、米国特許第 4, 8 1 6, 5 6 7 号を参照) か、またはトランスジェニックマウス中で作製され得る (M e n d e z, e t a l. (1 9 9 7) N a t u r e G e n e t i c s 1 5 : 1 4 6 - 1 5 6 参照)。

10

【0115】

本発明の抗体は、タンパク質またはペプチドを単離するに際してアフィニティークロマトグラフィーのためにも用いられ得る。抗体が固体支持体、例えばアガロース、セファデックス (S e p h a d e x) 等のような粒子と連結されるカラムが調製され、細胞溶解物がカラムを通過し、カラムが洗浄され、その後漸増濃度の穏やかな変性剤が通され、それにより精製タンパク質が放出され得る。逆に、免疫選択により抗体を精製するためにタンパク質が用いられ得る。

【0116】

抗体はまた、特定の発現産物に関して発現ライブラリーをスクリーニングするためにも用いられ得る。通常は、このような手法に用いられる抗体は、抗体結合により抗原の存在の容易な検出を可能にする部分で標識される。

20

【0117】

タンパク質に対して産生される抗体はまた、抗イディオタイプ抗体を産生するためにも用いられる。これらは、タンパク質の発現またはタンパク質を発現する細胞に関連した種々の免疫学的状態を検出または診断するのに有用である。それらは、天然リガンドに対して競合的阻害剤または置換基であり得る、リガンドのアゴニストまたはアンタゴニストとしても有用である。

【0118】

上記アミノ酸配列からなる免疫原のような、それに対して生成された抗体と特異的に結合し得るかまたは特異的に免疫反応性である標的タンパク質は、通常はイムノアッセイで確定される。イムノアッセイは、通常は、例えば配列番号 2 のタンパク質に対して産生されたポリクローナル抗血清を用いる。この抗血清は、他のサイトカインレセプターファミリーメンバー、例えば好ましくは同一種からの I F N レセプターサブユニットに対して低交差反応性を有するよう選択され、このような交差反応性は、イムノアッセイに用いる前に免疫吸着により除去される。

30

【0119】

イムノアッセイにおいて用いるための抗血清を産生するために、例えば配列番号 2 のタンパク質が本明細書中に記載されたように単離される。例えば組換えタンパク質は、哺乳動物細胞系中で産生され得る。適切な宿主、例えば B a l b / c のようなマウスの同系株が、通常は標準アジュバント (例えば、フロイントのアジュバント) ならびに標準マウス免疫感作プロトコルを用いて、選択タンパク質で免疫感作される (H a r l o w a n d L a n e (前出) を参照のこと)。または本明細書中に開示され、キャリアタンパク質に結合された配列由来の合成ペプチドは、免疫原として用いられ得る。ポリクローナル血清が収集され、イムノアッセイ、例えば固体支持体上に固定された免疫原を用いる固相イムノアッセイにおいて免疫原タンパク質に対して滴定される。10⁴ またはそれ以上の力価を有するポリクローナル抗血清が選択され、他のサイトカインレセプターファミリーメンバー、例えば図 1 に整列されたレセプターに対するそれらの交差反応性に関して、競合結合イムノアッセイ、例えば H a r l o w a n d L a n e (前出、p. 5 7 0 - 5 7

40

50

3) に記載されたイムノアッセイを用いて試験される。好ましくは少なくとも2つのサイトカインレセプターファミリーメンバーが、この確定に用いられる。これらのサイトカインレセプターファミリーメンバーは組換えタンパク質として産生され、本明細書中に記載されたような標準分子生物学およびタンパク質化学技法を用いて単離される。

【0120】

競合結合フォーマットでのイムノアッセイは、交差反応性確定のために用いられ得る。例えば配列番号2のタンパク質は、固体支持体に固定され得る。アッセイに添加されるタンパク質は、固定抗原との抗血清の結合と競合する。固定タンパク質との抗血清の結合と競合する上記タンパク質の能力は、選定された他のレセプターサブユニットと比較される。上記タンパク質に関する交差反応率(%)は、標準算定法を用いて算定される。上記タンパク質の各々との交差反応率が10%未満である抗血清が選択され、プールされる。交差反応抗体は次に、上記タンパク質による免疫吸着によりプール抗血清から除去される。

10

【0121】

免疫吸着およびプールした抗血清は次に、二次タンパク質を免疫原タンパク質と比較するために上記のような競合結合イムノアッセイに用いられる。この比較を行うために、2つのタンパク質が広範な濃度で各々アッセイされ、固定タンパク質との抗血清の結合の50%を阻害するのに必要な各タンパク質の量が確定される。必要とされる二次タンパク質の量が、必要とされる単数または複数の選定タンパク質の量の2倍未満である場合には、二次タンパク質は、免疫原に対して生成された抗体と特異的に結合するといわれる。

【0122】

これらのタンパク質は、相同タンパク質のファミリーのメンバーであることが理解される。特定の遺伝子産物、例えばDIRS4に関しては、本用語は、本明細書中に開示されたアミノ酸配列だけでなく、対立遺伝子、非対立遺伝子または種変異体であるその他のタンパク質も指す。本用語は、慣用的組換え技法を用いた計画的突然変異により、例えば単一部位突然変異により、またはそれぞれのタンパク質をコードするDNAの短いセクションを切り出すことにより、または新規アミノ酸を置換するかまたは新規のアミノ酸を付加することにより導入される非天然に存在する突然変異を包含することも理解される。このような小変化は、通常は元の分子の免疫同一性および/またはその生物学的活性を実質的に保持する。したがってこれらの変化は、示された天然DIRS4タンパク質と特異的に免疫反応性であるタンパク質を包含する。変更タンパク質の生物学的特性は、適切な細胞系中でタンパク質を発現することおよび例えばトランスフェクト化リンパ球に及ぼす適切な作用を測定することによって確定され得る。軽微と考えられる特定のタンパク質修飾としては、全体としてサイトカインレセプターファミリーに関して上述したような類似の化学特性を有するアミノ酸の保存的置換が挙げられる。あるタンパク質とサイトカインレセプターのタンパク質とを最適にアライメントすることおよび免疫同一性を確定するために本明細書中に記載されるような慣用的イムノアッセイを用いることによって本発明のタンパク質組成を確定し得る。

20

30

【0123】

(VII. キットおよび定量)

天然および組換え形態の本発明の分子の両方は、キットおよびアッセイ方法において特に有用である。例えばこれらの方法は、結合活性に関して、例えば、これらのタンパク質に対するリガンドまたはレセプターに関してスクリーニングするために適用され得る。毎年、数何万個もの化合物のスクリーニングを可能にするために、自動アッセイのいくつかの方法が近年開発された(例えばBIOMEK自動ワークステーション、Beckman Instruments, Palo Alto, CaliforniaおよびFodor, et al. (1991) Science 251: 767-773参照(これらの記載内容は、参照により本明細書中に援用される))。後者は、固体支持体上に合成された複数の規定ポリマーにより結合を試験するための手段を記載する。リガンドまたはアゴニスト/アンタゴニスト相同タンパク質に関してスクリーニングするための適切なアッセイの開発は、本発明により提供されるような活性状態での多量の精製可溶性サイトカインレ

40

50

セプターの利用可能性により大いに促され得る。または多量のリガンドの産生は、レセプターに関するスクリーニングに有用である。マーカーは、特異的試薬を生成するためにも大量に利用可能である。

【0124】

精製タンパク質、例えばDIRS4は、プレート上に直接被覆されるか、さもなければ、リガンドまたは抗体スクリーニング技法における使用のために提示される。しかし、これらのタンパク質に対する非中和抗体は、例えば診断的使用に有用な固相上にそれぞれのレセプターを固定するために捕捉抗体として用いられ得る。

【0125】

本発明は、タンパク質またはそのリガンドの存在を検出するための種々の診断用キットおよび方法における、例えばDIRS4、そのフラグメント、ペプチドおよびそれらの融合産物の使用も企図する。代替的にまたはさらに、その分子に対する抗体が、キットおよび方法に組み込まれ得る。通常は、キットは、1つまたは他のものを認識するペプチドまたは遺伝子セグメントまたは試薬を含有するコンパートメントを有する。通常は、認識試薬は、ペプチドの場合、レセプターまたは抗体であり、または遺伝子セグメントの場合には、通常はハイブリダイゼーションプローブである。診断的用途は、上記のようにマーカーに関して有用である。

【0126】

試料中の例えばDIRS4の濃度を確定するための好ましいキットは、通常は、DIRS4に対する既知の結合親和性を有する標識化合物、例えばリガンドまたは抗体、陽性対照としての（天然または組換えの）DIRS4の供給源、ならびに遊離標識化合物から結合物、例えば試験試料中のDIRS4を固定するための固相を分離するための手段を含む。試薬および指示書を含有するコンパートメントが普通は提供される。

【0127】

哺乳動物クロードイン(claud in)またはシュラーフェン(schla fen)またはペプチドフラグメントまたはレセプターフラグメントに対して特異的な抗体(抗原結合フラグメントを含む)は、高レベルのタンパク質および/またはそのフラグメントの存在を検出するための診断的用途に有用である。診断アッセイは、均一(遊離試薬と抗体-抗原複合体との間の分離工程を伴わない)または不均一(分離工程を伴う)であり得る。種々の市販アッセイ、例えばラジオイムノアッセイ(RIA)、酵素結合イムノソルベントアッセイ法(ELISA)、酵素イムノアッセイ(EIA)、酵素増幅イムノアッセイ技法(EMIT)、基質標識蛍光イムノアッセイ(SLFIA)等が存在する。例えば非標識抗体は、標識されサイトカインレセプターに対するかまたはその特定のフラグメントに対する抗体を認識する二次抗体を使用することにより使用され得る。これらのアッセイは、文献中でも広範に考察されてきている(例えばHarlow and Lane(1988)Antibodies: A Laboratory Manual, CSH、およびColigan(ed. 1991 and periodic supplement)Current Protocols In Immunology Greene/Wiley, New York参照)。

【0128】

抗イディオタイプ抗体は同様の用途を有して、サイトカインレセプターまたはリガンドのアゴニストまたはアンタゴニストとして機能し得る。これらは、適切な環境下で治療試薬として有用である。

【0129】

しばしば、診断アッセイのための試薬は、アッセイ感度を最適にするためにキット中に供給される。本発明に関しては、アッセイの性質、プロトコールおよび標識によって、標識抗体もしくは非標識抗体または標識リガンドが提供される。これは通常は、その他の添加剤、例えば緩衝剤、安定剤、シグナル生成に必要な物質、例えば酵素のための基質等と併用される。好ましくはキットは、適正な使用および使用後の内容物の処分のための指示書も含有する。通常は、キットは各々有用な試薬のためのコンパートメントを有し、試薬の

10

20

30

40

50

適正な使用および処理のための指示書を含む。望ましくは、試薬は凍結乾燥粉末として提供されるが、この場合、この試薬は、アッセイを実施するための適切な濃度を有する水性媒質中で再構成され得る。

【0130】

診断アッセイの上記の構成成分は修飾を伴わずに用いられ得るか、または種々の方法で修飾され得る。例えば標識化は、検出可能シグナルを直接または間接的に提供する部分を共有結合的または非共有結合的に結合することにより達成され得る。これらのアッセイの多くにおいて、試験化合物、サイトカインレセプター、リガンドまたはそれに対する抗体は、直接または間接的に標識され得る。直接ラベリングの可能性は、標識基：放射性標識、例えば¹²⁵I、酵素（米国特許第3,645,090号）、例えばペルオキシダーゼおよびアルカリ性ホスファターゼ、ならびに蛍光強度、波長シフトまたは蛍光局在化の変化をモニタリングし得る蛍光標識（米国特許第3,940,475号）を包含する。両特許は、参考として本明細書中で援用される。間接的な標識化の可能性は、一構成成分のビオチン化（biotinylation）とその後の上記の標識基のうちの1つと結合されるアビジンとの結合を包含する。

10

【0131】

遊離リガンドからの結合物のまたは遊離試験化合物からの結合物の分離の多数の方法もまた存在する。サイトカインレセプターは、種々のマトリックス上に固定され、その後、洗浄され得る。適切なマトリックスとしては、プラスチック、例えばELISAプレート、フィルターおよびビーズが挙げられる。マトリックスへのレセプターの固定方法としては、プラスチックの直接接着、捕捉抗体の使用、化学カップリング、ならびにビオチン-アビジンが挙げられるが、これらに限定されない。このアプローチの最終工程は、例えば有機溶媒（例えば、ポリエチレングリコール）または塩（例えば、硫酸アンモニウム）を利用するものを含むいくつかの方法のいずれかによる抗体/抗原複合体の沈降を包含する。その他の適切な分離技法としては、Rattle, et al. (1984) Clin. Chem. 30(9): 1457-1461に記載されたフルオレセイン抗体磁化性粒子法、ならびに米国特許第4,659,678号に記載されたような二重抗体磁気粒子分離が挙げられる（これらの記載内容は、参照として本明細書中で援用される）が、これらに限定されない。

20

【0132】

種々の標識へのタンパク質またはフラグメントの連結方法は、文献中に十分に報告されている。多数の技法が、ペプチド結合を形成するためのカルボジイミドまたは活性エステルの使用による活性化カルボキシル基の使用、結合のためのクロロアセチルのような活性化ハロゲン、またはマレイミドのような活性化オレフィンとのメルカプト基の反応によるチオエーテルの生成等を包含する。融合タンパク質は、これらの用途においても使用を見出す。

30

【0133】

本発明の別の診断的局面は、提供された配列から採取されたオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチド配列の使用を包含する。これらの配列は、免疫学的またはその他の医学的障害を有することが疑われる患者におけるそれぞれの遺伝子または転写物のレベルを検出するためのプローブとして用いられ得る。RNAおよびDNAヌクレオチド配列の両方の調製、配列のラベリング、ならびに配列の好ましいサイズは、文献中にて十分な説明および考察を受けた。普通は、オリゴヌクレオチドプローブは、少なくとも約14ヌクレオチド、通常は少なくとも18ヌクレオチドを有するべきであり、ポリヌクレオチドプローブは数千ベースまでであり得る。種々の標識が用いられ、もっとも一般的には放射性核種、特に³²Pである。しかしながらその他の技法、例えばポリヌクレオチド中への導入のためのビオチン修飾ヌクレオチドの使用も用いられ得る。ビオチンはその場合、広範な種々の標識、例えば放射性核種、蛍光剤、酵素等で標識され得るアビジンまたは抗体との結合のための部位として機能する。あるいは、特定の二重鎖、例えばDNA二重鎖、RNA二重鎖、DNA-RNAハイブリッド二重鎖、またはDNA-タンパク質二重鎖を認識し

40

50

得る抗体が用いられ得る。これらの抗体が次に標識され、アッセイが実行されるが、この場合、表面での二重鎖の生成時に、二重鎖に結合される抗体の存在が検出され得るよう、二重鎖は表面に結合される。新規のアンチセンスRNAに対するプローブの使用は、慣用的技法で、例えば核酸ハイブリダイゼーション、プラスマイナスクリーニング、組換えプロービング、ハイブリッド放出翻訳法(HRT)ならびにハイブリッド阻害翻訳法(HART)で実行され得る。これは、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)のような増幅技法も包含する。

【0134】

その他のマーカーの定性的または定量的存在に関して試験する診断キットも企図される。診断または予後は、マーカーとして用いられる多数の指標の組合せに依存する。したがってキットは、マーカーの組合せに関して試験し得る(例えばViallet, et al. (1989) Progress in Growth Factor Res. 1: 89-97 参照)。

【0135】

(VII. 治療的効用)

本発明は、有意の治療価値を有する試薬を提供する(例えばLevitzki (1996) Curr. Opin. Cell Biol. 8: 239-244 を参照のこと)。サイトカインレセプター(天然または組換え)、そのフラグメント、突然変異タンパク質レセプターおよび抗体は、レセプターまたは抗体に対する結合親和性を有すると同定された化合物とともに、それらのリガンドのレセプターの異常発現を示す症状の治療に有用であるはずである。このような異常は、通常は免疫学的な障害またはその他の障害により明示される。さらに本発明は、リガンドに対する応答の異常発現または異常トリガリングに関連した種々の疾患または障害において治療的価値を提供するであろう。インターフェロン、IL-10、TNFおよびTGFの生物学は、十分に説明されている。逆に、TLRも非常に興味深い対象であり、本明細書中に記載された上記相同体も同様に興味深いものである。クローディンおよびシュラーフェンに関する有意の医学的症状との関連は、以下で説明される。

【0136】

組換えタンパク質、突然変異タンパク質、それに対するアゴニストまたはアンタゴニスト抗体、または抗体が精製され、次に患者に投与される。これらの試薬は、治療的使用のために、例えば慣用的薬学的に許容可能なキャリアまたは希釈剤中で、生理学的無害性安定剤および賦形剤とともに、付加的有効成分と組合せられ得る。これらの組合せは、滅菌性であり、例えば濾過されて、投薬バイアル中での凍結乾燥または安定化水性製剤中での貯蔵によるように、投薬形態中に投入され得る。本発明は、抗体の使用または補体結合でないそのフラグメントの結合も企図する。

【0137】

レセプターまたはそのフラグメントを用いるリガンドスクリーニングは、レセプターに対する結合親和性を有する分子を同定するために実施され得る。その後の生物学的アッセイは次に、推定リガンドが、内因性刺激活性を遮断し得る競合的結合を提供し得るか否かを確定するために利用され得る。レセプターフラグメントは、それがリガンドの活性を遮断するという点で、遮断剤またはアンタゴニストとして用いられ得る。同様に、内因性刺激活性を有する化合物はレセプターを活性化し、したがってそれがリガンドの活性を刺激する、例えばシグナル伝達を誘導するという点で、アゴニストである。本発明はさらに、アンタゴニストとしてのサイトカインレセプターに対する抗体の治療的使用を企図する。

【0138】

逆に、リガンドに対するレセプターに関するレセプタースクリーニングが実施され得る。しかしながらリガンドは、通常はリガンドの可溶性の性質のために簡単である生物学的アッセイを用いて、機能に関してもスクリーニングされ得る。

【0139】

有効な治療に必要な試薬の量は、多数の異なる因子、例えば投与手段、標的部位、試薬生

理学的寿命、薬理学的寿命、患者の生理学的状態、ならびに投与されるその他の薬剤に依存する。したがって、治療投薬量は、安全性および効力を最適化するように滴定されるべきである。通常は、インビトロで用いられる投薬量は、これらの試薬の原位置での投与のために有用な量での有用な指針を提供し得る。特定の障害の治療のための有効用量についての動物試験は、ヒト投薬量のさらなる予測指標を提供する。種々の考察が、例えば Gilman, et al. (eds. 1990) Goodman and Gilman's: The Pharmacological Bases of Therapeutics, 8th Ed., Pergamon Press; および Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed. (1990), Mack Publishing Co., Easton, Penn. (これらの記載内容は各々、参照として本明細書中で援用される) に記載されている。投与方法は、例えば、経口、静脈内、腹腔内または筋肉内投与、経皮拡散等に関して、以下に考察される。薬学的に許容可能なキャリアとしては、水、生理食塩水、緩衝液、ならびに例えば Merck Index, Merck & Co., Rahway, New Jersey に記載されたその他の化合物が挙げられる。投薬量範囲は、普通は、適切なキャリアを用いて、1 mM より低い濃度、通常は約 10 μ M 未満の濃度、通常は約 100 nM 未満、好ましくは約 10 pM (ピコモル) 未満、もっとも好ましくは約 1 fM (フェムトモル) 未満の量であると予測される。徐放性処方物または徐放性装置はしばしば、連続投与のために利用される。

10

20

【0140】

サイトカイン、レセプター、そのフラグメントならびに抗体またはそのフラグメント、アンタゴニストおよびアゴニストは、治療される宿主に直接投与され得るし、または化合物のサイズによって、それらの投与前に、卵白アルブミンまたは血清アルブミンのようなキャリアタンパク質にそれらを結合するのが望ましいこともある。治療処方物は、多数の慣用的投薬処方物中で投与され得る。有効成分が単独で投与されることは可能だが、薬学的処方物として有効成分を提示するのが好ましい。処方物は、上記のような少なくとも1つの有効成分を、1つまたはそれ以上のその許容可能なキャリアと一緒に含む。各キャリアは、他の成分と適合性であり、患者に有害でないという意味で、薬学的におよび生理学的両面で許容可能でなければならない。処方物は、経口、直腸、鼻または非経口的(例えば皮下、筋肉内、静脈内および皮内)投与に適したものを包含する。処方物は、単位投薬形態で提示されるのが便利であり、薬学分野で既知の方法により調製され得る(例えば Gilman, et al. (eds. 1990) Goodman & Gilman's: The Pharmacological Bases of Therapeutics, 8th Ed., Pergamon Press; および Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed. (1990), Mack Publishing Co., Easton, Penn.; Avis, et al. (eds. 1993) Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications Dekker, NY; Lieberman, et al. (eds. 1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets Dekker, NY; および Lieberman, et al. (eds. 1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems Dekker, NY 参照)。本発明の療

30

40

【0141】

(IX. スクリーニング)

DIRS 4、TLR-L レセプターまたはそれらのフラグメントを用いる薬剤スクリーニングは、関連構成成分の単離を含めて、レセプターサブユニットに対する結合親和性を有する化合物を同定するために実施され得る(例えば Emory and Schlegel (1996) Cost-Effective Strategies for Aut

50

omated and Accelerated High-Throughput Screening IBC, Inc., Southborough, MA 参照)。その後の生物学的アッセイは次に、化合物が内因性刺激活性を有するか否かを決定するために利用することができ、したがって、それがリガンドの活性を遮断する点において、遮断剤またはアンタゴニストである。同様に、内因性刺激活性を有する化合物はレセプターを活性化し、したがってそれがサイトカインリガンドの活性を刺激する点において、アゴニストである。本発明はさらに、サイトカインアゴニストまたはアンタゴニストとしてのレセプターに対する抗体の治療的使用を意図する。

【0142】

逆にリガンドに関しては、レセプターがスクリーニングされ得る。既知のまたは新規の対 10
合におけるオーファンレセプターサブユニットまたは既知のレセプターサブユニットの試験が実施され得る。

【0143】

薬剤スクリーニングの一方法は、DIRS4またはTLR-Lレセプターを発現する組換えDNA分子で安定的に形質転換される真核生物宿主細胞または原核生物宿主細胞を利用する。他の機能性レセプターからの単離において、またはその他の特異的サブユニットと組合せて、レセプターを発現する細胞が単離され得る。このような細胞は、生存可能または固定形態で、標準リガンド/レセプター結合アッセイのために用いられ得る (Parce, et al. (1989) Science 246: 243-247; および Owicki, et al. (1990) Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 20
87: 4007-4011 (細胞応答を検出するための感受性方法を記載) も参照)。¹
²⁻⁵ I-抗体のようなリガンドに対する既知の結合親和性を有する標識レセプターまたは抗体を用いて細胞 (推定リガンドの供給源) が接触され、インキュベートされる競合アッセイが特に有用であり、結合組成物に対する試験試料の結合親和性が測定される。結合および遊離標識結合組成物は次に、リガンド結合の程度を査定するために分離される。結合された試験化合物の量は、既知の供給源と結合する標識レセプターの量と反比例する。多数の技法のいずれかをを用いて、遊離リガンドから結合物を分離して、リガンド結合の程度を査定し得る。この分離工程は、通常は、フィルターとの接着とその後の洗浄、プラスチックとの接着とその後の洗浄、または細胞膜の遠心分離のような手法を包含し得る。生存可能細胞は、サイトカイン媒介性機能、例えば二次メッセンジャーレベル、すなわちCa⁺⁺に及ぼす薬剤の作用; 細胞増殖; イノシトールホスフェートプール変化等に関してスクリーニングするためにも用いられ得る。いくつかの検出方法は、分離工程、例えば近接感受性検出系の排除を可能にする。カルシウム感受性染料は、蛍光光度計または蛍光細胞分類装置とともに、Ca⁺⁺レベルを検出するために有用である。 30

【0144】

(X. リガンド)

本明細書中のDIRS4およびTLR-Lレセプターの説明は、上記のようなリガンドを同定するための手段を提供する。このようなリガンドは、適度に高い親和性を有するそれぞれのレセプターと特異的に結合するはずである。そのリガンドを検出するために一方のレセプターのラベリングを可能にする種々の構築物が利用可能にされる。例えばサイトカインレセプターの直接的ラベリング、二次ラベリングのためのそのマーカー上への融合、例えばFLAGまたはその他のエピトプタグ等は、レセプターの検出を可能にする。これは、生化学的精製のためのアフィニティー法と同様に組織学的であり、または発現クローニングアプローチにおけるラベリングまたは選択であり得る。2ハイブリッド選択系も適用可能であり、利用可能なサイトカインレセプター配列を有する適切な構築物を作製する (例えば Fields and Song (1989) Nature 340: 245-246 参照)。 40

【0145】

一般に、サイトカインレセプターの説明は、DIRS4またはTLR-L試薬および組成物に関する個々の特定の実施形態に同様に適用可能である。逆に、可溶性リガンド (例え 50

ばTNFおよびTGF)は、生物学的活性に関して特性化される。

【0146】

本発明の広範囲は、以下の実施例を参照しながら最良に理解されるが、これらの実施例は、本発明を特定の実施形態に限定されるように意図されない。

【0147】

(実施例)

(I. 一般的方法)

標準方法のいくつかは、例えばManiatis, et al. (1982) Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Press; Sambrook et al. (1989) Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2d ed.) vols. 1-3, CSH Press, NY; Ausubel, et al., Biology, Greene Publishing Associates, Brooklyn, NY; またはAusubel, et al. (1987および補遺) Current Protocols in Molecular Biology, Greene/Wiley, New Yorkに記載または言及されている。タンパク質精製のための方法としては、硫酸アンモニウム沈降、カラムクロマトグラフィー、電気泳動、遠心分離、結晶化等のような方法が挙げられる(例えばAusubel, et al. (1987および定期補遺); Coligan et al. (ed. 1996および定期補遺) Current Protocols In Protein Science Greene/Wiley, New York; Deutscher (1990) "Guide to Protein Purification" in Methods in Enzymology, vol. 182およびこのシリーズの他の巻; ならびにタンパク質精製産物の使用に関するメーカーの文献、例えばPharmacia, Piscataway, N.J. またはBio-Rad, Richmond, CA参照)。組換え技法との組合せは、適切なセグメント、例えばFLAG配列またはプロテアーゼ除去可能配列を介して融合され得る等価物との融合を可能にする(例えばHochuli (1989) Chemische Industrie 12: 69-70; Hochuli (1990) "Purification of Recombinant Proteins with Metal Chelate Absorbent" in Setlow (ed.) Genetic Engineering, Principle and Methods 12: 87-98, Plenum Press, N.Y.; およびCrowe, et al. (1992) QIAexpress: The High Level Expression & Protein Purification System QUIAGEN, Inc., Chatsworth, CA参照)。

【0148】

コンピューター配列分析は、例えば利用可能なソフトウェアプログラム(例えばGCG (U. Wisconsin) およびGenBank供給元からのものを含む)を用いて実施される。公的配列データベースも、例えばGenBank等から用いられた。

【0149】

IL-10またはIL-12レセプターに適用可能な多数の技法は、例えばUS 5,800,683 (IL-10レセプター)(この記載内容は、参照により本明細書中に援用される)に記載されたようなDIRS 4またはその他のレセプターサブユニットに適用可能であり得る。

【0150】

(II. 組合せ分析)

ヒト配列は、例えばBLASTサーバーを用いて、ゲノム配列データベースから同定した(Altschul, et al. (1994) Nature Genet. 6: 119-129)。標準分析プログラムを用いて、構造、例えばPHD (Rost and S

ander (1994) Proteins 19:55-72) および DSC (King and Sternberg (1996) Protein Sci. 5:2298-2310) を評価し得る。標準比較ソフトウェアとしては、例えば Altschul, et al. (1990) J. Mol. Biol. 215:403-10; Waterman (1995) Introduction to Computational Biology: Maps, Sequences, and Genomes Chapman & Hall; Lander and Waterman (eds. 1995) Calculating the Secrets of Life: Applications of the Mathematical Sciences in Molecular Biology National Academy Press; および Speed and Waterman (eds. 1996) Genetic Mapping and DNA Sequencing (Ima Volumes in Mathematics and Its Applications, Vol 81) Springer Verlag が挙げられる。 10

【0151】

(III. 完全長 cDNA のクローニング; 染色体局在化)

配列から得られる PCR プライマーを用いて、ヒト cDNA ライブラリーをプローブする。霊長類、齧歯類またはその他の種の DIRS4 に関する完全長 cDNA を、例えば g t10 ファージの DNA ハイブリダイゼーションスクリーニングによりクローン化する。適切な条件下で T. aquaticus Taqplus DNA ポリメラーゼ (Stratagene) を用いて、PCR 反応を実行する。 20

【0152】

染色体スプレッドを調製する。72時間培養されたフィットヘマグルチニン刺激ヒトリンパ球から得た染色体調製物で、*in situ* ハイブリダイゼーションを実施する。5-ブromoデオキシウリジンを培養 (60g/培地1ml) の最後の7時間添加し、良質のハイブリダイゼーション後染色体分染を保証した。

【0153】

プライマーの助けを借りて増幅された PCR フラグメントを、適切なベクター中でクローン化する。ベクターを、³H を用いたニック-トランスレーションにより標識する。放射能標識プローブを、Mattei, et al. (1985) Hum. Genet. 69:327-331 に記載されたように、200ng/ハイブリダイゼーション溶液1ml の最終濃度で、中期スプレッドとハイブリダイズさせる。 30

【0154】

核トラックエマルジョン (KODAK NTB₂) で被覆後、スライドを曝露する。バンド形成手法中の銀粒子のあらゆる滑りを回避するために、染色体スプレッドをまず緩衝化ギムザ溶液で染色し、中期写真撮影する。次に、フルオロクロム-光分解-ギムザ (FPG) 法により R-バンド形成を実施し、分析前に中期再写真撮影する。または、マッピングした配列タグをデータベース中で検索し得る。

【0155】

同様の適切な方法を、他の種に関して用い得る。 40

【0156】

(IV. mRNA の局在化)

約 2 μg のポリ (A)⁺ RNA / レーンを含有するヒト多組織 (カタログ番号 1、2) および癌細胞系プロット (カタログ番号 7757-1) を、Clontech (Palo Alto, CA) から購入する。例えば Amersham Rediprime のランダムプライマーラベリングキット (RPN1633) を用いて、[³²P] dATP でプローブを放射能標識する。プレハイブリダイゼーションおよびハイブリダイゼーションを、0.5M の Na₂HPO₄、7% SDS、0.5M の EDTA (pH 8.0) 中で 65 °C で実施する。高ストリンジェンシー洗浄を、例えば 2x SSC、0.1% SDS で 40 分間、最初に 2 回、65 °C で実行し、その後、続いて 0.1x SSC、0.1% SDS 50

中で20分間洗浄する。次に膜を、増感紙の存在下で、-70℃でX線フィルム(Kodak)に露呈する。選定ヒトDIRS4クローンを用いてcDNAライブラリーサザンによるより詳細な研究を実施し、造血またはその他の細胞サブセット中でのそれらの発現を調べる。

【0157】

または、例えば表から、2つの適切なプライマーを選択する。cDNAを生成するためのメッセージの存在に関して選択された適切なmRNA試料、例えば遺伝子を発現する試料で、RT-PCRを用いる。

【0158】

PCRシグナルにより予備選定された適切な組織からのcDNAライブラリーのハイブリダイゼーションにより、完全長クローンを単離し得る。ノーザンプロットが実施され得る。

【0159】

適切な技法(例えばPCR、イムノアッセイ、ハイブリダイゼーションまたは別の方法)により、各遺伝子をコードする遺伝子に関するメッセージをアッセイする。組織および器官cDNA調製物は、例えばClontech, Mountain View, CAから入手可能である。天然発現の供給源の同定は、上記のように有用である。また、機能的レセプターサブユニット対合の同定は、サイトカインリガンドの各々に対する生理学的応答性を生じるレセプターサブユニットの組合せをどの細胞が発現するかの予測を可能にする。

【0160】

マウス分布に関して、例えばサザン分析を実施し得る：一次増幅cDNAライブラリーからのDNA(5μg)を適切な制限酵素で消化して、挿入物を放出し、1%アガロースゲル上を流して、ナイロン膜に転写した(Schleicher and Schuell, Keene, NH)。

【0161】

マウスmRNA単離のための試料を以下に挙げる：休止マウス線維芽細胞L細胞系(C200)；Braf：ER(エストロゲンレセプターとのBraf融合)トランスフェクト細胞、対照(C201)；T細胞、TH1分極(Mel14輝線(bright)、脾臓からのCD4+細胞、IFN-αおよび抗IL-4で7日間分極；T200)；T細胞、TH2分極(Mel14輝線、脾臓からのCD4+細胞、IL-4および抗IFN-αで7日間分極；T201)；T細胞、高度TH1分極(Openshaw, et al. (1995) J. Exp. Med. 182:1357-1367参照)；抗体CD3で活性化、2、6、16時間プール；T202)；T細胞、高度TH2分極(Openshaw, et al. (1995) J. Exp. Med. 182:1357-1367参照)；抗体CD3で活性化、2、6、16時間プール；T203)；CD44-CD25+プレT細胞、胸腺から分類(T204)；TH1 T細胞クローンD1.1、抗原による最終刺激後3週間休止(T205)；TH1 T細胞クローンD1.1、10μg/ml ConA、15時間刺激(T206)；TH2 T細胞クローンCDC35、抗原による最終刺激後3週間休止(T207)；TH2 T細胞クローンCDC35、10μg/ml ConA、15時間刺激(T208)；Mel14+脾臓からのネイティブT細胞、休止(T209)；Mel14+T細胞、IFN-α/IL-12/抗-IL-4を用いてTh1に分極、6、12、24時間プール(T210)；Mel14+T細胞、IL-4/抗IFN-αを用いてTh2に分極、6、13、24時間プール(T211)；非刺激成熟B細胞白血病細胞系A20(B200)；非刺激B細胞系CH12(B201)；脾臓からの非刺激大型B細胞(B202)；全脾臓からのB細胞、LPS活性化(B203)；脾臓からのメトリザミド濃化樹状細胞、休止(D200)；骨髄からの樹状細胞、休止(D201)；LPSで4時間活性化された単球細胞系RAW264.7(M200)；GMおよびM-CSFを用いて得られる骨髄マクロファージ(M201)；マクロファージ細胞系J774、休止(M202)；マクロファージ細胞系J774+LPS+抗

- I L - 10、0.5、1、3、6、12時間プール (M203) ; マクロファージ細胞系 J774 + LPS + I L - 10、0.5、1、3、5、12時間プール (M204) ; エーロゾル負荷マウス肺組織、Th2プライマー、エーロゾルOVA負荷、7、14、23時間プール (Garlisi, et al. (1995) Clinical Immunology and Immunopathology 75:75-83 参照; X206) ; 線虫 (Nippostrongylus) 感染肺組織 (Coffman, et al. (1989) Science 245:308-310 参照; X200) ; 全成人肺、正常 (O200) ; 全肺、rag-1 (Schwarz, et al. (1993) Immunodeficiency 4:249-252 参照; O205) ; I L - 10 K.O. 脾臓 (Kuhn, et al. (1991) Cell 75:263-274 参照; X201) ; 全成人脾臓、正常 (O201) ; 全脾臓、rag-1 (O207) ; I L - 10 K.O. パイアー斑 (O202) ; 全パイアー斑、正常 (O210) ; I L - 10 K.O. 腸間膜リンパ節 (X203) ; 全腸間膜リンパ節、正常 (O211) ; I L - 10 K.O. 結腸 (X203) ; 全結腸、正常 (O212) ; NODマウスすい臓 (Makino, et al. (1980) Jikken Dobutsu 29:1-13 参照; X205) ; 全胸腺、rag-1 (O208) ; 全腎臓、rag-1 (O209) ; 全心臓、rag-1 (O202) ; 全脳、rag-1 (O203) ; 全精巣、rag-1 (O204) ; 全肝臓、rag-1 (O206) ; ラット正常関節組織 (O300) ; ならびにラット関節炎関節組織 (X300)。

10

20

【0162】

ヒトmRNA単離のための試料を以下に挙げる：末梢血単核球細胞 (単球、T細胞、NK細胞、顆粒球、B細胞)、休止 (T100) ; 末梢血単核球細胞、抗CD3で活性化、2、6、12時間プール (T100) ; T細胞、TH0クローン Mot72、休止 (T102) ; T細胞、TH0クローン Mot72、抗CD28および抗CD3で活性化、3、6、12時間プール (T103) ; T細胞、TH0クローン Mot72、特異的ペプチドでアネルギー処理、2、7、12時間プール (T104) ; T細胞、TH1クローン HY06、休止 (T107) ; T細胞、TH1クローン HY06、抗CD28および抗CD3で活性化、3、6、12時間、プール (T108) ; T細胞、TH1クローン HY06、特異的ペプチドでアネルギー処理、2、6、12時間プール (T109) ; T細胞、TH2クローン HY935、休止 (T110) ; T細胞、TH2クローン HY935、抗CD28および抗CD3で活性化、2、7、12時間プール (T111) ; T細胞、抗-CD28、I L - 4および抗I F N - においてはCD4 + CD45RO - T細胞分極27日、TH2分極、抗CD3および抗CD28で活性化、4時間 (T116) ; T細胞腫瘍株 Jurkat および Hut78、休止 (T117) ; T細胞クローン、プールAD130.2、Tc783.12、Tc783.13、Tc783.58、Tc782.69、休止 (T118) ; T細胞ランダム T細胞クローン、休止 (T119) ; 脾臓細胞、休止 (B100) ; 脾臓細胞、抗CD40およびI L - 4で活性化 (B101) ; B細胞EBV株プール化WT49、RSB、JY、CVIR、721.221、RM3、HSY、休止 (B102) ; B細胞系JY、PMAおよびイオノマイシンで活性化、1、6時間プール (B103) ; NK20クローン、プール化、休止 (K100) ; NK20クローンプール、PMAおよびイオノマイシンで活性化、6時間 (K101) ; NK Lクローン、LGL白血病患者の末梢血由来、I L - 2処理 (K106) ; NK細胞傷害性クローン640-A30-1、休止 (K107) ; 造血前駆体株TF1、PMAおよびイオノマイシンで活性化、1、6時間プール (C100) ; U937前単球株、休止 (M100) ; U937前単球株、PMAおよびイオノマイシンで活性化、1、6時間プール (M101) ; 溶離単球、LPS、I F N および抗I L - 10で活性化、1、2、6、12、24時間プール (M102) ; 溶離単球、LPS、I F N および抗I L - 10で活性化、1、2、6、12、24時間プール (M103) ; 溶離単球、LPS、I F N および抗I L - 10で活性化、4、16時間プール (M106) ; 溶離単球、LPS、I F N 、I L - 10で活性化、4、16時間プール (M17) ; 溶離単球、LPSで活

30

40

50

性化、1時間(M108)；溶離単球、LPSで活性化、6時間(M109)；DC70%CD1a+、CD34+GM-CSFから、TNF 12日、休止(D101)；DC70%CD1a+、CD34+GM-CSFから、TNF 12日、PMAおよびイオノマイシンで活性化、1時間(D102)；DC70%CD1a+、CD34+GM-CSFから、TNF 12日、PMAおよびイオノマイシンで活性化、6時間(D103)；DC95%CD1a+、CD34+GM-CSFから、TNF 12日、FACS分類、PMAおよびイオノマイシンで活性化、1、6時間プール(D104)；DC95%CD14+、CD34+GM-CSFから、TNF 12日、FACS分類、PMAおよびイオノマイシンで活性化、1、6時間プール(D105)；DC CD1a+CD86+、CD34+GM-CSFから、TNF 12日、FACS分類、PMAおよびイオノマイシンで活性化、1、6時間プール(D106)；DC、単球GM-CSFから、IL-4 5日、休止(D107)；DC、単球GM-CSFから、IL-4 5日、休止(D108)；DC、単球GM-CSFから、IL-4 5日、LPS活性化、4、16時間プール(D109)；DC、単球GM-CSFから、IL-4 5日、活性化TNF、単球sup e、4、16時間プール(D110)；平滑筋腫L11良性腫瘍(X101)；正常子宮筋層M5(O115)；悪性平滑筋肉腫GS1(X103)；肺線維芽細胞肉腫株MRC5、PMAおよびイオノマイシンで活性化、1、6時間、プール(C101)；腎臓上皮癌細胞系CHA、PMAおよびイオノマイシンで活性化、1、6時間、プール(C102)；腎臓胎児28週雄(O100)；肺胎児28週雄(O101)；肝臓胎児28週雄(O102)；心臓胎児28週雄(O103)；脳胎児28週雄(O104)；胆嚢胎児28週雄(O106)；小腸胎児28週雄(O107)；脂肪組織胎児28週雄(O108)；卵巣胎児25週雌(O109)；子宮胎児25週雌(O110)；精巣胎児28週雄(O111)；脾臓胎児28週雄(O112)；成体胎盤28週(O113)；および炎症扁桃、12歳から(X100)。

10

20

30

40

【0163】

DIRS4に関しては、サザンブロット分析は、数個のcDNAライブラリーにおける発現を明示した。その例を以下に挙げる：休止MOT72(Th0クローン)；休止、活性化、および抗ペプチドHY06(Th1クローン)；活性化T細胞CD4+、Th2分極；休止プールT細胞クローン；休止および活性化脾臓細胞；休止EBV B細胞；活性化JY(B細胞株)；細胞傷害性NK細胞；TF1細胞；休止および活性化U937細胞；抗IL-10で処理した単球；単球(抗IL-10およびIL-10刺激)；活性化単球；樹状細胞(活性化および休止)；MRC5(肺線維芽細胞肉腫株)；CHA(腎臓上皮癌株)；正常および喘息サル肺；正常および喫煙者肺；正常結腸；胎児肺；肝臓；胆嚢；および小腸。2つの転写物サイズ、すなわち約500bpおよび約1.8kbバンドが存在したが、これは、おそらくは可溶性および膜貫通形態の2つの異なる転写物を示唆する。

【0164】

PCRによる霊長類(例えばヒト)のTNF α 発現は、アレルギー肺および正常肺では高い；成体胎盤、胎児脾臓および正常皮膚では非常に低い。本質的には、腸試料および胎児器官では発現は認められない。細胞中では、高発現は休止HY06細胞およびTF-1で検出されたが、活性化HY06細胞およびJY細胞では低く、試験した、例えば上記におけるほとんどの他のヒト試料では有意の発現は認められなかった。表1は、ヒトTNF α に関する付加的Ta q M a n発現データを示す。

【0165】

【表1】

表1

ライブラリー	Ct_gene	ライブラリー	Ct_gene
PBMC休止	44.64mono+抗IL-10		22.47
PBMC活性化	40.48mono+IL-10		21.04
Mot72休止	26.29M1		40.52
Mot72活性化	24.51M6		21.75
Mot72抗ペプチド	20.72 70%DC休止		26.27
HY06休止	15.86D1		37.94
HY06活性化	18.3D6		25.05
HY06抗ペプチド	24.27CD1a+95%		26.87
HY935休止	25.97CD14+95%		35.17
HY935活性化	25.03CD1a+CD86+		27.48
B21休止	26.3DC/GM/IL-4		32.33
B21活性化	24.53DC LPS		27.81
Tcガンマデルタ	45DCミックス		27.32
Jurkat休止pSPORT	45胎児腎臓		26.41
Jurkat活性化pSPORT	28.09胎児肺		31.16
脾臓細胞休止	23.51胎児肝臓		26.28
脾臓細胞活性化	26.19胎児心臓		34.28
Bc	23.88胎児脳		25.02
JY	19.29胎児小腸		37.89
NKプール	38.21胎児脂肪組織		26.41
NKプール活性化	37.54胎児卵巣		37.49
NKA6 pSPORT	34.39胎児子宮		26.03
NKL/IL-2	25.71胎児精巣		36.65
NK細胞傷害性	23.28胎児脾臓		23.2
NK非細胞傷害性	26.35成体胎盤		24.06
U937/CD004休止	28.18炎症扁桃		26.21
U937活性化	26.21TF1		23.48
C-	27MRC5		33.99

10

20

30

40

ライブラリー	Ct_gene	ライブラリー	Ct_gene
C+	23.13CHA	28.27	
肥満細胞pME	28.65Taq_control_genomic		
__2 50			
TC1080 CD28- pMET7	38.1クローン病結腸	28.32	
	403242A		
RV-C30 TR1 pMET7	24.97肺080698-2	27.42	
DC休止mono-由来	28.12 18時間 肺回虫	28.06	
	(Ascaris lung)		
DC CD40L 活性化mono由来	27.07高用量IL-4肺	34.01	
DC休止CD34-由来	28.9正常結腸#22	44.6	
DC TNF/TGFb	36.74潰瘍性結腸炎結腸#26	38.12	
act CD34由来			
アレルギー肺#19	20.21正常甲状腺	28.14	
ニューモシスチス・カリニ肺#20	36.33橋本甲状腺炎	36.88	
	(Pneumocystis carinii)		
RA滑膜ブール	28正常皮膚	24.12	
乾癬皮膚	32.37クローン病結腸	30.31	
	4003197A		
正常な肺	35.68肺121897-1	36.25	
4時間肺回虫	31.45クローン病結腸	27.49	
	9609C144		
24時間肺回虫	26.34A549未刺激	28.03	
正常な肺ブール	22.21A549活性化	24.1	
Taq_control_genomic_1			
	50Taq_control_水	50	

10

20

30

齧歯類（例えばマウス）のTNF α は、5ヶ月ApoE KOマウス大動脈；C57B6 3週間分極Th1細胞、およびC57B6 3週間分極Th2細胞中で高度に発現される。それは、Balb/c 3週間分極Th2細胞、LPS処理脾臓および種々のその他のTh2分極集団ではあまり高度には発現されない。組織中では、PCRにより、それはTNF KO脾臓、NZB/W脾臓、NZB/W腎臓、NZB/W脾臓、GF耳/皮膚；rag-1精巢，w.t. C57B6脾臓、w.t. C57B6すい臓および2mo. 肺において高度に発現される。それは、インフルエンザ肺、rag-1肺、rag-1脾臓、脊髄試料、肺試料、胃およびリンパ節では低レベルで発現される。表2は、マウスTNF α に関する付加的TaqMan発現データを示す。

40

【0166】

(表2：)

【0167】

【表2】

ライブラリー	Ct_gene	ライブラリー	Ct_gene
L細胞	26 rag-1 脳		24.47
TH1 7日	26.63 rag-1 精巣		38.4
TH2 7日	24.56 rag-1 肺		22.81
TH1 3週 Balb/C	39.09 rag-1 肝臓		36.69
TH2 3週 Balb/C	24.48 rag-1 脾臓		24.23
プレート	36.92 rag-1 胸腺		23.91
D1.1 休止	32.74 rag-1 腎臓		22.32
D1.1 con A stim.	37.76 w.t. パイエル板		25.48
CDC35 休止	30.8 w.t. 腸間膜リンパ節		25.59
CDC35 con A stim.	41.92 w.t. 結腸		28.7
Mel 14+ 未処置 T	28.16 Braf:ER (-) オリゴ dT		38.53
Mel 14+ TH1	29.2 TH1 3週 C57 BL/6		23.12
Mel 14+ TH2	25.02 TH2 3週 C57 BL/6		22.54
A20	37.61 TH1 3週 Balb/C 新鮮		28.02
CH12	25.29 TH2 3週 Balb/C 新鮮		37.73
Ig. B 細胞	30.34 b.m. DC (YJL) 休止		27.99
LPS 脾臓	24.04 b.m. DC (YJL) aCD40 stim.		40.47
マクロファージ	28.6 b.m. mf + LPS + aIL-10R		29.74
J774 休止	39.73 b.m. mf + LPS + IL-10		27.67
J774 +LPS + 抗 IL-10	36.51 腹膜 mf		37.02
J774 +LPS + IL-10	40.53 MC-9/MCP-12 pMET7		39.68
Nippo 感染肺	25.87 EC		40.13
IL-10 K.O. 脾臓	24.18 EC + TNFa		40.54
IL-10 K.O. 結腸	36.97 bEnd3 + TNFa		41.26
喘息肺	26.61 bEnd3 + TNFa + IL-10		38.35
w.t. 肺	24.06 ApoE 大動脈 5ヶ月		21.03
w.t. 脾臓	28.87 ApoE 大動脈 12ヶ月		34.28
rag-1 心臓	26.48 NZ B/W 腎臓		21.02

10

20

30

ライブラリー	Ct_gene	ライブラリー	Ct_gene
Nippo IL-4 K.O. 肺	28.59	NZ B/W 脾臓	21.2
Nippo 抗 IL-5 肺	25.73	寛容化&負荷肺	27.17
インフルエンザ肺	23.93	アスペルギルス肺	23.32
b 共通肺2ヶ月	24.53	Taq_control_water	50
IL-10 K.O. 胃	29.87	Taq_control_genomic_1	50
IL-10 K.O. MLN aIL-12	26.58	Taq_control_genomic_2	50
IL-10 K.O. MLN +IL-10	25.89	w.t. d17 腎髄 EAE モデル	22.87
Rag-2 Hh- 結腸	29.2	TNF K.O. d17 腎髄 EAE モデル	22.84
Rag-2 Hh+ 結腸	27.1	TNF K.O. 腎髄	23.27
IL-7 K.O./Rag-2 Hh- 結腸	40	TNF K.O. 脾臓	20.78
IL-7 K.O./Rag-2 Hh+ 結腸	40	G.F. 耳 (皮膚)	20.7
転移モデル IBD	28.1	w.t. 腎髄	22.74
w.t. C57 Bl/6 大動脈	39.38	w.t. C57 Bl/6 脾臓	22.15
w.t. 胸腺	27.05	w.t. C57 Bl/6 脾臓	24.75
w.t. 胃	26.49	MM2/MM3 活性化 pME	37.67
MM2/MM3 休止 pME	37.62		

10

20

30

霊長類、例えばヒトのTNF γ は、胎児脂肪組織および胎児卵巣中で発現される。それは、胎児脳、橋本甲状腺炎、RA滑膜プール、成体胎盤および胎児子宮中で低レベルで発現される。それは、胎児腎臓、正常甲状腺で低レベルで発現され、クローン病(Crohn's)結腸、乾癬皮膚および胎児肺で検出可能である。それは本質的には、評価された他の器官、例えば種々の回虫負荷肺試料中では検出されない。細胞ライブラリーでは、それはTF-1細胞で発現され、CHA細胞中では非常に低レベルで発現されるが、試験された他の細胞系中では有意に発現されなかった。表3は、ヒトTNF γ に関する付加的TaqMan発現データを提供する。

【0168】

(表3:)

【0169】

【表3】

ライブラリー	Ct_gene	ライブラリー	Ct_gene
PBMC 休止	45 mono + IL-10		42.96
PBMC 活性化	44.16 M1		41.25
Mot 72 休止	42.47 M6		45
Mot 72 活性化	28.59 70% DC 休止		40.37
Mot 72 抗ペプチド	42.47 D1		28.94
HY06 休止	43.19 D6		28.38
HY06 活性化	41.48 CD1a+ 95%		25.63
HY06 抗ペプチド	43.28 CD14+ 95%		28.36
HY935 休止	45 CD1a+ CD86+		28.67
HY935 活性化	43.62 DC/GM/IL-4		45
B21 休止	41.73 DC LPS		38.8
B21 活性化	44.35 DC 混合		26.53
Tc ャ△	43.21 胎児の腎臓		27.98
Jurkat 休止 pSPORT	23.44 胎児の肺		30.57
Jurkat 活性化 pSPORT	25.19 胎児の肝臓		43.92
休止脾細胞	38.72 胎児の心臓		40.84
活性化脾細胞	44.09 胎児の脳		26.02
Bc	44.83 胎児の小腸		40.05
JY	43.05 胎児の脂肪組織		23.63
NK プール	39.09 胎児の卵巣		25.85
NK プール活性化	44.32 胎児の子宮		27.57
NKA6 pSPORT	42.8 胎児の精巣		45
NKL/IL-2	45 胎児の脾臓		39.08
NK cytotox.	44.79 成体の胎盤		28.05
NK non cytotox.	45 炎症扁桃腺		45
U937/CD004 休止	24.17 TF1		22.09
U937 活性化	24.41 MRC5		26.18
C-	40.38 CHA		19.22
C+	41.17 マスト細胞 pME		43.93

10

20

30

ライブラリー	Ct_gene	ライブラリー	Ct_gene
mono + 抗 IL-10	45	TC1080 CD28- pMET7	41.62
DC 休止 mono-derived	45	RV-C30 TR1 pMET7	42.76
DC CD40L activ. mono-deriv.	45	4 hr. 肺回虫	45
DC 休止 CD34由来	45	24 hr. 肺回虫	45
DC TNF/TGFb act CD34-der.	39.71	正常肺 プール	45
アレルギー性肺 #19	43.22	正常皮膚	42.69
ニューモシスティスカリニ肺 #20	43.81	クローン病結腸 4003197A	29.82
正常結腸 #22	43.66	肺 121897-1	45
潰瘍性大腸炎結腸 #26	45	クローン病結腸 9609C144	41.86
正常胸腺	27.71	A549 unstim.	27.09
橋本甲状腺炎	27.4	A549 活性化	29.01
RA 滑膜プール	28	Taq_control_water	50
乾癬皮膚	31.49	Taq_control_genomic_1	50
正常肺	45	Taq_control_genomic_2	50
クローン病結腸 403242A	33.18	18 hr. 肺回虫	44.16
肺 080698-2	30.01	hi dose IL-4肺	43.59

10

20

(表4は、げっ歯類についての TaqMan 発現データ (例えば、マウス (mouse TNFy) を提供する。)

【0170】

【表4】

ライブラリー	Ct_gene	ライブラリー	Ct_gene
L細胞	40 rag-1 肺		40
TH1 7 日	40 rag-1 肝臓		40
TH2 7 日	27.11 rag-1 脾臓		23.97
TH1 3 週 Balb/C	40 rag-1 胸腺		26.29
TH2 3 週 Balb/C	26.95 rag-1 腎臓		40
プレート	40 w.t. パイエル板		27.04
D1.1 休止	40 w.t. 腸間膜リンパ節		40
D1.1 con A stim.	40 w.t. 結腸		26.63
CDC35 休止	40 Braf:ER (-) オリゴ dT		40
CDC35 con A stim.	39.83 TH1 3 週 C57 B1/6		26.78
Mel 14+ 未処置 T	40 TH2 3 週 C57 B1/6		40
Mel14+ TH1	40 TH1 3 週 Balb/C 新鮮		40
Mel 14+ TH2	31.22 TH2 3 週 Balb/C 新鮮		40
A20	27.39 b.m. DC (YJL) 休止		40
CH12	28.18 b.m. DC (YJL) aCD40 stim.		40
Ig. B 細胞	26.35 b.m. mf + LPS + aIL-10R		40
LPS 脾臓	21.58 b.m. mf + LPS + IL-10		40
マクロファージ	40 腹膜 mf		40
J774 休止	24.99 MC-9/MCP-12 pMET7		40
J774 +LPS + 抗 IL-10	28.41 EC		40
J774 +LPS + IL-10	27.57 EC + TNFa		40
Nippo 感染肺	26.98 bEnd3 + TNFa		40
IL-10 K.O. 脾臓	25.43 bEnd3 + TNFa + IL-10		40
IL-10 K.O. 結腸	23.68 ApoE 大動脈 5 ヶ月		35.16
喘息肺	37.45 ApoE 大動脈 12 ヶ月		35.47
w.t. 肺	40 NZ B/W 腎臓		37.17
w.t. 脾臓	39.95 NZ B/W 脾臓		25.25
rag-1 心臓	40 寛容化 & 負荷肺		40
rag-1 脳	40 アスベルギルス肺		39.26

10

20

30

ライブラリー	Ct_gene	ライブラリー	Ct_gene
rag-1 ⁺ 精巣	40	Nippo IL-4 K.O. 肺	26.13
インフルエンザ肺	37.13	Nippo 抗 IL-5 肺	34.73
b ⁺ 共通肺2ヶ月	39.33	w.t. 胸腺	40
IL-10 K.O. 胃	27.3	w.t. 胃	30.14
IL-10 K.O. MLN aIL-12	40	MM2/MM3 休止 pME	40
IL-10 K.O. MLN +IL-10	37.97	MM2/MM3 活性化 pME	40
Rag-2 Hh ⁻ 結腸	26.95	Taq_control_water	50
Rag-2 Hh ⁺ 結腸	22.94	Taq_control_genomic_1	50
IL-7 K.O./Rag-2 Hh ⁻ 結腸	26.77	Taq_control_genomic_2	50
IL-7 K.O./Rag-2 Hh ⁺ 結腸	24.24	w.t. d17 脊髄 EAE モデル	40
転移モデル IBD	23.01	TNF K.O. d17 脊髄 EAE モデル	40
w.t. C57 BL/6 ⁺ 大動脈	40	TNF K.O. 脊髄	27.99
w.t. 脊髄	38.8	TNF K.O. 脾臓	24.93
w.t. C57 BL/6 ⁺ 脾臓	26.38	G.F. 耳 (皮膚)	40
w.t. C57 BL/6 ⁺ 脾臓	40		

10

20

30

40

50

霊長類、例えばヒトのTLR-L1は、TF-1細胞、D6細胞で発現され、休止U937細胞、休止Jurkat細胞およびプールNK細胞中ではほとんど検出されない。組織中では、それは、胎児子宮、胎児卵巣、アレルギー肺および胎児精巣中に見出される。胎児腎臓、胎児小腸、胎児脳、胎児脂肪組織、正常肺プールおよび胎児肺では、低レベルで見出される。

【0171】

霊長類、例えばヒトのTLR-L2、TLR-L3およびTLR-L4は、脳組織中で発現されると思われる。

【0172】

霊長類、例えばヒトのTLR-L5は、非刺激化A549、活性化A549、MRC5およびBc細胞系中で発現されると思われる。組織の中では、それは胎児子宮、胎児小腸中でもっとも高度に発現され、胎児肺、胎児腎臓、胎児肝臓および胎児卵巣中ではあまり発現されない。それは胎児脳、胎児脂肪組織、胎児精巣、乾癬皮膚および種々の腸試料中で単に検出可能である。

【0173】

5685C6プローブは、Th2マイナスTh1分極細胞のサブトラクションライブラリーとの陽性ハイブリダイゼーションを、Th1マイナスTh2分極細胞のライブラリーとのハイブリダイゼーションの非存在を示す。これは、プローブが、Th2分極細胞中で選択的に存在し、このような細胞型のためのマーカーとして機能し得る、ということを示唆する。PCR技法は、発現プロファイルを確証する。

【0174】

構造的には、このタンパク質は、チオレドキシンフォールドを保有する他のタンパク質、例えばペルオキシダーゼタンパク質、例えばグルタチオンペルオキシダーゼとの類似性を示す(Choi, et al. (1998) Nature Structural Biol. 5: 400-406 参照)。チオレドキシンは、ある種の化学誘引物質活性を示すことが報告されている(Bertini, et al. (1999) J. Exp. Med. 189: 1783-1789 参照)。

【0175】

4つの新規のクローディング転写物すべてに関して、TaqManプライマーを設計した。これらのプライマー組を用いて、異なる細胞型、組織および疾患状態を示すヒトライブラリーのパネル、ならびに2つの延長cDNAパネルをスクリーニングした。cDNAパネルは、正常または疾患ヒト肺または腸由来の試料から成っていた。クローディング遺伝子は、検出されたもっとも高度に調節された遺伝子のいくつかである。さらにクローディングD8は、クローン病および潰瘍性結腸炎試料間の最大相互調節を示して、それをこれらの疾患に関する将来的診断パネルにおける良好な候補にする。

【0176】

クローディング-D2：ライブラリーサザンにおいて、発現は、1つのクローン病結腸、胎児小腸および2つの上皮細胞系で最高であり、胎児肺、腎臓、卵巣および精巣では低レベルに発現される。ヒトcDNAパネルでは、これは、ステロイド治療を用いた場合も用いない場合も、8/9のクローン病において高度に上向き調節される（平均誘導 = $53 \times$ 、 $n = 9$ ）。さらに、クローディング-D2は9/12の潰瘍性結腸炎試料（平均誘導 = $8.2 \times$ ）でも誘導されるが、この誘導はクローン病資料で観察されたものより有意に低い。さらに、12/13の間質性肺疾患試料（特発性肺線維症、過敏性肺炎および好酸球性肉芽腫）において、上向き調節される（平均誘導 = $29 \times$ ）。

【0177】

クローディング-D8：ライブラリーサザンにおいて、発現は、胎児腎臓および正常結腸で最高である。さらに、潰瘍性結腸炎結腸、甲状腺および胎児肺で発現される。パネル上の細胞では、発現は観察されない。ヒトcDNAパネルでは、腸で高レベルの発現が観察された。すべてのクローン病試料では、発現はほとんどまたはまったく認められない（平均低減 $130 \times$ 、 $n = 9$ ）。いくつかの潰瘍性結腸炎試料でもまた、クローディング-D8発現が低減したが、パターンは不均一である。これに対比して、クローディング-D8は、いくつかの間質性肺疾患試料において上向き調節される（12/15、平均誘導 = $9 \times$ ）が、これらの試料における発現レベルは正常結腸の10分の1程度である。それは、I-309により原発性ヒト気管支上皮細胞でも誘発される。

【0178】

クローディング-D17：ライブラリーサザンにおいて、全体的に測定される発現レベルは、本明細書中に記載された他のクローディングと比較して、100分の1程度で低い。発現レベルが実際により低いか、またはこの遺伝子に関するプライマーが非感受性（非最適）であるかは明らかでない。発現は、喘息肺のうちの1つおよび乾癬皮膚で最高である。パネル上の細胞では、発現は観察されない。ヒトcDNAパネルでは、発現は8/11の潰瘍性結腸炎試料で増大される（平均誘導 = $13 \times$ ）が、一方、クローン病試料中では変わらない。I-309により誘導される原発性気管支上皮細胞系においては、低レベルで発現される。そうでなければ、散発性試料の場合を除いて、レベルは低すぎて検出されない。

【0179】

クローディング-D7.2：ライブラリーサザンにおいて、ヒト胎児および成人肺、サル肺で、および1つのクローン病結腸試料で最高レベルで発現される。パネル上の2つの上皮（A549およびCHA）および1つの線維芽細胞（MRC5）細胞系で、低レベルで発現される。ヒトcDNAパネルでは、腸で高レベルで、また肺でもより高いレベルで発現される。ステロイドで処置されていない患者からのクローン病試料では、上向き調節される（平均誘導 = $3.7 \times$ 、 $n = 4$ ）。このパネル上で検査された肺疾患のいずれにおいてもこの遺伝子の一貫した調整は認められない。

【0180】

クローディングファミリー構造：クローディングファミリーメンバーのゲノム構造編成がパラセリン-1のものに基づいている場合には、タンパク質は5つのエキソンによりすべてコードされる。推定スプライス部位およびエキソン数は予測可能であり、M1；A43、A75、G129およびC182から約2コドン上流のD2の残基に対応し、膜貫通セグメ

ントは、約 G 1 7 - V 3 6、M 8 3 - C 1 0 4、V 1 1 7 - H 1 4 1 および L 1 6 4 - Q 1 8 8 に対応する。パラセリンはその N 末端で余分の 6 0 個のアミノ酸を有し、これは膜の細胞質側上に置かれる。

【 0 1 8 1 】

疾患関連：クローディン - D 2 は、対照試料と比較して、8 / 9 のクローン病で上向き調節されるが、一方、クローディン - D 8 は下方調節される。本発明の開示に記載されたクローディンはすべて、上記のような疾患関連を示す。

【 0 1 8 2 】

クローディンは、クローン病と潰瘍性結腸炎を区別し得る、あるいはいずれかまたは両方の疾患における疾患重症度の確定を助け得る遺伝子の診断パネルの一部を構成し得る。例えばクローディン - D 2 は、潰瘍性結腸炎よりクローン病においてより高レベルで発現される。対照的に、クローディン - D 8、クラスター 1 6 4 5 5 7 7 は、クローン病試料において極低レベルで発現され、ほとんどの潰瘍性結腸炎試料においては劇的に低減されることはほとんどない（例えば Simon, et al. (1999) Science 285:103-106; Hirano, et al. (19xx) Genome Research 10:659-663; Morita, et al. (1999) Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 96:511-516; Anderson and Van Itallie (1999) Current Biology 9:R922-R924; および Furuse, et al. (1999) J. Cell Biol. 147:891-903 参照）。

【 0 1 8 3 】

炎症性腸疾患を有する患者の腸内へのクローディン - D 8 オルソログを発現するアデノウイルスまたは別の発現ベクターの導入は、腸のバリア機能を改善し、疾患を改善する。

【 0 1 8 4 】

対照的に、本明細書中に記載されたクローディンの 1 つに対する抗体は、密着接合部形成を促進して腸バリア機能の改善をもたらす細胞内シグナルを誘導し；クローン病または潰瘍性結腸炎の開始または保持に原因的役割を演じ得る病原性作用物質の進入を遮断し、密着接合部を横切る骨髓性細胞の移動を促して上皮の感染前に病原性作用物質を一掃することを可能にし得る。

【 0 1 8 5 】

線維芽細胞 / 胸腺腫細胞におけるシュラーフェンファミリーメンバーの発現は、細胞成長を遅延しまたは停止する。それらは細胞成長および T 細胞発達を先導し、T 細胞静止状態を維持する機構の統合的構成成分である。それらは、自己免疫疾患の発症または維持に重要な役割を演じ得る。マウスシュラーフェンは、細胞周期の調節に関与する。このファミリーは、2 つのスプライス改変体：短および長形態を特徴とする。

【 0 1 8 6 】

シュラーフェン B : 7 4 8 a a ; O R F。定量的 P C R 分析は、T 細胞、休止 D C、M 1 マクロファージ細胞パネルにおいて明示する。橋本甲状腺炎、胎児腎臓、胎児子宮および胎児脾臓において誘導される。クローン病結腸ではわずかに誘導される。

【 0 1 8 7 】

シュラーフェン C : 8 9 1 a a、全 O R F。定量的 P C R 分析は、これが、対照と比較して、全クローン病試料、喘息肺、回虫肺、橋本甲状腺炎および胎児組織において有意に上向き調節されることを明示した。

【 0 1 8 8 】

シュラーフェン D : 5 7 8 a a、全 O R F。ヒトシュラーフェン D に関する定量的 P C R データは、正常結腸と比較して、クローン病および潰瘍性結腸炎において有意に示差的に調節されることを明示した。さらにそれは、細胞系と比較して、多数の発生中組織（胎児）および疾患状態（アレルギー、回虫およびニューモシスチスカリニ肺、クローン病結腸、潰瘍性結腸炎および乾癬皮膚）において高度に発現されると思われる。

【 0 1 8 9 】

シュラーフェン E : 897 aa、全 ORF。定量的 PCR 分析は、結腸、胎児肝臓、胎児肺、胎児卵巣および胎児子宮における発現を明示し、1つのクローン病試料で有意に上向き調節され、橋本甲状腺炎で高度に誘導される。

【0190】

シュラーフェン F : 358 aa ; 全 ORF。分布分析は完全ではない。

【0191】

同様の試料は、評価のために他の種において単離し得た。

【0192】

(V. 種同等物のクローニング)

種々の戦略を用いて、好ましくはその他の霊長類または齧歯類からの例えば DIRS 4 の種同等物を得る。一方法は、密接に関連した種 DNA プローブを用いる交差ハイブリダイゼーションによる。それは、中間工程として進化的に類似の種を調査するために有用であり得る。別の方法は、遺伝子間、例えば高度保存または非保存ポリペプチドまたはヌクレオチド配列の領域間の類似性または差異のブロックの同定を基礎にした特異的 PCR プライマーを用いることによる。

【0193】

(VI. 哺乳動物タンパク質の産生)

適切な、例えば GST 融合構築物は、例えば大腸菌中での発現のために操作される。例えばマウス IGIF pGex プラスミドが構築され、大腸菌中で形質転換される。新たに形質転換した細胞を、例えば 50 g / ml アンピシリンを含有する LB 培地中で成長させ、IPTG (Sigma, St. Louis, MO) を用いて誘導する。一夜誘導後、細菌を収集し、例えば DIRS 4 タンパク質を含有するペレットを単離する。例えば 2 リットルの TE 緩衝液 (50 mM トリスベース、pH 8.0、10 mM の EDTA および 2 mM のペファブロック (Pefabloc)) 中でペレットをホモジナイズする。この物質を微小流動機 (Microfluidics, Newton, MA) に 3 回通す。流動化上清を Sorvall GS-3 ローターで 13,000 rpm で 1 時間回転沈降させる。その結果生じたサイトカインレセプタータンパク質含有上清を濾過し、50 mM トリスベース pH 8.0 中で平衡させたグルタチオン - SEPHAROSE カラム上に通す。DIRS 4 - GST 融合タンパク質を含有する分画をプールし、例えばトロンビン (Enzyme Research Laboratories, Inc., South Bend, IN) を用いて切断する。次に切断プールを、50 mM トリスベース中で平衡させた Q - SEPHAROSE カラム上に通す。DIRS 4 を含有する分画をプールし、冷蒸留水中で希釈して、伝導率を下げ、単独でまたはイムノアフィニティー抗体カラムと連続して、新たな Q - SEPHAROSE カラム上に再び通す。DIRS 4 タンパク質を含有する分画をプールし、分取して、-70 冷凍庫中に保存する。

【0194】

CD スペクトルとサイトカインレセプタータンパク質の比較は、タンパク質が正しくフォールディングことを示唆し得る (Hazuda, et al. (1969) J. Biol. Chem. 264 : 1689 - 1693 参照)。

【0195】

他の遺伝子、例えば膜タンパク質に関しては、タンパク質は細胞表面で最良に発現され得る。それらは原核生物発現系または真核生物発現系中に存在し得る。表面発現形態が、脂質との天然相互作用と一致する配座を有することはもっともありそうである。

【0196】

(VII. レセプターの生理学的形態の確定)

種々のリガンドおよび提供されたレセプターサブユニット、例えば IL - 10 関連配列を用いて、リガンドに対するレセプターの細胞形態を試験し得る。特に複数のサイトカインレセプター様リガンドが同定されている (例えば USSN 60 / 027, 368、08 / 934, 959 および 08 / 842, 659 参照) (これらの記載内容は、参照により本明細書中に援用される)。

【0197】

その他の推定レセプターサブユニットを用いたDIRS4の同時形質転換が実施され得る。このような細胞を用いて、シグナル伝達のために推定サイトカインリガンド、例えばAK155をスクリーニングし得る。細胞増殖アッセイを用い得る。

【0198】

さらに、多数のサイトカインレセプターが、ヘテロ二量体、例えば可溶性サブユニットおよび膜貫通サブユニットとして機能する、ということは既知であった。提供された試薬を用いて、サブユニットの組合せをここで試験し得る。特に、細胞中へのサブユニットの形質転換またはトランスフェクションのために、適切な構築物を作製し得る。形質転換の組合せトランスフェクションは、限定サブユニットを発現する細胞を作成し、これを、予測リガンドに対する応答に関して試験し得る。適切な細胞型、例えば293T細胞を、例えばNF- κ Bレポーター構築物とともに用い得る。

10

【0199】

レセプターに関する生物学的アッセイは、一般に、タンパク質のリガンド結合特徴に、またはレセプターのキナーゼ/ホスファターゼ活性に関する。活性は、多数のその他の酵素反応の場合と同様に、通常は可逆的であり、ホスファターゼまたはホスホリラーゼ活性を媒介し、その活性は標準手法により容易に測定される(例えばHardie, et al. (eds. 1995) The Protein Kinase Fact Book vols. I and II, Academic Press, San Diego, CA; Hanks, et al. (1991) Meth. Enzymol. 200:38-62; Hunter, et al. (1992) Cell 70:375-388; Lewin (1990) Cell 61:743-752; Pines, et al. (1991) Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 56:449-463; およびParker, et al. (1993) Nature 363:736-738参照)。

20

【0200】

サイトカインのファミリーは、造血または炎症性疾患の重要な媒介物質である分子を含有する(例えばNelson and Martin (eds. 2000) Cytokines in Pulmonary Disease Dekker, NY; Ganse and Hoelzer (eds. 1999) Cytokines in the Treatment of Hematopoietic Failure Dekker, NY; Remick and Friedland (eds. 1997) Cytokines in Health and Disease Dekker, NY; Dinarello (1996) Blood 87:2095-2147; およびThomson (eds. 1994) The Cytokine Handbook Academic Press, San Diego参照)。リガンドおよびレセプターは、シグナル伝達プロセスにおいて非常に重要である。

30

【0201】

(VIIII. タンパク質に特異的な抗体)

同系Balb/cマウスを、組換え形態のタンパク質、例えば精製DIRS4または安定的にトランスフェクトされたNIH-3T3細胞を用いて、腹腔内に免疫する。適切な時点で、タンパク質を、付加的アジュバントとともにまたは伴わずに動物に追加免疫して、抗体産生をさらに刺激する。血清を収集するか、または採集した脾臓を用いてハイブリドーマを産生する。

40

【0202】

あるいは、遺伝子またはそのフラグメントで形質転換した細胞(内因性または外因性細胞のいずれか)を用いて、または抗原の発現のために富化された単離膜を用いて、Balb/cマウスを免疫する。適切な時点で、通常は多数回のさらなる投与後、血清を収集する。種々の遺伝子療法技術は、例えば免疫応答を生成するための、インサイチュでのタンパク質産生において有用であり得る。血清を免疫選択して、限定特異性および高親和性を有

50

する実質的に純粋な抗体を調製し得る。

【0203】

モノクローナル抗体を作製し得る。例えば脾臓細胞を適切な融合相手と融合させて、標準手法により増殖培地中でハイブリドーマを選択する。例えばE L I S Aまたはその他のアッセイにより、D I R S 4と結合する抗体の存在に関して、ハイブリドーマ上清をスクリーニングする。特定のD I R S 4実施形態を特異的に認識する抗体も、選択または調製され得る。

【0204】

別の方法では、合成ペプチドまたは精製タンパク質を免疫系に提示して、モノクローナル抗体またはポリクローナル抗体を生成する（例えばC o l i g a n (e d . 1 9 9 1) C u r r e n t P r o t o c o l s i n I m m u n o l o g y W i l e y / G r e e n e ; ならびにH a r l o w およびL a n e (1 9 8 9) A n t i b o d i e s : A L a b o r a t o r y M a n u a l C o l d S p r i n g H a r b o r P r e s s を参照のこと）。適切な状況では、結合試薬は、例えば、蛍光またはその他の方法で上記のように標識されるか、あるいはパニング法のために基質に固定される。核酸もまた、抗原を生じるために動物の細胞中に導入されて、この抗原は、免疫応答を引き出すために機能する（例えばW a n g , e t a l . (1 9 9 3) P r o c . N a t ' l . A c a d . S c i . 9 0 : 4 1 5 6 - 4 1 6 0 ; B a r r y , e t a l . (1 9 9 4) B i o T e c h n i q u e s 1 6 : 6 1 6 - 6 1 9 ; およびX i a n g , e t a l . (1 9 9 5) I m m u n i t y 2 : 1 2 9 - 1 3 5 を参照のこと）。

10

20

【0205】

さらに、D I R S 4と機能性 サブユニットとの組合せを確定するために有用であり得る抗体を生成し得る。したがって、例えば特定の機能性 / 組合せの特徴を有するエピトープを、適切な抗体を用いて同定し得る。

【0206】

(I X . 融合タンパク質の産生)

例えばD I R S 4を用いて、種々の融合構築物を作製する。適切な遺伝子の一部分を、エピトープタグ（例えば、F L A G タグ）または2ハイブリッド系構築物と融合する（例えば、F i e l d s およびS o n g (1 9 8 9) N a t u r e 3 4 0 : 2 4 5 - 2 4 6 を参照のこと）。

30

【0207】

エピトープタグを、抗F L A G抗体による検出を伴う発現クローニング手法に用いて、結合相手（例えば、それぞれのサイトカインレセプターに対するリガンド）を検出し得る。2ハイブリッド系もまた、D I R S 4と特異的に結合するタンパク質を単離するために用い得る。

【0208】

(X . 構造活性関係)

標準手法および分析を用いて、特定の残基の臨界性 (c r i t i c a l i t y) に関する情報を確定する。例えば、決定位置（例えば、上記で同定された位置）で、多数の異なる改変体を生成し、改変体の生物学的活性を評価することにより、標準突然変異誘発分析を実施する。これは、活性を改変する位置を決定する程度に、あるいは生物学的活性を保持、遮断または調整するために置換され得る残基を決定するために特定の位置に焦点を絞って、実施し得る。

40

【0209】

あるいは、天然改変体の分析は、どの位置が天然に存在する突然変異を容認するかを示し得る。これは、個体の間の、あるいは系統または種全体のバリエーションの集団分析に起因し得る。例えば、P C R分析および配列決定により、選択された個体からの試料を分析する。これは、集団多形の評価を可能にする。

【0210】

(X I . レセプターに対するリガンドの単離)

50

サイトカインレセプターを特異的結合試薬として用いて、抗体が用いられるのと同様に、その結合の特異性を利用することにより、その結合相手を同定し得る。代表的に、結合レセプターは、レセプターサブユニットのヘテロ二量体である。結合試薬は、例えば蛍光または他の方法で、上記のように標識されるか、あるいはパニング法のために基質に固定される。

【0211】

結合組成物を用いて、結合相手（すなわち、好ましくは膜結合型リガンド）を発現する細胞系から作製される発現ライブラリーをスクリーニングする。標準染色技法を用いて表面発現リガンドを検出または分類するか、あるいはパニングにより表面発現形質転換細胞をスクリーニングする。種々の染色または免疫蛍光手順により、細胞内発現のスクリーニングを実施する。Mc Mahan, et al. (1991) EMBO J. 10: 2821 - 2832) もまた参照のこと。

10

【0212】

例えば、0日目に、10 ng/mlのフィブロネクチンを含むPBS (1 ml/チャンパー)を用いて、室温で30分間、2チャンパーペルマックス (permanox) スライドを予備被覆する。PBSで1回リンスする。次に1.5 mlの増殖培地中で $2 \sim 3 \times 10^5$ 細胞/チャンパーでCOS細胞をプレートする。37℃で一晩インキュベートする。

【0213】

1日目に、各試料に関して、無血清DME中の66 µg/mlのDEAE-デキストラン、66 µMのクロロキンおよび4 µgのDNAの溶液0.5 mlを調製する。各組に関して、1および1/200希釈で、例えば、DIRS4-FLAG cDNAのポジティブコントロール、ならびにネガティブmockを調製する。無血清DMEで細胞をリンスする。DNA溶液を添加し、37℃で5時間インキュベートする。培地を除去し、DME中の10% DMSO 0.5 mlを2.5分間添加する。DMEを除去し、DMEで1回洗浄する。1.5 mlの増殖培地を添加し、一晩インキュベートする。

20

【0214】

2日目に、培地を取り替える。3または4日目に、細胞を固定し、染色する。ハンス緩衝化生理食塩溶液 (HBSS) で2回、細胞をリンスし、4%パラホルムアルデヒド (PFA) / グルコース中で5分間固定する。HBSSで3回洗浄する。すべての液体を除去後、スライドを-80℃で保存し得る。各チャンパーに関して、0.5 mlインキュベーションを以下のように実施する。32 µl/mlの1M NaN₃を有するHBSS / サポニン (0.1%) を、20分間にわたって添加する。次に細胞をHBSS / サポニンで1回洗浄する。適切なDIRS4またはDIRS4 / 抗体複合体を細胞に付加し、30分間インキュベートする。HBSS / サポニンで2回、細胞を洗浄する。適切な場合には、一次抗体を30分間にわたって添加する。二次抗体 (例えば、Vector抗マウス抗体を、1/200希釈) を添加し、30分間インキュベートする。ELISA溶液、例えばVector Elite ABC西洋ワサビペルオキシダーゼ溶液を調製し、30分間予備インキュベートする。例えば1滴の溶液A (アビジン) および1滴の溶液B (ビオチン) / 2.5 ml HBSS / サポニンをを用いる。HBSS / サポニンで2回、細胞を洗浄する。ABC HRP溶液を添加し、30分間インキュベートする。HBSSで細胞を2回洗浄し、次に2分間洗浄して、細胞をクローズする。次にVectorジアミノ安息香酸 (DAB) を5~10分間添加する。2滴の緩衝液 + 4滴のDAB + 2滴のH₂O₂ / 5 mlの蒸留水 (Glass distilled water) を用いる。注意深くチャンパーを取りはずし、水中でスライドをすすぐ。数分間風乾して、次に1滴のCrystal Mountおよびカバーガラスを付加する。85~90℃で5分間、焼き固める。

30

40

【0215】

プールの陽性染色を評価し、結合に関与する単一遺伝子の単離のために連続的にサブクロニングする。

50

【0216】

あるいはレセプター試薬を用いて、推定リガンドを発現する細胞をアフィニティー精製するかまたは選別 (sort out) する (例えば Sambrook, et al. または Ausubel, et al. を参照のこと)。

【0217】

別の戦略は、パニングにより膜結合レセプターに関してスクリーニングすることである。上記のようにレセプター cDNA を構築する。リガンドを固定し、発現細胞を固定するために用い得る。固定は、例えば D I R S 4 融合構築物の F L A G 配列を認識する適切な抗体の使用により、あるいは一次抗体に対して産生される抗体の使用により、達成され得る。選択および増幅の帰納的周期は、適切なクローンの富化およびレセプター発現クローンの結果的な単離をもたらす。

10

【0218】

哺乳動物 D I R S 4 により、ファージ発現ライブラリーをスクリーニングし得る。適切な標識技法 (例えば、抗 F L A G 抗体) は、適切なクローンの特異的標識を可能にする。

【0219】

本明細書中の引用はすべて、各々の個々の刊行物または特許出願が具体的および個別に参照として援用されると示されたのと同程度に、参照として本明細書中に援用される。

【0220】

当業者に明らかなように、本発明の多数の改変および変形は、本発明の精神および範囲を逸脱することなしになされ得る。本明細書中に記載される特定の実施形態は単なる例示として提示され、本発明は添付の特許請求の範囲の用語、ならびにこのような特許請求の範囲が権利を与えた等価物の全ての範囲により限定されるものであり、本発明は、例示として本明細書中に提示されている特定の実施形態により限定されない。

20

【0221】

【表5】

配列同定番号

SEQ ID NO: 1 は霊長類 DIRS4 スクレオチド配列である。

SEQ ID NO: 2 は霊長類 DIRS4 ポリペプチド配列である。

SEQ ID NO: 3 は組織因子ポリペプチド配列である。

SEQ ID NO: 4 は霊長類 IFN α β R ポリペプチド配列である。

SEQ ID NO: 5 は CRF1-4 ポリペプチド配列である。

SEQ ID NO: 6 is cytor x ポリペプチド配列である。

SEQ ID NO: 7 is cytor7 ポリペプチド配列である。

SEQ ID NO: 8 は霊長類 TNF α 核酸配列である。

SEQ ID NO: 9 は霊長類 TNF α ポリペプチド配列である。

SEQ ID NO: 10 は齧歯類 TNF α 核酸配列である。

SEQ ID NO: 11 は齧歯類 TNF α ポリペプチド配列である。

SEQ ID NO: 12 は霊長類 TNF β 核酸配列である。

SEQ ID NO: 13 は霊長類 TNF β ポリペプチド配列である。

SEQ ID NO: 14 は霊長類 TLR-L1 核酸配列である。

SEQ ID NO: 15 は霊長類 TLR-L1 ポリペプチド配列である。

SEQ ID NO: 16 は齧歯類 TLR-L1 核酸配列である。

SEQ ID NO: 17 は齧歯類 TLR-L1 ポリペプチド配列である。

SEQ ID NO: 18 は霊長類 TLR-L2 核酸配列である。

SEQ ID NO: 19 は霊長類 TLR-L2 ポリペプチド配列である。

SEQ ID NO: 20 は齧歯類 TLR-L2 核酸配列である。

SEQ ID NO: 21 は齧歯類 TLR-L2 ポリペプチド配列である。

SEQ ID NO: 22 は霊長類 TLR-L3 核酸配列である。

SEQ ID NO: 23 は霊長類 TLR-L3 ポリペプチド配列である。

SEQ ID NO: 24 は霊長類 TLR-L4 核酸配列である。

SEQ ID NO: 25 は霊長類 TLR-L4 ポリペプチド配列である。

SEQ ID NO: 26 は霊長類 TLR-L5 核酸配列である。

SEQ ID NO: 27 は霊長類 TLR-L5 ポリペプチド配列である。

SEQ ID NO: 28 は霊長類 TGF α 核酸配列である。

SEQ ID NO: 29 は霊長類 TGF α ポリペプチド配列である。

10

20

30

40

SEQ ID NO: 30 は霊長類 5685C6 核酸配列である。

SEQ ID NO: 31 は霊長類 5685C6 ポリペプチド配列である。

SEQ ID NO: 32 は齧歯類 5685C6 核酸配列である。

SEQ ID NO: 33 は齧歯類 5685C6 ポリペプチド配列である。

SEQ ID NO: 34 は霊長類 クローディン-D2 核酸配列である。

SEQ ID NO: 35 は霊長類 クローディン-D2 ポリペプチド配列である。

SEQ ID NO: 36 は霊長類 クローディン-D8 核酸配列である。

SEQ ID NO: 37 は霊長類 クローディン-D8 ポリペプチド配列である。

SEQ ID NO: 38 は霊長類 クローディン-D17 核酸配列である。

SEQ ID NO: 39 は霊長類 クローディン-D17 ポリペプチド配列である。

SEQ ID NO: 40 は霊長類 クローディン-D7.2 核酸配列である。

SEQ ID NO: 41 は霊長類 クローディン-D7.2 ポリペプチド配列である。

SEQ ID NO: 42 は霊長類 シュラーヘン B 核酸配列である。

SEQ ID NO: 43 は霊長類 シュラーヘン B ポリペプチド配列である。

SEQ ID NO: 44 は霊長類 シュラーヘン C 核酸配列である。

SEQ ID NO: 45 は霊長類 シュラーヘン C ポリペプチド配列である。

SEQ ID NO: 46 は霊長類 シュラーヘン D 核酸配列である。

SEQ ID NO: 47 は霊長類 シュラーヘン D ポリペプチド配列である。

SEQ ID NO: 48 は霊長類 シュラーヘン E 核酸配列である。

SEQ ID NO: 49 は霊長類 シュラーヘン E ポリペプチド配列である。

SEQ ID NO: 50 は霊長類 シュラーヘン F 核酸配列である。

SEQ ID NO: 51 は霊長類 シュラーヘン F ポリペプチド配列である。

SEQ ID NO: 52 は齧歯類 TNF γ 核酸配列である。

SEQ ID NO: 53 は齧歯類 TNF γ ポリペプチド配列である。

10

20

30

【図面の簡単な説明】

【図 1 A】

図 1 A は、関連 I F N レセプターファミリーメンバーの配列アラインメントを示す。組織因子は、配列番号 4 であり、h I F N a b R は配列番号 5 であり、C R F 2 - 4 は配列番号 6 であり、c y t o r x は配列番号 7 であり、c y t o r 7 は配列番号 8 である。

【図 1 B】

図 1 B は、関連 I F N レセプターファミリーメンバーの配列アラインメントを示す。組織因子は、配列番号 4 であり、h I F N a b R は配列番号 5 であり、C R F 2 - 4 は配列番号 6 であり、c y t o r x は配列番号 7 であり、c y t o r 7 は配列番号 8 である。

【図 1 C】

図 1 C は、関連 I F N レセプターファミリーメンバーの配列アラインメントを示す。組織因子は、配列番号 4 であり、h I F N a b R は配列番号 5 であり、C R F 2 - 4 は配列番号 6 であり、c y t o r x は配列番号 7 であり、c y t o r 7 は配列番号 8 である。

【図 2】

図 2 は、T N F - x および T N F - y ポリペプチドのアラインメントを示す（配列番号 9、11 および 13）。p は霊長類であり、r は齧歯類である。

40

50

【図3】

図3A～図3Fは、霊長類および齧歯類TLR様タンパク質配列のアラインメントを示す。

【図4】

図4は、霊長類および齧歯類5685C6ポリペプチド配列のアラインメントを示す。

【図5】

図5Aおよび5Bは、クロードイン(Claudin)相同体：D2(配列番号34)、D8(配列番号37)、D17(配列番号39)、D7.2(配列番号41)のアラインメントを示す。

【図6】

図6A～6Fは、シュラーフェン(Schlaafen)相同体：シュラーフェンB(配列番号43)、シュラーフェンC(配列番号45)、シュラーフェンD(配列番号47)、シュラーフェンE(配列番号49)、およびシュラーフェンF(配列番号51)のアラインメントを示す。

10

【図1A】

```

組織因子      -METPAWPRVPRPETAVARTLLLGWVFAQVAGASGTTN-T
1274993R      -----MAGPERWGPLLLCLLQAPGRPR-L
hIFNabR      MLLSQNAFIF--RSLNLVLMVYISLVFGISYDSPDYT--
CRF2-4        -----MAWSLGSWLGGLLVSALGMV---
cytor x      --MMP-----KHCFELGELISFFLTGVAGTQSTHES--
cytor7      --MRAPGRPAL--RPLPLPPLLLLLLAPWGRAVPCVSGGL

組織因子      VAAYNLTKSTNEKTILEWEPK---PVN-QVYTVQISTKS
1274993aaR    APPQNVTLLSQNFVSYLTWLPGLGNPD-VTYFVAYQSSP
hIFNabR      DESCFTKISLRNFRSILSWE-LKNHSIVPTHYLLYTIMS
CRF2-4        PPEENVRMNSVNFKNILQWESPFAKGN-LTFTAQYLSY-
cytor x      LKPQRVQFQSRNHNILQWQPRALTGNSSVYFQYKIYG
cytor7      PKPANITFLSINMKNVLQWTPPEGLQGVKVTYTVQYPIYG

組織因子      --GDWKS--CFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSY
1274993R      TRRWREVVEECAGTKELLCSMMCLKKQDLYNKFKGRVRTV
hIFNabR      KPEDLKVVKNCANTRSFCDLTDEW--RSTHEAYTVLEG
CRF2-4        --RIFQDK--CMNTTLETCDFSSLS-KYGDHTL--RVRAE
cytor x      -QRQWKNKEDCWGTQELSCDLTSET-SDIQEPYGRVRAA
cytor7      -QKKWLNKSECRNINRITYCDLSAET-SDYEHQYYAKVKAI

組織因子      PAGNVESTGSAGEPLYENSPEFTFYLETNLGQPTIQSFEQ
1274993R      SPSSKS-----PWVESEYLDYLFVEVPAPP-VLVLTQ
hIFNabR      FSGNTT-----LFSCSHNFWLAIDMSFEPP-EFEIVG
CRF2-4        FADEHS-----DWVNIT-FCFVDDTIIIGFP-GMQVEV
cytor x      SAGSYS-----EWSMTPRFTFWWETKIDPP-VMNITQ
cytor7      WGTKCS-----KWAESGRFYFLETQIGPP-EVALIT

組織因子      VGTKNVTVEDERTLVR-RNNTFLSLRDVFGKDLIYTLTY
1274993R      T-BEILSANATYQLPP-----CMPPLD---LKYEVAF
hIFNabR      FTHNINVVKFPSSIVE---EELQFDLSLVIE-EQSEGIK
CRF2-4        LADSLHMRFLAPKIEN---EYETWTMKNVYN-SWTYNVQY
cytor x      VNGSLIVILHAPNLPYRYQKEKNVSIEDYY--ELLYRVFI
cytor7      DEKISIVVLTAPEKWKRNPELDVSMQQIYS-NLKYNVSV

```

FIG.1A

【図1B】

```

組織因子      WKSSSSG-KKTAKTNTNEFLIDV--DKGENYCFSVQAVIP
1274993R      WKEGAGN-----KVGSSFPAPR--LGPLLHPFLLRFFSP
hIFNabR      KHKPEIK---GNMSGNFTYIIDK-LIPNTNYCVSVYLEHS
CRF2-4        WKNGTDE--KFQITPQYDFEVLNLEFWTTYCVQVRGFLP
cytor x      INNSLEKEQKVYEGAHRAVEIEA-LTPHSSYCVVAEYQP
cytor7      LNTKSNR-TWSQCVTNHTLVLTW-LEPNTLYCVHVESFVP
組織因子      SRTVNRKSTDS-PVECMGQEKGE-----FREIFYII
1274993R      -----SQPAPAPLLQEVFFVHS-----
hIFNabR      D---EQAVIKS-PLKCTLLPPGQSESAESAKIGGIITVF
CRF2-4        DR--NKAGEWS-EPVCEQTHDET-----VPSWMVAVIL
cytor x      ML--DRRSQRS-EERCVEIP-----
cytor7      GP--PRRAQPS-EKQCARTLKQDSSEFKAKIIFWYVLPIS

組織因子      GAVAFVVIILVILAI SLHKCRKAG-----
1274993R      LIALVLTSTIVTLKWIYICLRNLSPLKVLNFHN---FLAW
hIFNabR      MASVFMVCLALLGCFSLWCYKKT-----KY
CRF2-4        -----
cytor x      IT-VLFVSVMGYSIYRIYHVGKEKHPANLIIYGNFEDKR
cytor7      -----

組織因子      -----VGQSWK-----EN---
1274993R      AAPRTSGGGYTMHGLTVRPLGQASATSTESQLIDPESEEE
hIFNabR      --PR---NSLPQHLKEFLGHPHNTLLFFSFPLSDEN---
CRF2-4        -----
cytor x      NDPQPSGNLRPPQEEEEVKHLGYASHLMEIFCDSEENTEG
cytor7      -----

```

FIG.1B

【 図 1 C 】

組織因子	-----SP
1274993R	
hIFNabR	PEEDYSSTEGSGGRITFNVDLNSVFLRVLDDESDSDDLEAP
CRF2-4	-----VFDK
cytor x	
cytor7	SLQEEVSTQGTLLESQAALAVLGPQTLQYSYTFQLQDLDP
組織因子	-----
1274993R	
hIFNabR	PDLPEVDVELPTMPKDSP-QQLELLSGPCERRKSFLQDPF
CRF2-4	-----D-----
cytor x	
cytor7	TSLTQQESLSRTIPDPKTVIEYEDVRTTICAGFEEQEL
組織因子	LNVS-----
1274993R	
hIFNabR	IMLSSHLEEMVDPEDPDNVQSNHLLASGEG-----TQ
CRF2-4	LSVIAEDSESG-KQNP-----G-----DS
cytor x	
cytor7	LAQEHTDSEEGPEEPSTTLVDWDPQTGRLCIPSLSSFDQ
組織因子	-----
1274993R	
hIFNabR	PTFFSPSSEG-----LWSEDAPSDQSDTSES
CRF2-4	CSLGTTPPGQG-----PQS-----
cytor x	
cytor7	DSEGCEPSEGDGLGEEGLLSRLXEEPAPDRPPGENETYLM
組織因子	-----
1274993R	
hIFNabR	DVDLGDGYIMR---
CRF2-4 aa	-----
cytor x	
cytor7	QFMEEWGLYQMEN

FIG.1C

【国際公開パンフレット】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
14 March 2002 (14.03.2002)

PCT

(10) International Publication Number
WO 02/20569 A2

- (51) International Patent Classification: C07K 14/00
- (21) International Application Number: PCT/US01/28013
- (22) International Filing Date:
7 September 2001 (07.09.2001)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data:
60/231,267 8 September 2000 (08.09.2000) US
- (71) Applicant: SCHERING CORPORATION (US/US),
2000 Galloping Hill Road, Kenilworth, NJ 07033-0530
(US).
- (72) Inventors: PARHAM, Christi, L.; 2385 30th Avenue,
San Francisco, CA 94116 (US). GORMAN, Daniel, M.;
6371 Central Avenue, Newark, CA 94560 (US). KURATA,
Hirotaka; 1091 Tanland Drive, #212, Palo Alto, CA 94303
(US). ARAI, Naoko; 648 Georgia Avenue, Palo Alto, CA
94306 (US). SANA, Theodore, R.; 1046 Pomeroy Av-
enue, Santa Clara, CA 95051 (US). MATTSO, Jeanine,
D.; 559 Alvarado Street, San Francisco, CA 94114 (US).
MURPHY, Erin, E.; 180 Emerson Street, Palo Alto, CA
94301 (US). SAYKOOR, Chetan; 4402 Silverberry Drive,
San Jose, CA 95136-2415 (US). GREEN, Jeffery; 1083-A
Alta Mira Drive, Santa Clara, CA 95051 (US). SMITH,
Kathleen, M.; 275 Ventura #6, Palo Alto, CA 94304 (US).
MCCLANAHAN, Terrill, K.; 1081 Westchester Drive,
Sunnyvale, CA 94087 (US).
- (74) Agent: SCHRAM, David, B.; Schering Corporation,
Patent Dept., K-6-1 1990, 2000 Galloping Hill Road,
Kenilworth, NJ 07033-0530 (US).
- (81) Designated States (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU,
AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CZ,
DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, HR, HU,
ID, IL, IN, IS, JP, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LT, LU, LV,
MA, MD, MG, MK, MN, MX, MY, NZ, PH, PL, PT,
RO, RU, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UZ,
VN, YU, ZA.
- (84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM,
KE, LS, MW, MZ, SD, SI, SZ, TZ, UG, ZW), Eurasian
patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European
patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE,
IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF,
CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD,
TG).
- Declaration under Rule 4.17:
— as to the applicant's entitlement to claim the priority of the
earlier application (Rule 4.17(iii)) for all designations
- Published:
— without international search report and to be republished
upon receipt of that report
- For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guid-
ance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the begin-
ning of each regular issue of the PCT Gazette.



WO 02/20569 A2

(54) Title: MAMMALIAN GENES; RELATED REAGENTS AND METHODS

(57) Abstract: Nucleic acids encoding mammalian, e.g., primate or rodent, genes, purified proteins and fragments thereof. Anti-
bodies, both polyclonal and monoclonal, are also provided. Methods of using the compositions for both diagnostic and therapeutic
utilities are provided.

WO 02/20569

PCT/US01/28013

1

MAMMALIAN GENES; RELATED REAGENTS AND METHODS

FIELD OF THE INVENTION

The present invention relates to compositions and methods for affecting mammalian
5 physiology, including morphogenesis or immune system function. In particular, it provides
nucleic acids, proteins, and antibodies which regulate development and/or the immune
system. Diagnostic and therapeutic uses of these materials are also disclosed.

BACKGROUND OF THE INVENTION

10 Recombinant DNA technology refers generally to techniques of integrating genetic
information from a donor source into vectors for subsequent processing, such as through
introduction into a host, whereby the transferred genetic information is copied and/or
expressed in the new environment. Commonly, the genetic information exists in the form of
complementary DNA (cDNA) derived from messenger RNA (mRNA) coding for a desired
15 protein product. The carrier is frequently a plasmid having the capacity to incorporate cDNA
for later replication in a host and, in some cases, actually to control expression of the cDNA
and thereby direct synthesis of the encoded product in the host. See, e.g., Sambrook, et al.
(1989) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, (2d ed.), vols. 1-3, CSH Press, NY.

For some time, it has been known that the mammalian immune response is based on a
20 series of complex cellular interactions, called the "immune network". Recent research has
provided new insights into the inner workings of this network. While it remains clear that
much of the immune response does, in fact, revolve around the network-like interactions of
lymphocytes, macrophages, granulocytes, and other cells, immunologists now generally hold
the opinion that soluble proteins, known as lymphokines, cytokines, or monokines, play
25 critical roles in controlling these cellular interactions. The interferons are generally
considered to be members of the cytokine family. Thus, there is considerable interest in the
isolation, characterization, and mechanisms of action of cell modulatory factors, an
understanding of which will lead to significant advancements in the diagnosis and therapy of
numerous medical abnormalities, e.g., immune system disorders.

30 Lymphokines apparently mediate cellular activities in a variety of ways. See, e.g.,
Paul (ed. 1998) Fundamental Immunology 4th ed., Lippincott; and Thomson (ed. 1998) The

WO 02/20569

PCT/US01/28013

2

Cytokine Handbook 3d ed., Academic Press, San Diego. They have been shown to support the proliferation, growth, and/or differentiation of pluripotential hematopoietic stem cells into vast numbers of progenitors comprising diverse cellular lineages which make up a complex immune system. Proper and balanced interactions between the cellular components are
5 necessary for a healthy immune response. The different cellular lineages often respond in a different manner when lymphokines are administered in conjunction with other agents.

Cell lineages especially important to the immune response include two classes of lymphocytes: B-cells, which can produce and secrete immunoglobulins (proteins with the capability of recognizing and binding to foreign matter to effect its removal), and T-cells of
10 various subsets that secrete lymphokines and induce or suppress the B-cells and various other cells (including other T-cells) making up the immune network. These lymphocytes interact with many other cell types.

One means to modulate the effect of a cytokine upon binding to its receptor, and therefore potentially useful in treating inappropriate immune responses, e.g., autoimmune, inflammation, sepsis, and cancer situations, is to inhibit the receptor signal transduction. In order to characterize
15 the structural properties of a cytokine receptor in greater detail and to understand the mechanism of action at the molecular level, purified receptor will be very useful. The receptors provided herein, by comparison to other receptors or by combining structural components, will provide further understanding of signal transduction induced by ligand binding.

20 An isolated receptor gene should provide means to generate an economical source of the receptor, allow expression of more receptors on a cell leading to increased assay sensitivity, promote characterization of various receptor subtypes and variants, and allow correlation of activity with receptor structures. Moreover, fragments of the receptor may be useful as agonists or antagonists of ligand binding. See, e.g., Harada, et al. (1992) J. Biol. Chem. 267:22752-22758. Often, there are at least two critical subunits in the functional
25 receptor. See, e.g., Gonda and D'Andrea (1997) Blood 89:355-369; Presky, et al. (1996) Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 93:14002-14007; Drachman and Kaushansky (1995) Curr. Opin. Hematol. 2:22-28; Theze (1994) Eur. Cytokine Netw. 5:353-368; and Lemmon and Schlessinger (1994) Trends Biochem. Sci. 19:459-463. Other receptor types, e.g., TLR-like,
30 will similarly be useful.

WO 02/20569

PCT/US01/28013

3

Likewise, identification of novel ligands will be useful. Members of the tumor necrosis factor (TNF) family and transforming growth factor (TGF) family of ligands have identified physiological effects.

Finally, genes which exhibit disease associated expression patterns will be useful in diagnostic or other uses. The molecular diagnostic utility may be applied to identify patients who will be responsive to particular therapies, or to predict responsiveness to treatment.

From the foregoing, it is evident that the discovery and development of new soluble proteins and their receptors, including ones similar to lymphokines, should contribute to new therapies for a wide range of degenerative or abnormal conditions which directly or indirectly involve development, differentiation, or function, e.g., of the immune system and/or hematopoietic cells. Moreover, novel markers will be useful in molecular diagnosis or therapeutic methods. In particular, the discovery and understanding of novel receptors or lymphokine-like molecules which enhance or potentiate the beneficial activities of other lymphokines would be highly advantageous. The present invention provides these and related compounds, and methods for their use.

BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

Figures 1A-1C show a sequence alignment of related IFN receptor family members. Tissue Factor is SEQ ID NO: 4; hIFNabR is SEQ ID NO: 5; CRF2-4 is SEQ ID NO: 6; cytor x is SEQ ID NO: 7; and cytor7 is SEQ ID NO: 8.

Figure 2 shows an alignment of TNF-x and TNF-y polypeptides (SEQ ID NO:9, 11, and 13); p is primate, r is rodent.

Figures 3A-3E show an alignment of primate and rodent TLR-like protein sequences.

Figure 4 shows an Alignment of primate and rodent 5685C6 polypeptide sequences.

Figure 5 shows an alignment of Claudin homologs: D2 (SEQ ID NO:34); D8 (SEQ ID NO:37); D17 (SEQ ID NO:39); D7.2 (SEQ ID NO:41).

Figures 6A-6E show an alignment of Schlafen homologs: schlafen B (SEQ ID NO:43); schlafen C (SEQ ID NO:45); schlafen D (SEQ ID NO:47); schlafen E (SEQ ID NO:49); and schlafen F (SEQ ID NO:51).

WO 02/20569

PCT/US01/28013

4

SUMMARY OF THE INVENTION

The present invention is directed to novel genes, e.g., primate embodiments. These genes include receptors related to cytokine receptors, e.g., cytokine receptor like molecular structures, designated DNAX Interferon-like Receptor Subunit 4 (DIRS4); TNF related cytokines designated TNF α and TNF β ; Toll-like receptor like molecules designated TLR-L1, TLR-L2, TLR-L3, TLR-L4, and TLR-L5; a TGF related molecule designated TGF α ; a soluble Th2 cell produced entity designated 5685C6; a group of genes related to ones whose expression patterns correlate with medical conditions designated claudins, herein referred to as claudins D2, D8, D17, and D7.2; and a second group of genes related to ones whose expression patterns correlate with medical conditions designated schlafens, herein referred to as schlafens B, C, D, E, and F.

In particular, the present invention provides a composition of matter selected from: a substantially pure or recombinant polypeptide comprising at least three distinct nonoverlapping segments of at least four amino acids identical to segments of: SEQ ID NO: 2 (DIRS4); SEQ ID NO: 9, 11, 13, or 53 (TNF α or TNF β); SEQ ID NO: 15, 17, 19, 21, 23, 25, or 27 (TLR-L1 through TLR-L5); SEQ ID NO: 29 (TGF α); SEQ ID NO: 31 or 33 (5685C6); SEQ ID NO: 35, 37, 39, or 41 (claudins); SEQ ID NO: 43, 45, 47, 49, or 51 (schlafens). In preferred embodiments, the distinct nonoverlapping segments of identity: include one of at least eight amino acids; include one of at least four amino acids and a second of at least five amino acids; include at least three segments of at least four, five, and six amino acids; or include one of at least twelve amino acids. In certain embodiments, the polypeptide: is unglycosylated; is from a primate, such as a human; comprises at least contiguous seventeen amino acids of the SEQ ID NO; exhibits at least four nonoverlapping segments of at least seven amino acids of the SEQ ID NO; has a length at least about 30 amino acids; has a molecular weight of at least 30 kD with natural glycosylation; is a synthetic polypeptide; is attached to a solid substrate; is conjugated to another chemical moiety; or comprises a detection or purification tag, including a FLAG, His6, or Ig sequence. In other embodiments, the composition comprises: a substantially pure polypeptide; a sterile polypeptide; or the polypeptide and a carrier, wherein the carrier is: an aqueous compound, including water, saline, and/or buffer; and/or formulated for oral, rectal, nasal, topical, or parenteral administration.

WO 02/20569

PCT/US01/28013

5

Kit embodiments include those comprising such a polypeptide, and: a compartment comprising the polypeptide; or instructions for use or disposal of reagents in the kit.

Binding compound embodiments include those comprising an antigen binding site from an antibody, which specifically binds to a described polypeptide, wherein: the binding
5 compound is in a container; the polypeptide is from a human; the binding compound is an Fv, Fab, or Fab2 fragment; the binding compound is conjugated to another chemical moiety; or the antibody: is raised to a recombinant polypeptide; is raised to a purified polypeptide; is immunoselected; is a polyclonal antibody; binds to a denatured antigen; exhibits a K_d to antigen of at least $30 \text{ } \mu\text{M}$; is attached to a solid substrate, including a bead or plastic
10 membrane; is in a sterile composition; or is detectably labeled, including a radioactive or fluorescent label.

Kit embodiments include those comprising such a binding compound, and: a compartment comprising the binding compound; or instructions for use or disposal of reagents in the kit.

15 Methods are provided, e.g., for producing an antigen:antibody complex, comprising contacting under appropriate conditions a primate polypeptide with such a described antibody, thereby allowing the complex to form. Also provided are methods of producing an antigen:antibody complex, comprising contacting under appropriate conditions a polypeptide with an antibody which binds thereto, thereby allowing the complex to form. And methods
20 are provided to produce a binding compound comprising: immunizing an immune system with a polypeptide described; introducing a nucleic acid encoding the described polypeptide to a cell under conditions leading to an immune response, thereby producing said binding compound; or selecting for a phage display library for those phage which bind to the desired polypeptide.

25 Further compositions are provided, e.g., comprising: a sterile binding compound, or the binding compound and a carrier, wherein the carrier is: an aqueous compound, including water, saline, and/or buffer; and/or formulated for oral, rectal, nasal, topical, or parenteral administration.

Nucleic acid embodiments are provided, e.g., an isolated or recombinant nucleic acid
30 encoding a polypeptide described, wherein the: polypeptide is from a primate; or the nucleic acid: encodes an antigenic polypeptide; encodes a plurality of antigenic polypeptide

WO 02/20569

PCT/US01/28013

6

sequences of SEQ ID NO: 2, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, or 53; exhibits identity over at least thirteen nucleotides to a natural cDNA encoding the segment; is an expression vector; further comprises an origin of replication; is from a natural source; comprises a detectable label; comprises synthetic nucleotide sequence; 5 is less than 6 kb, preferably less than 3 kb; is a hybridization probe for a gene encoding the polypeptide; or is a PCR primer, PCR product, or mutagenesis primer.

Various embodiments also include cells comprising the recombinant nucleic acids, particularly wherein the cell is: a prokaryotic cell; a eukaryotic cell; a bacterial cell; a yeast cell; an insect cell; a mammalian cell; a mouse cell; a primate cell; or a human cell.

10 Kit embodiments include those comprising a described nucleic acid, and: a compartment comprising the nucleic acid; a compartment further comprising a primate polypeptide; or instructions for use or disposal of reagents in the kit.

Other nucleic acids are provided which: hybridize under wash conditions of 30 minutes at 37° C and less than 2M salt to the coding portion of SEQ ID NO: 1, 8, 10, 12, 14, 15 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50 or 52; or exhibit identity over a stretch of at least about 30 nucleotides to a SEQ ID NO: 1, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, or 52. Preferably, the wash conditions are at 45° C and/or 500 mM salt, or at 55° C and/or 150 mM salt; or the stretch is at least 55 or 75 nucleotides.

20 Methods are provided, e.g., for making: a duplex nucleic acid comprising contacting: a described nucleic acid with a complementary nucleic acid, under appropriate conditions, thereby resulting in hybridization to form the complex; or a nucleic acid complementary to a described nucleic acid with its complementary nucleic acid, under appropriate conditions, thereby resulting in hybridization to form the complex; or a polypeptide comprising culturing 25 a cell comprising a described nucleic acid under conditions resulting in expression of the nucleic acid.

And methods are provided to: modulate physiology or development of a cell comprising contacting the cell with a polypeptide comprising SEQ ID NO: 9, 11, 13, 29, 31, or 33; modulate physiology or development of a cell comprising contacting the cell with a 30 binding compound which binds to SEQ ID NO: 9, 11, 13, 29, 31, 33 or 53, thereby blocking signaling mediated by a protein comprising the SEQ ID NO; label a cell comprising contacting

WO 02/20569

PCT/US01/28013

7

the cell with a binding compound which binds to SEQ ID NO: 15, 17, 19, 21, 13, 15, or 37; or diagnose a medical condition comprising a step of evaluating expression of nucleic acid comprising SEQ ID NO: 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, or 50.

5 DETAILED DESCRIPTION OF THE PREFERRED EMBODIMENTS

I. General

The present invention provides the amino acid sequences and nucleic acid sequences of mammalian, herein primate, genes. Among them is an interferon receptor-like subunit molecule, one designated DNAX Interferon Receptor family Subunit 4 (DIRS4), having particular defined properties, both structural and biological. Others include molecules designated TNF α and TNF γ ; Toll like receptor like molecules TLR-L1, TLR-L2, TLR-L3, TLR-L4, and TLR-L5; TGF α ; 5685C6; claudins D2, D8, D17, and D7.2; and schlafens B, C, D, E, and F. Various cDNAs encoding these molecules were obtained from primate, e.g., human, cDNA sequence libraries. Other primate or other mammalian counterparts would also be desired. In certain cases, alternative splice variants should be available.

Some of the standard methods applicable are described or referenced, e.g., in Maniatis, et al. (1982) Molecular Cloning. A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Press; Sambrook, et al. (1989) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, (2d ed.), vols. 1-3, CSH Press, NY; Ausubel, et al., Biology, Greene Publishing Associates, Brooklyn, NY; or Ausubel, et al. (1987 and periodic supplements) Current Protocols in Molecular Biology, Greene/Wiley, New York; each of which is incorporated herein by reference.

A nucleotide and corresponding amino acid sequence for a primate, e.g., human DIRS4 coding segment is shown in SEQ ID NO: 1 and 2, respectively. The new DIRS4 lacks a transmembrane segment, which suggests that the subunit acts as a soluble subunit, and would thus be an alpha receptor subunit. Alternatively, or in addition, a splice variant would exist which contains a transmembrane segment. This is consistent with the observation that two transcripts are found in many cell types. Interferon receptor like subunits may be receptors for the IL-10 family of ligands, e.g., IL-10, AK155, IL-19, IL-20/mda-7, AK155, IL-D110, IL-D210, etc. See, e.g., Derwent patent sequence database.

WO 02/20569

PCT/US01/28013

8

- Also provided are nucleotide (SEQ ID NO: 8, 10, 12, and 52) and corresponding amino acid sequences (SEQ ID NO: 9, 11, 13, and 53) for primate and rodent forms of TNF α and primate and rodent forms of TNF γ . Features for primate TNF α include: cAMP PK sites about 38, 74, 79, 205; Cas Phos sites about 41, 61; Cyt_c-Mesite about 43; Histone-Me site about 35; Myristoly sites about 5, 57, 220, 232 N-GLYCOSYL site about 229; PHOS2 sites about 38-41, 79-82, 134-136; PKC ph sites about 77, 142. Also segments 119-250, and 209-221 are notable. For rodent TNF α , features include: A predicted signal 1-19; mature would begin at about 20. Other features: cAMP PK sites at about 34, 93, 132, 229, 248, 263; Cas Phos sites about 119, 232, 251; Cyt_c-Me sites about 26, 90, 172; Histone-Me site about 82; Myristoly sites around 278, 290, 303; N-GLYCOSYL: 3 sites about 39, 287, 297; PHOS2 sites about 26-29, 34-37, 90-92, 93-96, 138-140, 192-194, 248-251; and PKC ph sites about 43, 51, 80, 81, 152; TyKinsite about 154. Signal cleavage site predicted between pos. 19 and 20: AGA-GA. Other significant segments include from about 74-132, 94-118, 168-308, and 193-201.
- Nucleotide and corresponding amino acid sequences for TLR-L1 through TLR-L5 are provided in SEQ ID NO:14-27. The EST distribution for TLR1 suggests mRNA expression is restricted to brain tissue; chromosome Xq27.1-28 coding region is on a single exon. Features for primate TLR1 (SEQ ID NO:15) include: Tyr Kin site about 704 (KEGDPVAY); Tyr Kin sites about 713 (RNLQEFYSY), 825(KPQSEPDY); N-GLYCOSYL sites about 84 (NYS), 219 (NCT), 294 (NPT), 366 (NIS), 421 (NLT), 583 (NLS); likely a Type Ia membrane protein; a possible uncleavable N-term signal sequence; and a transmembrane prediction of about 618-634 <612-646>. For rodent TLR-L1(SEQ ID NO:17), the features include: A predicted transmembrane segment from about residues 56-75; and predicted TyKin sites at about residues 136 and 145.
- For primate TLR-L2 (SEQ ID NO:19) features include: N-glycosyl sites about 82 (NYT), 217 (NCS), 623 (NST), 674 (NQS); TyKin sites about 889 (RLREPVLY), 450 (RLSPELFY), 917 (KLNVEPDY); TyKin site about 889 (RLREPVLY), 917 (KLNVEPDY). Structurally this molecule has homology to type Ia membrane proteins.
- Primate TLR-L3 (SEQ ID NO:23) has the following features: SIGNAL 1-26; TRANS 14-34; Pfam:LRRNT 43-73; Pfam:LRR 78-101; LRR_TYP 100-123; Pfam:LRR 102-125; LRR_TYP 124-147; Pfam:LRR 126-149; LRR_TYP 148-171; Pfam:LRR 150-173;

WO 02/20569

PCT/US01/28013

9

LRR_TYP 172-195; LRR_PS 172-194; Pfam:LRR 174-197; LRR_TYP 196-219; LRRCT 232-282; Pfam:LRRCT 232-282 with SEG 331-349 or SEG 365-379; Pfam:LRRNT 372-405; LRRNT 372-410; Pfam:LRR 409-432; LRR_TYP 431-454; Pfam:LRR 433-456; LRR_PS 455-477; LRR_TYP 455-478; Pfam:LRR 457-480; LRR_TYP 479-502; Pfam:LRR 481-504
5 with SEG 502-519; LRR_TYP 503-526; LRR_PS 503-525; Pfam:LRR 505-528; Pfam:LRRCT 562-612; LRRCT 562-612; TRANS 653-673; SEG 653-676; SEG 712-723; SEG 760-776; SEG 831-855. Structurally this molecule has homology to type Ia membrane proteins.

Primate TLR-L4 (SEQ ID NO:25) EST distributions suggest mRNA expression is
10 restricted to brain tissue; human chromosome Xq26.3-28; predicted features at about, e.g., SIGNAL 1-18; SEG 22-38; Pfam:LRR 60-83; LRR_TYP 82-105; Pfam:LRR 84-107; LRR_PS 106-128; LRR_TYP 106-129; Pfam:LRR 108-131; LRR_TYP 130-153; Pfam:LRR 132-155; LRR_SD22 154-174; LRR_PS 154-176; LRR_TYP 154-177; Pfam:LRR 156-178; LRR_SD22 177-198; LRR_PS 177-198; LRR_TYP 178-201; Pfam:LRR 179-200; Pfam:LRRCT 213-263;
15 LRRCT 213-263; LRRNT 341-379; Pfam:LRRNT 341-374; Pfam:LRR 378-401; LRR_TYP 400-423; LRR_SD22 400-421; Pfam:LRR 402-425; LRR_TYP 424-447; LRR_SD22 424-450; LRR_PS 424-447; Pfam:LRR 426-449; LRR_TYP 448-471; LRR_PS 448-470; Pfam:LRR 450-473; LRR_TYP 472-495; LRR_PS 472-494; Pfam:LRR 474-497; SEG 474-488; LRRCT 531-581; Pfam:LRRCT 531-581; SEG 617-643; TRANS 623-643; N-
20 GLYCOSYL sites about 81 (NFS), 216 (NCS), 308 (NPS), 325 (NLS), 423 (NLT); chromosome Xq26.3-28; coding region is on a single exon. Structurally this molecule appears to be a Type Ia membrane protein.

For primate TLR-L5 (SEQ ID NO:27) the entire coding region lies on a single exon on human chromosome 13; predicted features at about, e.g., SIGNAL 1-20; Pfam:LRR 65-88;
25 LRR_TYP 87-110; Pfam:LRR 89-112; LRR_TYP 111-134; Pfam:LRR 113-136; LRR_PS 135-157; LRR_SD22 135-156; LRR_TYP 135-158; Pfam:LRR 137-160; LRR_TYP 159-182; LRR_SD22 159-177; LRR_PS 159-181; Pfam:LRR 161-184; LRR_SD22 182-203; LRR_TYP 185-206; Pfam:LRR 185-205; LRRCT 218-268; Pfam:LRRCT 218-268; Hybrid:LRRNT 328-364; Pfam:LRRNT 328-360; LRR_SD22 386-407; Pfam:LRR 388-411; LRR_TYP 389-409;
30 LRR_PS 410-432; LRR_TYP 410-433; LRR_SD22 410-428; Pfam:LRR 412-435; LRR_SD22 434-453; LRR_PS 434-457; LRR_TYP 434-457; Pfam:LRR 436-459; SEG 436-445; LRR_PS

WO 02/20569

PCT/US01/28013

10

458-480; LRR_SD22 458-484; LRR_TYP 458-481; SEG 459-476; Pfam:LRR 460-483; SEG 503-516; LRRCT 517-567; Pfam:LRRCT 517-567; SEG 585-596; TRANS 607-627; SEG 701-710; N-GLYCOSYL 3 sites about 292 (NDS), 409 (NLT), 572 (NPS); TyKin site about 798 (KLMTILMY).

5 Nucleotide and corresponding amino acid sequences for a primate, e.g., human, TGF α coding segment, are represented by SEQ ID NO:28 and 29, respectively. Human TGF α maps to chromosome 5 (clone CITB-H1_2319M24). Predicted features (SEQ ID NO: 29) include: TGF β domain 115-212; Pfam:TGF-beta 115-167; Pfam:TGF-beta 205-212; TGF-beta like conserved Cys residues at positions 115, 144, 148, 177, 209, 211.

10 Nucleotide and corresponding amino acid sequences for 5685C6 coding segments are presented in SEQ ID NO:30-33. The primate clone maps to chromosome 21q22.1. Features of primate 5685C6 (SEQ ID NO:31) include: N-GLYCOSYL sites about 10 (NST), 23 (NCS), 76 (NFT), 169 (NVT), 191 (NKS); most likely cleavage site predicted between pos. 19 and 20: VFA-LN. The secreted protein produced by Th2 cells. The corresponding rodent polypeptide (SEQ ID NO:33) has the following features Predicted features: N-GLYCOSYL
15 sites about 6 (NNT), 19 (NCS), 159 (NRS); most likely cleavage site between pos. 26 and 27: TKA-QN. 5685C6 molecules appear to be soluble entities which are expressed in Th2 clones. The entities are useful markers of Th2 cells, and will be useful in characterizing such cell types.

20 Nucleotide and corresponding amino acid sequences for claudins D2, D8, D17, and D7.2 are SEQ ID NO:34-41 (See, e.g., Simon, et al. (1999) *Science* 285:103-106).

Nucleotide and corresponding amino acid sequences for schlafens B, C, D, E, and F (see, e.g., see Schwarz, et al. (1998) *Immunity* 9:657-668) are SEQ ID NO:42-51.

As used herein, the term DIRS4 shall be used to describe a protein comprising a
25 protein or peptide segment having or sharing the amino acid sequence shown in the SEQ ID NOs noted above, or a substantial fragment thereof. The invention also includes a protein variation of the respective DIRS4 allele whose sequence is provided, e.g., a mutin or soluble extracellular construct. Typically, such agonists or antagonists will exhibit less than about 10% sequence differences, and thus will often have between 1- and 11-fold substitutions, e.g.,
30 2-, 3-, 5-, 7-fold, and others. It also encompasses allelic and other variants, e.g., natural polymorphic, of the protein described. Typically, it will bind to its corresponding biological

WO 02/20569

PCT/US01/28013

11

ligand, perhaps in a dimerized state with a second receptor subunit, with high affinity, e.g., at least about 100 nM, usually better than about 30 nM, preferably better than about 10 nM, and more preferably at better than about 3 nM. The term shall also be used herein to refer to related naturally occurring forms, e.g., alleles, polymorphic variants, and metabolic variants of the mammalian protein.

Likewise, reference to the other genes described herein will be made. General descriptions directed to the methods of making or structural features will often be applicable to the other entities provided herein, e.g., the TNF α , TNF β , TLR-L1, TLR-L2, TLR-L3, TLR-L4, TLR-L5, TGF α , 5685C6, claudins D2, D8, D17, D7.2, and schlafens B, C, D, E, and F. Antibodies thereto, nucleic acids encoding them, etc., will be similarly applicable to the different entities.

This invention also encompasses proteins or peptides having substantial amino acid sequence identity with the amino acid sequences. It will include sequence variants with relatively few substitutions, e.g., preferably less than about 3-5.

A substantial polypeptide "fragment", or "segment", is a stretch of amino acid residues of at least about 8 amino acids, generally at least 10 amino acids, more generally at least 12 amino acids, often at least 14 amino acids, more often at least 16 amino acids, typically at least 18 amino acids, more typically at least 20 amino acids, usually at least 22 amino acids, more usually at least 24 amino acids, preferably at least 26 amino acids, more preferably at least 28 amino acids, and, in particularly preferred embodiments, at least about 30 or more amino acids. Sequences of segments of different proteins can be compared to one another over appropriate length stretches.

Fragments may have ends which begin and/or end at virtually all positions, e.g., beginning at residues 1, 2, 3, etc., and ending at, e.g., the carboxy-terminus (N), N-1, N-2, etc., in all practical combinations of different lengths. Particularly interesting polypeptides have one or both ends corresponding to structural domain or motif boundaries, as described, or of the designated lengths with one end adjacent one of the described boundaries. In nucleic acid embodiments, often segments which encode such polypeptides would be of particular interest.

Amino acid sequence homology, or sequence identity, is determined by optimizing residue matches. In some comparisons, gaps may be introduced, as required. See, e.g.,

WO 02/20569

PCT/US01/28013

12

Needleham, et al. (1970) J. Mol. Biol. 48:443-453; Sankoff, et al. (1983) chapter one in Time Warps, String Edits, and Macromolecules: The Theory and Practice of Sequence Comparison, Addison-Wesley, Reading, MA; and software packages from IntelliGenetics, Mountain View, CA; and the University of Wisconsin Genetics Computer Group (GCG), Madison, WI; each of which is incorporated herein by reference. This analysis is especially important when considering conservative substitutions as matches. Conservative substitutions typically include substitutions within the following groups: glycine, alanine; valine, isoleucine, leucine; aspartic acid, glutamic acid; asparagine, glutamine; serine, threonine; lysine, arginine; and phenylalanine, tyrosine. Homologous amino acid sequences are intended to include natural allelic and interspecies variations in the cytokine sequence. Typical homologous proteins or peptides will have from 50-100% homology (if gaps can be introduced), to 60-100% homology (if conservative substitutions are included) with an amino acid sequence segment of the appropriate SEQ ID NOs noted above. Homology measures will be at least about 70%, generally at least 76%, more generally at least 81%, often at least 85%, more often at least 88%, typically at least 90%, more typically at least 92%, usually at least 94%, more usually at least 95%, preferably at least 96%, and more preferably at least 97%, and in particularly preferred embodiments, at least 98% or more. The degree of homology will vary with the length of the compared segments. Homologous proteins or peptides, such as the allelic variants, will share most biological activities with the embodiments described individually, e.g., in the various tables.

As used herein, the term "biological activity" is used to describe, without limitation, effects on inflammatory responses, innate immunity, and/or morphogenic development by cytokine-like ligands. For example, the receptors typically should mediate phosphatase or phosphorylase activities, which activities are easily measured by standard procedures. See, e.g., Hardie, et al. (eds. 1995) The Protein Kinase FactBook vols. I and II, Academic Press, San Diego, CA; Hanks, et al. (1991) Meth. Enzymol. 200:38-62; Hunter, et al. (1992) Cell 70:375-388; Lewin (1990) Cell 61:743-752; Pines, et al. (1991) Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 56:449-463; and Parker, et al. (1993) Nature 363:736-738. The receptors, or portions thereof, may be useful as phosphate labeling enzymes to label general or specific substrates.

WO 02/20569

PCT/US01/28013

13

The terms ligand, agonist, antagonist, and analog of, e.g., a DIRS4_ include molecules that modulate the characteristic cellular responses to cytokine ligand proteins, as well as molecules possessing the more standard structural binding competition features of ligand-receptor interactions, e.g., where the receptor is a natural receptor or an antibody. The cellular responses likely are typically mediated through receptor tyrosine kinase pathways.

Also, a ligand is a molecule which serves either as a natural ligand to which said receptor, or an analog thereof, binds, or a molecule which is a functional analog of the natural ligand. The functional analog may be a ligand with structural modifications, or may be a wholly unrelated molecule which has a molecular shape which interacts with the appropriate ligand binding determinants. The ligands may serve as agonists or antagonists, see, e.g., Goodman, et al. (eds. 1990) Goodman & Gilman's: The Pharmacological Bases of Therapeutics, Pergamon Press, New York.

Rational drug design may also be based upon structural studies of the molecular shapes of a receptor or antibody and other effectors or ligands. See, e.g., Herz, et al. (1997) J. Recept. Signal Transduct. Res. 17:671-776; and Chaiken, et al. (1996) Trends Biotechnol. 14:369-375. Effectors may be other proteins which mediate other functions in response to ligand binding, or other proteins which normally interact with the receptor. One means for determining which sites interact with specific other proteins is a physical structure determination, e.g., x-ray crystallography or 2 dimensional NMR techniques. These will provide guidance as to which amino acid residues form molecular contact regions. For a detailed description of protein structural determination, see, e.g., Blundell and Johnson (1976) Protein Crystallography, Academic Press, New York, which is hereby incorporated herein by reference.

II. Activities

The cytokine receptor-like proteins will have a number of different biological activities, e.g., modulating cell proliferation, or in phosphate metabolism, being added to or removed from specific substrates, typically proteins. Such will generally result in modulation of an inflammatory function, other innate immunity response, or a morphological effect. The subunit will probably have a specific low affinity binding to the ligand.

WO 02/20569

PCT/US01/28013

14

Different receptors may mediate different signals. The TLR-L receptors may signal similar biology to the TLRs, which mediate fundamental innate immune or developmental responses. See, e.g., Aderem and Ulevitch (2000) *Nature* 406:782-787. The TNFs and TGF are likely to signal as cytokines, as may the 5685C6, which seemingly is expressed by Th2 cells. The 5685C6 genes appear to be secreted proteins, which exhibit a cleavable signal sequence.

The claudins appear to be membrane proteins exhibiting 4 transmembrane segments, and seem to be associated with tight junctions and/or paracellular transport. They may also affect epithelial permeability or conductances, e.g., ion, across membranes. The claudin-D2 member of the claudin family is found to have regulated expression correlating with Crohn's disease. The other family members exhibit differential regulation in disease states, e.g., in Crohn's disease, ulcerative colitis, and various interstitial lung diseases. This is consistent with an important role in these disease processes. A functional role in the tight junctions/paracellular transport is consistent with problems in intestinal physiology.

Claudins define a structurally related multi-gene family of 4 TM proteins with distinct tissue distribution patterns. The claudins are major structural proteins of tight junctions (TJs) and can promote their formation. Their expression is necessary but not sufficient for tight junction formation. When expressed in fibroblasts, claudin-1 is capable of inducing a continuous association of adjacent cells, resulting in a cobblestone like pattern. However, this continuous barrier is not a tight junction. Claudins can be found outside of tight junction in certain cells. Claudin-3 and claudin-4 are receptors for *Clostridium perfringens* enterotoxin, a causative agent of fluid accumulation in the intestinal tract, causing diarrhea. Claudin-5 is deleted in Velo-cardio-facial syndrome (VCFS). Claudin-5 is only expressed in endothelial cells, and in some tissues it is even further restricted to arterials.

Mutations in Paracellin-1, claudin family member and a major renal tight junction protein, cause renal magnesium wasting with nephrocalcinosis. Thus, claudins may play important roles in selective paracellular conductance by determining the permeability of different epithelia.

The schlafens are members of a family of proteins of whose members are growth regulatory genes. See, e.g., Schwarz, et al. (1998) *Immunity* 9:657-668. These novel human sequences are related to the mouse Schlafen2 gene. It was observed to be differentially

WO 02/20569

PCT/US01/28013

15

regulated in mouse IBD: Rag Hh+ (IL-10 treated) colon expression was higher than Rag Hh+ alone and mimicked the expression of Rag Hh-.

The DIRS4 has the characteristic extracellular motifs of a receptor signaling through the JAK pathway. See, e.g., Ihle, et al. (1997) Stem Cells 15(suppl. 1):105-111; Silvennoinen, et al. (1997) APMIS 105:497-509; Levy (1997) Cytokine Growth Factor Review 8:81-90; Winston and Hunter (1996) Current Biol. 6:668-671; Barrett (1996) Baillieres Clin. Gastroenterol. 10:1-15; and Briscoe, et al. (1996) Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci. 351:167-171.

The biological activities of the cytokine or other receptor subunits will be related to addition or removal of phosphate moieties to substrates, typically in a specific manner, but occasionally in a non specific manner. Substrates may be identified, or conditions for enzymatic activity may be assayed by standard methods, e.g., as described in Hardie, et al. (eds. 1995) The Protein Kinase FactBook vols. I and II, Academic Press, San Diego, CA; Hanks, et al. (1991) Meth. Enzymol. 200:38-62; Hunter, et al. (1992) Cell 70:375-388; Lewin (1990) Cell 61:743-752; Pines, et al. (1991) Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 56:449-463; and Parker, et al. (1993) Nature 363:736-738.

III. Nucleic Acids

This invention contemplates use of isolated nucleic acid or fragments, e.g., which encode these or closely related proteins, or fragments thereof, e.g., to encode a corresponding polypeptide, preferably one which is biologically active. In addition, this invention covers isolated or recombinant DNAs which encode such proteins or polypeptides having characteristic sequences of the DIRS4 or the other genes. Typically, the nucleic acid is capable of hybridizing, under appropriate conditions, with a nucleic acid sequence segment shown in the appropriate SEQ ID NOs noted above, but preferably not with other genes. Said biologically active protein or polypeptide can be a full length protein, or fragment, and will typically have a segment of amino acid sequence highly homologous, e.g., exhibiting significant stretches of identity, to ones described. Further, this invention covers the use of isolated or recombinant nucleic acid, or fragments thereof, which encode proteins having fragments which are equivalent to the described proteins. The isolated nucleic acids can have

WO 02/20569

PCT/US01/28013

16

the respective regulatory sequences in the 5' and 3' flanks, e.g., promoters, enhancers, poly-A addition signals, and others from the natural gene.

An "isolated" nucleic acid is a nucleic acid, e.g., an RNA, DNA, or a mixed polymer, which is substantially pure, e.g., separated from other components which naturally
5 accompany a native sequence, such as ribosomes, polymerases, and flanking genomic sequences from the originating species. The term embraces a nucleic acid sequence which has been removed from its naturally occurring environment, and includes recombinant or cloned DNA isolates, which are thereby distinguishable from naturally occurring compositions, and chemically synthesized analogs or analogs biologically synthesized by heterologous systems.
10 A substantially pure molecule includes isolated forms of the molecule, either completely or substantially pure.

An isolated nucleic acid will generally be a homogeneous composition of molecules, but will, in some embodiments, contain heterogeneity, preferably minor. This heterogeneity is typically found at the polymer ends or portions not critical to a desired biological function or
15 activity.

A "recombinant" nucleic acid is typically defined either by its method of production or its structure. In reference to its method of production, e.g., a product made by a process, the process is use of recombinant nucleic acid techniques, e.g., involving human intervention in the nucleotide sequence. Typically this intervention involves in vitro manipulation, although
20 under certain circumstances it may involve more classical animal breeding techniques. Alternatively, it can be a nucleic acid made by generating a sequence comprising fusion of two fragments which are not naturally contiguous to each other, but is meant to exclude products of nature, e.g., naturally occurring mutants as found in their natural state. Thus, for example, products made by transforming cells with an unnaturally occurring vector is encompassed, as
25 are nucleic acids comprising sequence derived using any synthetic oligonucleotide process. Such a process is often done to replace a codon with a redundant codon encoding the same or a conservative amino acid, while typically introducing or removing a restriction enzyme sequence recognition site. Alternatively, the process is performed to join together nucleic acid segments of desired functions to generate a single genetic entity comprising a desired
30 combination of functions not found in the commonly available natural forms, e.g., encoding a fusion protein. Restriction enzyme recognition sites are often the target of such artificial

WO 02/20569

PCT/US01/28013

17

manipulations, but other site specific targets, e.g., promoters, DNA replication sites, regulation sequences, control sequences, or other useful features may be incorporated by design. A similar concept is intended for a recombinant, e.g., fusion, polypeptide. This will include a dimeric repeat. Specifically included are synthetic nucleic acids which, by genetic

5 code redundancy, encode equivalent polypeptides to fragments of the described sequences and fusions of sequences from various different related molecules, e.g., other cytokine receptor family members.

A "fragment" in a nucleic acid context is a contiguous segment of at least about 17 nucleotides, generally at least 21 nucleotides, more generally at least 25 nucleotides, ordinarily

10 at least 30 nucleotides, more ordinarily at least 35 nucleotides, often at least 39 nucleotides, more often at least 45 nucleotides, typically at least 50 nucleotides, more typically at least 55 nucleotides, usually at least 60 nucleotides, more usually at least 66 nucleotides, preferably at least 72 nucleotides, more preferably at least 79 nucleotides, and in particularly preferred embodiments will be at least 85 or more nucleotides. Typically, fragments of different genetic

15 sequences can be compared to one another over appropriate length stretches, particularly defined segments such as the domains described below.

A nucleic acid which codes for, e.g., a DIRS4, will be particularly useful to identify genes, mRNA, and cDNA species which code for itself or closely related proteins, as well as DNAs which code for polymorphic, allelic, or other genetic variants, e.g., from different

20 individuals or related species. Other genes will be useful as markers for particular cell types, or diagnostic of various physiological conditions. Preferred probes for such screens may, in certain circumstances, be those regions of the gene which are conserved between different polymorphic variants or which contain nucleotides which lack specificity, and will preferably be full length or nearly so. In other situations, polymorphic variant specific sequences will be

25 more useful.

This invention further covers recombinant nucleic acid molecules and fragments having a nucleic acid sequence identical to or highly homologous to the isolated DNA set forth herein. In particular, the sequences will often be operably linked to DNA segments which control transcription, translation, and DNA replication. Alternatively, recombinant clones derived

30 from the genomic sequences, e.g., containing introns, will be useful for transgenic studies, including, e.g., transgenic cells and organisms, and for gene therapy. See, e.g., Goodnow

WO 02/20569

PCT/US01/28013

18

(1992) "Transgenic Animals" in Roitt (ed.) Encyclopedia of Immunology Academic Press, San Diego, pp. 1502-1504; Travis (1992) Science 256:1392-1394; Kuhn, et al. (1991) Science 254:707-710; Capecchi (1989) Science 244:1288; Robertson (1987)(ed.) Teratocarcinomas and Embryonic Stem Cells: A Practical Approach IRL Press, Oxford; and Rosenberg (1992) J. Clinical Oncology 10:180-199. Operable association of heterologous promoters with natural gene sequences is also provided, as are vectors encoding, e.g., the DIRS4 with a receptor partner. See, e.g., Treco, et al. WO96/29411 or USSN 08/406,030.

Homologous, or highly identical, nucleic acid sequences, when compared to one another, e.g., DIRS4 sequences, exhibit significant similarity. The standards for homology in nucleic acids are either measures for homology generally used in the art by sequence comparison or based upon hybridization conditions. Comparative hybridization conditions are described in greater detail below.

Substantial identity in the nucleic acid sequence comparison context means either that the segments, or their complementary strands, when compared, are identical when optimally aligned, with appropriate nucleotide insertions or deletions, in at least about 60% of the nucleotides, generally at least 66%, ordinarily at least 71%, often at least 76%, more often at least 80%, usually at least 84%, more usually at least 88%, typically at least 91%, more typically at least about 93%, preferably at least about 95%, more preferably at least about 96 to 98% or more, and in particular embodiments, as high at about 99% or more of the nucleotides, including, e.g., segments encoding structural domains such as the segments described below. Alternatively, substantial identity will exist when the segments will hybridize under selective hybridization conditions, to a strand or its complement, typically using a described sequence. Typically, selective hybridization will occur when there is at least about 55% homology over a stretch of at least about 14 nucleotides, more typically at least about 65%, preferably at least about 75%, and more preferably at least about 90%. See, Kanehisa (1984) Nucl. Acids Res. 12:203-213, which is incorporated herein by reference. The length of homology comparison, as described, may be over longer stretches, and in certain embodiments will be over a stretch of at least about 17 nucleotides, generally at least about 20 nucleotides, ordinarily at least about 24 nucleotides, usually at least about 28 nucleotides, typically at least about 32 nucleotides, more typically at least about 40 nucleotides, preferably at least about 50 nucleotides, and more preferably at least about 75 to 100 or more

WO 02/20569

PCT/US01/28013

19

nucleotides. This includes, e.g., 125, 150, 175, 200, 225, 250, 275, 300, 400, 500, 700, 900, and other lengths.

Stringent conditions, in referring to homology in the hybridization context, will be stringent combined conditions of salt, temperature, organic solvents, and other parameters typically controlled in hybridization reactions. Stringent temperature conditions will usually include temperatures in excess of about 30° C, more usually in excess of about 37° C, typically in excess of about 45° C, more typically in excess of about 55° C, preferably in excess of about 65° C, and more preferably in excess of about 70° C. Stringent salt conditions will ordinarily be less than about 500 mM, usually less than about 400 mM, more usually less than about 300 mM, typically less than about 200 mM, preferably less than about 100 mM, and more preferably less than about 80 mM, even down to less than about 20 mM. However, the combination of parameters is much more important than the measure of any single parameter. See, e.g., Wetmur and Davidson (1968) *J. Mol. Biol.* 31:349-370, which is hereby incorporated herein by reference.

The isolated DNA can be readily modified by nucleotide substitutions, nucleotide deletions, nucleotide insertions, and inversions of nucleotide stretches. These modifications result in novel DNA sequences which encode this protein or its derivatives. These modified sequences can be used to produce mutant proteins (muteins) or to enhance the expression of variant species. Enhanced expression may involve gene amplification, increased transcription, increased translation, and other mechanisms. Such mutant derivatives include predetermined or site-specific mutations of the protein or its fragments, including silent mutations using genetic code degeneracy. "Mutant DIRS4" as used herein encompasses a polypeptide otherwise falling within the homology definition of the DIRS4 as set forth above, but having an amino acid sequence which differs from that of other cytokine receptor-like proteins as found in nature, whether by way of deletion, substitution, or insertion. In particular, "site specific mutant DIRS4" encompasses a protein having substantial sequence identity with a protein of SEQ ID NO:2, and typically shares most of the biological activities or effects of the forms disclosed herein.

Although site specific mutation sites are predetermined, mutants need not be site specific. Mammalian DIRS4 mutagenesis can be achieved by making amino acid insertions or deletions in the gene, coupled with expression. Substitutions, deletions, insertions, or many

WO 02/20569

PCT/US01/28013

20

combinations may be generated to arrive at a final construct. Insertions include amino- or carboxy- terminal fusions. Random mutagenesis can be conducted at a target codon and the expressed mammalian DIRS4 mutants can then be screened for the desired activity, providing some aspect of a structure-activity relationship. Methods for making substitution mutations at predetermined sites in DNA having a known sequence are well known in the art, e.g., by M13 primer mutagenesis. See also Sambrook, et al. (1989) and Ausubel, et al. (1987 and periodic Supplements).

The mutations in the DNA normally should not place coding sequences out of reading frames and preferably will not create complementary regions that could hybridize to produce secondary mRNA structure such as loops or hairpins.

The phosphoramidite method described by Beaucage and Carruthers (1981) Tetra. Letts, 22:1859-1862, will produce suitable synthetic DNA fragments. A double stranded fragment will often be obtained either by synthesizing the complementary strand and annealing the strand together under appropriate conditions or by adding the complementary strand using DNA polymerase with an appropriate primer sequence.

Polymerase chain reaction (PCR) techniques can often be applied in mutagenesis. Alternatively, mutagenesis primers are commonly used methods for generating defined mutations at predetermined sites. See, e.g., Innis, et al. (eds. 1990) PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications Academic Press, San Diego, CA; and Dieffenbach and Dveksler (1995; eds.) PCR Primer: A Laboratory Manual Cold Spring Harbor Press, CSH, NY.

Antisense and other technologies for blocking expression of these genes are also available. See, e.g., Misquitta and Paterson (1999) Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 96:1451-1456.

IV. Proteins, Peptides

As described above, the present invention encompasses primate DIRS4, e.g., whose sequences are disclosed in SEQ ID NO:2, and described above. Allelic and other variants are also contemplated, including, e.g., fusion proteins combining portions of such sequences with others, including epitope tags and functional domains. Analogous methods and applications exist directed to the other genes described herein.

The present invention also provides recombinant proteins, e.g., heterologous fusion proteins using segments from these proteins. A heterologous fusion protein is a fusion of

WO 02/20569

PCT/US01/28013

21

proteins or segments which are naturally not normally fused in the same manner. Thus, e.g., the fusion product of a DIRS4 with another cytokine receptor is a continuous protein molecule having sequences fused in a typical peptide linkage, typically made as a single translation product and exhibiting properties, e.g., sequence or antigenicity, derived from each source peptide. A similar concept applies to heterologous nucleic acid sequences.

In addition, new constructs may be made from combining similar functional or structural domains from other related proteins, e.g., cytokine receptors or Toll-like receptor like genes, including species variants. For example, ligand-binding or other segments may be "swapped" between different new fusion polypeptides or fragments. See, e.g., Cunningham, et al. (1989) *Science* 243:1330-1336; and O'Dowd, et al. (1988) *J. Biol. Chem.* 263:15985-15992, each of which is incorporated herein by reference. Thus, new chimeric polypeptides exhibiting new combinations of specificities will result from the functional linkage of receptor-binding specificities. For example, the ligand binding domains from other related receptor molecules may be added or substituted for other domains of this or related proteins. The resulting protein will often have hybrid function and properties. For example, a fusion protein may include a targeting domain which may serve to provide sequestering of the fusion protein to a particular subcellular organelle.

Candidate fusion partners and sequences can be selected from various sequence data bases, e.g., GenBank, c/o IntelliGenetics, Mountain View, CA; and BCG, University of Wisconsin Biotechnology Computing Group, Madison, WI, which are each incorporated herein by reference.

The present invention particularly provides muteins which bind cytokine-like ligands, and/or which are affected in signal transduction. Structural alignment of human DIRS4 with other members of the cytokine receptor family show conserved features/residues. Alignment of the human DIRS4 sequence with other members of the cytokine receptor family indicates various structural and functionally shared features. See also, Bazan, et al. (1996) *Nature* 379:591; Lodi, et al. (1994) *Science* 263:1762-1766; Sayle and Milner-White (1995) *TIBS* 20:374-376; and Gronenberg, et al. (1991) *Protein Engineering* 4:263-269. Similarly, the other genes have related family members.

Substitutions with either mouse sequences or human sequences are particularly preferred. Conversely, conservative substitutions away from the ligand binding interaction

WO 02/20569

PCT/US01/28013

22

regions will probably preserve most signaling activities; and conservative substitutions away from the intracellular domains will probably preserve most ligand binding properties.

"Derivatives" of the various proteins include amino acid sequence mutants, glycosylation variants, metabolic derivatives, and covalent or aggregative conjugates with other chemical moieties. Covalent derivatives can be prepared by linkage of functionalities to groups which are found in amino acid side chains or at the N- or C- termini, e.g., by means which are well known in the art. These derivatives can include, without limitation, aliphatic esters or amides of the carboxyl terminus, or of residues containing carboxyl side chains, O-acyl derivatives of hydroxyl group-containing residues, and N-acyl derivatives of the amino terminal amino acid or amino-group containing residues, e.g., lysine or arginine. Acyl groups are selected from the group of alkyl-moieties, including C3 to C18 normal alkyl, thereby forming alkanoyl aryl species.

In particular, glycosylation alterations are included, e.g., made by modifying the glycosylation patterns of a polypeptide during its synthesis and processing, or in further processing steps. Particularly preferred means for accomplishing this are by exposing the polypeptide to glycosylating enzymes derived from cells which normally provide such processing, e.g., mammalian glycosylation enzymes. Deglycosylation enzymes are also contemplated. Also embraced are versions of the same primary amino acid sequence which have other minor modifications, including phosphorylated amino acid residues, e.g., phosphotyrosine, phosphoserine, or phosphothreonine.

A major group of derivatives are covalent conjugates of the proteins or fragments thereof with other proteins or polypeptides. These derivatives can be synthesized in recombinant culture such as N- or C-terminal fusions or by the use of agents known in the art for their usefulness in cross-linking proteins through reactive side groups. Preferred derivatization sites with cross-linking agents are at free amino groups, carbohydrate moieties, and cysteine residues.

Fusion polypeptides between the proteins and other homologous or heterologous proteins are also provided. Homologous polypeptides may be fusions between different proteins, resulting in, for instance, a hybrid protein exhibiting binding specificity for multiple different cytokine ligands, or a receptor which may have broadened or weakened specificity of substrate effect. Likewise, heterologous fusions may be constructed which would exhibit a

WO 02/20569

PCT/US01/28013

23

combination of properties or activities of the derivative proteins. Typical examples are fusions of a reporter polypeptide, e.g., luciferase, with a segment or domain of a receptor, e.g., a ligand-binding segment, so that the presence or location of a desired ligand may be easily determined. See, e.g., Dull, et al., U.S. Patent No. 4,859,609, which is hereby incorporated
5 herein by reference. Other gene fusion partners include glutathione-S-transferase (GST), bacterial β -galactosidase, trpE, Protein A, β -lactamase, alpha amylase, alcohol dehydrogenase, and yeast alpha mating factor. See, e.g., Godowski, et al. (1988) *Science* 241:812-816.

The phosphoramidite method described by Beaucage and Carruthers (1981) *Tetra-*
Letts, 22:1859-1862, will produce suitable synthetic DNA fragments. A double stranded
10 fragment will often be obtained either by synthesizing the complementary strand and annealing the strand together under appropriate conditions or by adding the complementary strand using DNA polymerase with an appropriate primer sequence.

Such polypeptides may also have amino acid residues which have been chemically modified by phosphorylation, sulfonation, biotinylation, or the addition or removal of other
15 moieties, particularly those which have molecular shapes similar to phosphate groups. In some embodiments, the modifications will be useful labeling reagents, or serve as purification targets, e.g., affinity ligands.

Fusion proteins will typically be made by either recombinant nucleic acid methods or by synthetic polypeptide methods. Techniques for nucleic acid manipulation and expression
20 are described generally, for example, in Sambrook, et al. (1989) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2d ed.), Vols. 1-3, Cold Spring Harbor Laboratory, and Ausubel, et al. (eds. 1987 and periodic supplements) *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene/Wiley, New York, which are each incorporated herein by reference. Techniques for synthesis of polypeptides are described, for example, in Merrifield (1963) *J. Amer. Chem. Soc.* 85:2149-
25 2156; Merrifield (1986) *Science* 232: 341-347; and Atherton, et al. (1989) *Solid Phase Peptide Synthesis: A Practical Approach*, IRL Press, Oxford; each of which is incorporated herein by reference. See also Dawson, et al. (1994) *Science* 266:776-779 for methods to make larger polypeptides.

This invention also contemplates the use of derivatives of these proteins other than
30 variations in amino acid sequence or glycosylation. Such derivatives may involve covalent or aggregative association with chemical moieties. These derivatives generally fall into three

WO 02/20569

PCT/US01/28013

24

classes: (1) salts, (2) side chain and terminal residue covalent modifications, and (3) adsorption complexes, for example with cell membranes. Such covalent or aggregative derivatives are useful as immunogens, as reagents in immunoassays, or in purification methods such as for affinity purification of a receptor or other binding molecule, e.g., an antibody. For example, a cytokine ligand can be immobilized by covalent bonding to a solid support such as cyanogen bromide-activated Sepharose, by methods which are well known in the art, or adsorbed onto polyolefin surfaces, with or without glutaraldehyde cross-linking, for use in the assay or purification of an cytokine receptor, antibodies, or other similar molecules. The ligand can also be labeled with a detectable group, for example radioiodinated by the chloramine T procedure, covalently bound to rare earth chelates, or conjugated to another fluorescent moiety for use in diagnostic assays.

A polypeptide of this invention can be used as an immunogen for the production of antisera or antibodies. These may be specific, e.g., capable of detecting or distinguishing between other related family members or various fragments thereof. The purified proteins can be used to screen monoclonal antibodies or antigen-binding fragments prepared by immunization with various forms of impure preparations containing the protein. In particular, the term "antibodies" also encompasses antigen binding fragments of natural antibodies, e.g., Fab, Fab2, Fv, etc. The purified proteins can also be used as a reagent to detect antibodies generated in response to the presence of elevated levels of expression, or immunological disorders which lead to antibody production to the endogenous receptor. Additionally, fragments may also serve as immunogens to produce the antibodies of the present invention. For example, this invention contemplates antibodies having binding affinity to or being raised against the amino acid sequences provided, fragments thereof, or various homologous peptides. In particular, this invention contemplates antibodies having binding affinity to, or having been raised against, specific fragments which are predicted to be, or actually are, exposed at the exterior protein surfaces.

The blocking of physiological response to the receptor ligands may result from the inhibition of binding of the ligand to the receptor, likely through competitive inhibition. Antibodies to ligands may be antagonists. Thus, in vitro assays of the present invention will often use antibodies or antigen binding segments of these antibodies, or fragments attached to

WO 02/20569

PCT/US01/28013

25

solid phase substrates. Assays will also allow for the diagnostic determination of the effects of mutations and modifications, e.g., which affect signaling or enzymatic function.

This invention also contemplates the use of competitive drug screening assays, e.g., where neutralizing antibodies to the receptor or fragments compete with a test compound for binding to a ligand or other antibody. In this manner, the neutralizing antibodies or fragments can be used to detect the presence of a polypeptide which shares one or more binding sites to a receptor and can also be used to occupy binding sites on a receptor that might otherwise bind a ligand.

10 V. Making Nucleic Acids and Protein

DNA which encodes the protein or fragments thereof can be obtained by chemical synthesis, screening cDNA libraries, or by screening genomic libraries prepared from a wide variety of cell lines or tissue samples. Natural sequences can be isolated using standard methods and the sequences provided herein. Other species counterparts can be identified by hybridization techniques, or by various PCR techniques, or combined with or by searching in sequence databases, e.g., GenBank.

This DNA can be expressed in a wide variety of host cells which can, in turn, e.g., be used to generate polyclonal or monoclonal antibodies; for binding studies; for construction and expression of modified constructs; and for structure/function studies. Variants or fragments can be expressed in host cells that are transformed or transfected with appropriate expression vectors. These molecules can be substantially free of protein or cellular contaminants, other than those derived from the recombinant host, and therefore are particularly useful in pharmaceutical compositions when combined with a pharmaceutically acceptable carrier and/or diluent. The protein, or portions thereof, may be expressed as fusions with other proteins.

Expression vectors are typically self-replicating DNA or RNA constructs containing the desired receptor gene or its fragments, usually operably linked to suitable genetic control elements that are recognized in a suitable host cell. These control elements are capable of effecting expression within a suitable host. The specific type of control elements necessary to effect expression will depend upon the eventual host cell used. Generally, the genetic control elements can include a prokaryotic promoter system or a eukaryotic promoter expression

WO 02/20569

PCT/US01/28013

26

control system, and typically include a transcriptional promoter, an optional operator to control the onset of transcription, transcription enhancers to elevate the level of mRNA expression, a sequence that encodes a suitable ribosome binding site, and sequences that terminate transcription and translation. Expression vectors also usually contain an origin of replication that allows the vector to replicate independently of the host cell.

5 The vectors of this invention include those which contain DNA which encodes a protein, as described, or a fragment thereof encoding a biologically active equivalent polypeptide. The DNA can be under the control of a viral promoter and can encode a selection marker. This invention further contemplates use of such expression vectors which are capable of expressing eukaryotic cDNA coding for such a protein in a prokaryotic or eukaryotic host, where the vector is compatible with the host and where the eukaryotic cDNA coding for the receptor is inserted into the vector such that growth of the host containing the vector expresses the cDNA in question. Usually, expression vectors are designed for stable replication in their host cells or for amplification to greatly increase the total number of copies of the desirable gene per cell. It is not always necessary to require that an expression vector replicate in a host cell, e.g., it is possible to effect transient expression of the protein or its fragments in various hosts using vectors that do not contain a replication origin that is recognized by the host cell. It is also possible to use vectors that cause integration of the protein encoding portion or its fragments into the host DNA by recombination.

20 Vectors, as used herein, comprise plasmids, viruses, bacteriophage, integratable DNA fragments, and other vehicles which enable the integration of DNA fragments into the genome of the host. Expression vectors are specialized vectors which contain genetic control elements that effect expression of operably linked genes. Plasmids are the most commonly used form of vector but all other forms of vectors which serve an equivalent function and which are, or become, known in the art are suitable for use herein. See, e.g., Pouwels, et al. (1985 and Supplements) Cloning Vectors: A Laboratory Manual, Elsevier, N.Y., and Rodriguez, et al. (eds. 1988) Vectors: A Survey of Molecular Cloning Vectors and Their Uses, Butterworth, Boston, which are incorporated herein by reference.

30 Transformed cells are cells, preferably mammalian, that have been transformed or transfected with receptor vectors constructed using recombinant DNA techniques.

WO 02/20569

PCT/US01/28013

27

Transformed host cells usually express the desired protein or its fragments, but for purposes of cloning, amplifying, and manipulating its DNA, do not need to express the subject protein. This invention further contemplates culturing transformed cells in a nutrient medium, thus permitting the receptor to accumulate in the cell membrane. The protein can be recovered, either from the culture or, in certain instances, from the culture medium.

For purposes of this invention, nucleic sequences are operably linked when they are functionally related to each other. For example, DNA for a presequence or secretory leader is operably linked to a polypeptide if it is expressed as a preprotein or participates in directing the polypeptide to the cell membrane or in secretion of the polypeptide. A promoter is operably linked to a coding sequence if it controls the transcription of the polypeptide; a ribosome binding site is operably linked to a coding sequence if it is positioned to permit translation. Usually, operably linked means contiguous and in reading frame, however, certain genetic elements such as repressor genes are not contiguously linked but still bind to operator sequences that in turn control expression.

Suitable host cells include prokaryotes, lower eukaryotes, and higher eukaryotes. Prokaryotes include both gram negative and gram positive organisms, e.g., E. coli and B. subtilis. Lower eukaryotes include yeasts, e.g., S. cerevisiae and Pichia, and species of the genus Dictyostelium. Higher eukaryotes include established tissue culture cell lines from animal cells, both of non-mammalian origin, e.g., insect cells, and birds, and of mammalian origin, e.g., human, primates, and rodents.

Prokaryotic host-vector systems include a wide variety of vectors for many different species. As used herein, E. coli and its vectors will be used generically to include equivalent vectors used in other prokaryotes. A representative vector for amplifying DNA is pBR322 or many of its derivatives. Vectors that can be used to express the receptor or its fragments include, but are not limited to, such vectors as those containing the lac promoter (pUC-series); trp promoter (pBR322-trp); Ipp promoter (the pIN-series); lambda-pP or pR promoters (pOTS); or hybrid promoters such as ptac (pDR540). See Brosius, et al. (1988) "Expression Vectors Employing Lambda-, trp-, lac-, and Ipp-derived Promoters", in Vectors: A Survey of Molecular Cloning Vectors and Their Uses, (eds. Rodriguez and Denhardt), Butterworth, Boston, Chapter 10, pp. 205-236, which is incorporated herein by reference.

WO 02/20569

PCT/US01/28013

28

Lower eukaryotes, e.g., yeasts and *Dictyostelium*, may be transformed with DIRS4 sequence containing vectors. For purposes of this invention, the most common lower eukaryotic host is the baker's yeast, *Saccharomyces cerevisiae*. It will be used to generically represent lower eukaryotes although a number of other strains and species are also available.

5 Yeast vectors typically consist of a replication origin (unless of the integrating type), a selection gene, a promoter, DNA encoding the receptor or its fragments, and sequences for translation termination, polyadenylation, and transcription termination. Suitable expression vectors for yeast include such constitutive promoters as 3-phosphoglycerate kinase and various other glycolytic enzyme gene promoters or such inducible promoters as the alcohol dehydrogenase 2 promoter or metallothionine promoter. Suitable vectors include derivatives
10 of the following types: self-replicating low copy number (such as the YRp-series), self-replicating high copy number (such as the YEpl-series); integrating types (such as the YIp-series), or mini-chromosomes (such as the YCp-series).

Higher eukaryotic tissue culture cells are normally the preferred host cells for
15 expression of the functionally active interleukin protein. In principle, many higher eukaryotic tissue culture cell lines are workable, e.g., insect baculovirus expression systems, whether from an invertebrate or vertebrate source. However, mammalian cells are preferred. Transformation or transfection and propagation of such cells has become a routine procedure. Examples of useful cell lines include HeLa cells, Chinese hamster ovary (CHO) cell lines, baby
20 rat kidney (BRK) cell lines, insect cell lines, bird cell lines, and monkey (COS) cell lines. Expression vectors for such cell lines usually include an origin of replication, a promoter, a translation initiation site, RNA splice sites (if genomic DNA is used), a polyadenylation site, and a transcription termination site. These vectors also usually contain a selection gene or amplification gene. Suitable expression vectors may be plasmids, viruses, or retroviruses
25 carrying promoters derived, e.g., from such sources as from adenovirus, SV40, parvoviruses, vaccinia virus, or cytomegalovirus. Representative examples of suitable expression vectors include pCDNA1; pCD, see Okayama, et al. (1985) *Mol. Cell Biol.* 5:1136-1142; pMC1neo PolyA, see Thomas, et al. (1987) *Cell* 51:503-512; and a baculovirus vector such as pAC 373 or pAC 610.

30 For secreted proteins, an open reading frame usually encodes a polypeptide that consists of a mature or secreted product covalently linked at its N-terminus to a signal

WO 02/20569

PCT/US01/28013

29

peptide. The signal peptide is cleaved prior to secretion of the mature, or active, polypeptide. The cleavage site can be predicted with a high degree of accuracy from empirical rules, e.g., von-Heijne (1986) Nucleic Acids Research 14:4683-4690 and Nielsen, et al. (1997) Protein Eng. 10:1-12, and the precise amino acid composition of the signal peptide often does not appear to be critical to its function, e.g., Randall, et al. (1989) Science 243:1156-1159; Kaiser et al. (1987) Science 235:312-317.

It will often be desired to express these polypeptides in a system which provides a specific or defined glycosylation pattern. In this case, the usual pattern will be that provided naturally by the expression system. However, the pattern will be modifiable by exposing the polypeptide, e.g., an unglycosylated form, to appropriate glycosylating proteins introduced into a heterologous expression system. For example, the gene may be co-transformed with one or more genes encoding mammalian or other glycosylating enzymes. Using this approach, certain mammalian glycosylation patterns will be achievable in prokaryote or other cells.

The source of protein can be a eukaryotic or prokaryotic host expressing recombinant gene, such as is described above. The source can also be a cell line such as mouse Swiss 3T3 fibroblasts, but other mammalian cell lines are also contemplated by this invention, with the preferred cell line being from the human species.

Now that the sequences are known, the primate protein, fragments, or derivatives thereof can be prepared by conventional processes for synthesizing peptides. These include processes such as are described in Stewart and Young (1984) Solid Phase Peptide Synthesis, Pierce Chemical Co., Rockford, IL; Bodanszky and Bodanszky (1984) The Practice of Peptide Synthesis, Springer-Verlag, New York; and Bodanszky (1984) The Principles of Peptide Synthesis, Springer-Verlag, New York; all of each which are incorporated herein by reference. For example, an azide process, an acid chloride process, an acid anhydride process, a mixed anhydride process, an active ester process (for example, p-nitrophenyl ester, N-hydroxysuccinimide ester, or cyanomethyl ester), a carbodiimide process, an oxidative-reductive process, or a dicyclohexylcarbodiimide (DCCD)/additive process can be used. Solid phase and solution phase syntheses are both applicable to the foregoing processes. Similar techniques can be used with partial polypeptide sequences.

The various proteins, fragments, or derivatives are suitably prepared in accordance with the above processes as typically employed in peptide synthesis, generally either by a

WO 02/20569

PCT/US01/28013

30

so-called stepwise process which comprises condensing an amino acid to the terminal amino acid, one by one in sequence, or by coupling peptide fragments to the terminal amino acid. Amino groups that are not being used in the coupling reaction typically must be protected to prevent coupling at an incorrect location.

5 If a solid phase synthesis is adopted, the C-terminal amino acid is bound to an insoluble carrier or support through its carboxyl group. The insoluble carrier is not particularly limited as long as it has a binding capability to a reactive carboxyl group. Examples of such insoluble carriers include halomethyl resins, such as chloromethyl resin or bromomethyl resin, hydroxymethyl resins, phenol resins, tert-alkyloxycarbonylhydrazidated
10 resins, and the like.

An amino group-protected amino acid is bound in sequence through condensation of its activated carboxyl group and the reactive amino group of the previously formed peptide or chain, to synthesize the peptide step by step. After synthesizing the complete sequence, the peptide is split off from the insoluble carrier to produce the peptide. This solid-phase
15 approach is generally described by Merrifield, et al. (1963) in J. Am. Chem. Soc. 85:2149-2156, which is incorporated herein by reference.

The prepared protein and fragments thereof can be isolated and purified from the reaction mixture by means of peptide separation, e.g., by extraction, precipitation, electrophoresis, various forms of chromatography, and the like. The proteins of this
20 invention can be obtained in varying degrees of purity depending upon desired uses. Purification can be accomplished by use of the protein purification techniques disclosed herein, see below, or by the use of the antibodies herein described in methods of immunoabsorbant affinity chromatography. This immunoabsorbant affinity chromatography is carried out by first linking the antibodies to a solid support and then contacting the linked
25 antibodies with solubilized lysates of appropriate cells, lysates of other cells expressing the receptor, or lysates or supernatants of cells producing the protein as a result of DNA techniques, see below.

Generally, the purified protein will be at least about 40% pure, ordinarily at least about 50% pure, usually at least about 60% pure, typically at least about 70% pure, more
30 typically at least about 80% pure, preferable at least about 90% pure and more preferably at least about 95% pure, and in particular embodiments, 97%-99% or more. Purity will usually

WO 02/20569

PCT/US01/28013

31

be on a weight basis, but can also be on a molar basis. Different assays will be applied as appropriate.

VI. Antibodies

5 Antibodies can be raised to the various mammalian, e.g., primate DIRS4, proteins and fragments thereof, both in naturally occurring native forms and in their recombinant forms, the difference being that antibodies to the active receptor are more likely to recognize epitopes which are only present in the native conformations. Denatured antigen detection can also be useful in, e.g., Western analysis. Anti-idiotypic antibodies are also contemplated, which
10 would be useful as agonists or antagonists of a natural receptor or an antibody.

 Antibodies, including binding fragments and single chain versions, against predetermined fragments of the protein can be raised by immunization of animals with conjugates of the fragments with immunogenic proteins. Monoclonal antibodies are prepared from cells secreting the desired antibody. These antibodies can be screened for binding to
15 normal or defective protein, or screened for agonistic or antagonistic activity. These monoclonal antibodies will usually bind with at least a K_D of about 1 mM, more usually at least about 300 μ M, typically at least about 100 μ M, more typically at least about 30 μ M, preferably at least about 10 μ M, and more preferably at least about 3 μ M or better.

 The antibodies, including antigen binding fragments, of this invention can have
20 significant diagnostic or therapeutic value. They can be potent agonists or antagonists, e.g., that bind to the receptor and inhibit or simulate binding to ligand, or inhibit the ability of the receptor to elicit a biological response, e.g., act on its substrate. They also can be useful as non-neutralizing antibodies or for use as markers for detection or diagnosis, and can be coupled to toxins or radionuclides to bind producing cells. Further, these antibodies can be
25 conjugated to drugs or other therapeutic agents, either directly or indirectly by means of a linker.

 The antibodies of this invention can also be useful in diagnostic applications. As capture or non-neutralizing antibodies, they might bind to the antigen without inhibiting, e.g., ligand or substrate binding. As neutralizing antibodies, they can be useful in competitive
30 binding assays. They will also be useful in detecting or quantifying antigen. They may be

WO 02/20569

PCT/US01/28013

32

used as reagents for Western blot analysis, or for immunoprecipitation or immunopurification of the respective protein.

Protein fragments may be joined to other materials, particularly polypeptides, as fused or covalently joined polypeptides to be used as immunogens. Mammalian cytokine receptors, cytokines, enzymes, marker proteins, and fragments may be fused or covalently linked to a variety of immunogens, such as keyhole limpet hemocyanin, bovine serum albumin, tetanus toxoid, etc. See Microbiology, Hoeber Medical Division, Harper and Row, 1969; Landsteiner (1962) Specificity of Serological Reactions, Dover Publications, New York; and Williams, et al. (1967) Methods in Immunology and Immunochemistry, Vol. 1, Academic Press, New York; each of which are incorporated herein by reference, for descriptions of methods of preparing polyclonal antisera. A typical method involves hyperimmunization of an animal with an antigen. The blood of the animal is then collected shortly after the repeated immunizations and the gamma globulin is isolated.

In some instances, it is desirable to prepare monoclonal antibodies from various mammalian hosts, such as mice, rodents, primates, humans, etc. Description of techniques for preparing such monoclonal antibodies may be found in, e.g., Stites, et al. (eds.) Basic and Clinical Immunology (4th ed.), Lange Medical Publications, Los Altos, CA, and references cited therein; Harlow and Lane (1988) Antibodies: A Laboratory Manual, CSH Press; Goding (1986) Monoclonal Antibodies: Principles and Practice (2d ed.) Academic Press, New York; and particularly in Kohler and Milstein (1975) in Nature 256: 495-497, which discusses one method of generating monoclonal antibodies. Summarized briefly, this method involves injecting an animal with an immunogen. The animal is then sacrificed and cells taken from its spleen, which are then fused with myeloma cells. The result is a hybrid cell or "hybridoma" that is capable of reproducing in vitro. The population of hybridomas is then screened to isolate individual clones, each of which secrete a single antibody species to the immunogen. In this manner, the individual antibody species obtained are the products of immortalized and cloned single B cells from the immune animal generated in response to a specific site recognized on the immunogenic substance.

Other suitable techniques involve in vitro exposure of lymphocytes to the antigenic polypeptides or alternatively to selection of libraries of antibodies in phage or similar vectors. See, Huse, et al. (1989) "Generation of a Large Combinatorial Library of the Immunoglobulin

WO 02/20569

PCT/US01/28013

33

Repertoire in Phage Lambda," *Science* 246:1275-1281; and Ward, et al. (1989) *Nature* 341:544-546. The polypeptides and antibodies of the present invention may be used with or without modification, including chimeric or humanized antibodies. Frequently, the polypeptides and antibodies will be labeled by joining, either covalently or non-covalently, a substance which provides for a detectable signal. A wide variety of labels and conjugation techniques are known and are reported extensively in both the scientific and patent literature. Suitable labels include radionuclides, enzymes, substrates, cofactors, inhibitors, fluorescent moieties, chemiluminescent moieties, magnetic particles, and the like. Patents, teaching the use of such labels include U.S. Patent Nos. 3,817,837; 3,850,752; 3,939,350; 3,996,345; 4,277,437; 4,275,149; and 4,366,241. Also, recombinant or chimeric immunoglobulins may be produced, see Cabilly, U.S. Patent No. 4,816,567; or made in transgenic mice, see Mendez, et al. (1997) *Nature Genetics* 15:146-156.

The antibodies of this invention can also be used for affinity chromatography in isolating the proteins or peptides. Columns can be prepared where the antibodies are linked to a solid support, e.g., particles, such as agarose, Sephadex, or the like, where a cell lysate may be passed through the column, the column washed, followed by increasing concentrations of a mild denaturant, whereby the purified protein will be released. Conversely, the protein may be used to purify antibody by immunoselection.

The antibodies may also be used to screen expression libraries for particular expression products. Usually the antibodies used in such a procedure will be labeled with a moiety allowing easy detection of presence of antigen by antibody binding.

Antibodies raised against a protein will also be used to raise anti-idiotypic antibodies. These will be useful in detecting or diagnosing various immunological conditions related to expression of the protein or cells which express the protein. They also will be useful as agonists or antagonists of a ligand, which may be competitive inhibitors or substitutes for naturally occurring ligands.

A target protein that specifically binds to or that is specifically immunoreactive with an antibody generated against it, such as an immunogen consisting of a described amino acid sequence, is typically determined in an immunoassay. The immunoassay typically uses a polyclonal antiserum which was raised, e.g., to a protein of SEQ ID NO: 2. This antiserum is selected to have low crossreactivity against other cytokine receptor family members, e.g., IFN

WO 02/20569

PCT/US01/28013

34

receptor subunits, preferably from the same species, and any such crossreactivity is removed by immunoabsorption prior to use in the immunoassay.

In order to produce antisera for use in an immunoassay, the protein, e.g., of SEQ ID NO: 2, is isolated as described herein. For example, recombinant protein may be produced in a mammalian cell line. An appropriate host, e.g., an inbred strain of mice such as Balb/c, is immunized with the selected protein, typically using a standard adjuvant, such as Freund's adjuvant, and a standard mouse immunization protocol (see Harlow and Lane, supra). Alternatively, a synthetic peptide derived from the sequences disclosed herein and conjugated to a carrier protein can be used as an immunogen. Polyclonal sera are collected and titered against the immunogen protein in an immunoassay, e.g., a solid phase immunoassay with the immunogen immobilized on a solid support. Polyclonal antisera with a titer of 10^4 or greater are selected and tested for their cross reactivity against other cytokine receptor family members, e.g., receptors aligned in Figure 1, using a competitive binding immunoassay such as the one described in Harlow and Lane, supra, at pages 570-573. Preferably at least two cytokine receptor family members are used in this determination. These cytokine receptor family members can be produced as recombinant proteins and isolated using standard molecular biology and protein chemistry techniques as described herein.

Immunoassays in the competitive binding format can be used for the crossreactivity determinations. For example, the protein of SEQ ID NO: 2 can be immobilized to a solid support. Proteins added to the assay compete with the binding of the antisera to the immobilized antigen. The ability of the above proteins to compete with the binding of the antisera to the immobilized protein is compared to selected other receptor subunits. The percent crossreactivity for the above proteins is calculated, using standard calculations. Those antisera with less than 10% crossreactivity with each of the proteins listed above are selected and pooled. The cross-reacting antibodies are then removed from the pooled antisera by immunoabsorption with the above-listed proteins.

The immunoabsorbed and pooled antisera are then used in a competitive binding immunoassay as described above to compare a second protein to the immunogen protein. In order to make this comparison, the two proteins are each assayed at a wide range of concentrations and the amount of each protein required to inhibit 50% of the binding of the antisera to the immobilized protein is determined. If the amount of the second protein

WO 02/20569

PCT/US01/28013

35

required is less than twice the amount of the protein of the selected protein or proteins that is required, then the second protein is said to specifically bind to an antibody generated to the immunogen.

It is understood that these proteins are members of families of homologous proteins.

- 5 For a particular gene product, such as the DIRS4, the term refers not only to the amino acid sequences disclosed herein, but also to other proteins that are allelic, non-allelic, or species variants. It is also understood that the terms include nonnatural mutations introduced by deliberate mutation using conventional recombinant technology such as single site mutation, or by excising short sections of DNA encoding the respective proteins, or by substituting new
- 10 amino acids, or adding new amino acids. Such minor alterations typically will substantially maintain the immunoidentity of the original molecule and/or its biological activity. Thus, these alterations include proteins that are specifically immunoreactive with a designated naturally occurring DIRS4 protein. The biological properties of the altered proteins can be determined by expressing the protein in an appropriate cell line and measuring the appropriate
- 15 effect, e.g., upon transfected lymphocytes. Particular protein modifications considered minor would include conservative substitution of amino acids with similar chemical properties, as described above for the cytokine receptor family as a whole. By aligning a protein optimally with the protein of the cytokine receptors and by using the conventional immunoassays described herein to determine immunoidentity, one can determine the protein compositions of
- 20 the invention.

VII. Kits and quantitation

- Both naturally occurring and recombinant forms of the molecules of this invention are particularly useful in kits and assay methods. For example, these methods would also be
- 25 applied to screening for binding activity, e.g., ligands or receptors for these proteins. Several methods of automating assays have been developed in recent years so as to permit screening of tens of thousands of compounds per year. See, e.g., a BIOMEK automated workstation, Beckman Instruments, Palo Alto, California, and Fodor, et al. (1991) *Science* 251:767-773, which is incorporated herein by reference. The latter describes means for testing binding by a
- 30 plurality of defined polymers synthesized on a solid substrate. The development of suitable assays to screen for a ligand or agonist/antagonist homologous proteins can be greatly

WO 02/20569

PCT/US01/28013

36

facilitated by the availability of large amounts of purified, soluble cytokine receptors in an active state such as is provided by this invention. Alternatively, production of large amounts of ligand will be useful in screening for receptor. Markers will also be available in large amounts to generate specific reagents.

5 Purified protein, e.g., DIRS4, can be coated directly onto plates or otherwise presented for use in the ligand or antibody screening techniques. However, non-neutralizing antibodies to these proteins can be used as capture antibodies to immobilize the respective receptor on the solid phase, useful, e.g., in diagnostic uses.

10 This invention also contemplates use of, e.g., DIRS4, fragments thereof, peptides, and their fusion products in a variety of diagnostic kits and methods for detecting the presence of the protein or its ligand. Alternatively, or additionally, antibodies against the molecules may be incorporated into the kits and methods. Typically the kit will have a compartment containing either a peptide or gene segment or a reagent which recognizes one or the other. Typically, recognition reagents, in the case of peptide, would be a receptor or antibody, or in
15 the case of a gene segment, would usually be a hybridization probe. Diagnostic applications will be useful for the markers, as described.

A preferred kit for determining the concentration of, e.g., DIRS4, in a sample would typically comprise a labeled compound, e.g., ligand or antibody, having known binding affinity for DIRS4, a source of DIRS4 (naturally occurring or recombinant) as a positive
20 control, and a means for separating the bound from free labeled compound, for example a solid phase for immobilizing the DIRS4 in the test sample. Compartments containing reagents, and instructions, will normally be provided.

Antibodies, including antigen binding fragments, specific for mammalian claudins or schlafens or a peptide fragment, or receptor fragments are useful in diagnostic applications to
25 detect the presence of elevated levels of protein and/or its fragments. Diagnostic assays may be homogeneous (without a separation step between free reagent and antibody-antigen complex) or heterogeneous (with a separation step). Various commercial assays exist, such as radioimmunoassay (RIA), enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), enzyme immunoassay (EIA), enzyme-multiplied immunoassay technique (EMIT), substrate-labeled
30 fluorescent immunoassay (SLFIA) and the like. For example, unlabeled antibodies can be employed by using a second antibody which is labeled and which recognizes the antibody to a

WO 02/20569

PCT/US01/28013

37

cytokine receptor or to a particular fragment thereof. These assays have also been extensively discussed in the literature. See, e.g., Harlow and Lane (1988) Antibodies: A Laboratory Manual, CSH., and Coligan (ed. 1991 and periodic supplements) Current Protocols In Immunology Greene/Wiley, New York.

5 Anti-idiotypic antibodies may have similar use to serve as agonists or antagonists of cytokine receptors or ligands. These should be useful as therapeutic reagents under appropriate circumstances.

Frequently, the reagents for diagnostic assays are supplied in kits, so as to optimize the sensitivity of the assay. For the subject invention, depending upon the nature of the
10 assay, the protocol, and the label, either labeled or unlabeled antibody, or labeled ligand is provided. This is usually in conjunction with other additives, such as buffers, stabilizers, materials necessary for signal production such as substrates for enzymes, and the like. Preferably, the kit will also contain instructions for proper use and disposal of the contents after use. Typically the kit has compartments for each useful reagent, and will contain
15 instructions for proper use and disposal of reagents. Desirably, the reagents are provided as a dry lyophilized powder, where the reagents may be reconstituted in an aqueous medium having appropriate concentrations for performing the assay.

The aforementioned constituents of the diagnostic assays may be used without modification or may be modified in a variety of ways. For example, labeling may be achieved
20 by covalently or non-covalently joining a moiety which directly or indirectly provides a detectable signal. In many of these assays, a test compound, cytokine receptor, ligand, or antibodies thereto can be labeled either directly or indirectly. Possibilities for direct labeling include label groups: radiolabels such as ^{125}I , enzymes (U.S. Pat. No. 3,645,090) such as peroxidase and alkaline phosphatase, and fluorescent labels (U.S. Pat. No. 3,940,475) capable
25 of monitoring the change in fluorescence intensity, wavelength shift, or fluorescence polarization. Both of the patents are incorporated herein by reference. Possibilities for indirect labeling include biotinylation of one constituent followed by binding to avidin coupled to one of the above label groups.

There are also numerous methods of separating the bound from the free ligand, or
30 alternatively the bound from the free test compound. The cytokine receptor can be immobilized on various matrixes followed by washing. Suitable matrices include plastic such

WO 02/20569

PCT/US01/28013

38

as an ELISA plate, filters, and beads. Methods of immobilizing the receptor to a matrix include, without limitation, direct adhesion to plastic, use of a capture antibody, chemical coupling, and biotin-avidin. The last step in this approach involves the precipitation of antibody/antigen complex by any of several methods including those utilizing, e.g., an organic solvent such as polyethylene glycol or a salt such as ammonium sulfate. Other suitable separation techniques include, without limitation, the fluorescein antibody magnetizable particle method described in Rattle, et al. (1984) *Clin. Chem.* 30(9):1457-1461, and the double antibody magnetic particle separation as described in U.S. Pat. No. 4,659,678, each of which is incorporated herein by reference.

Methods for linking protein or fragments to various labels are well reported in the literature. Many of the techniques involve the use of activated carboxyl groups either through the use of carbodiimide or active esters to form peptide bonds, the formation of thioethers by reaction of a mercapto group with an activated halogen such as chloroacetyl, or an activated olefin such as maleimide, for linkage, or the like. Fusion proteins will also find use in these applications.

Another diagnostic aspect of this invention involves use of oligonucleotide or polynucleotide sequences taken from the sequences provided. These sequences can be used as probes for detecting levels of the respective genes or transcripts in patients suspected of having an immunological or other medical disorder. The preparation of both RNA and DNA nucleotide sequences, the labeling of the sequences, and the preferred size of the sequences has received ample description and discussion in the literature. Normally an oligonucleotide probe should have at least about 14 nucleotides, usually at least about 18 nucleotides, and the polynucleotide probes may be up to several kilobases. Various labels may be employed, most commonly radionuclides, particularly ^{32}P . However, other techniques may also be employed, such as using biotin modified nucleotides for introduction into a polynucleotide. The biotin then serves as the site for binding to avidin or antibodies, which may be labeled with a wide variety of labels, such as radionuclides, fluorescers, enzymes, or the like. Alternatively, antibodies may be employed which can recognize specific duplexes, including DNA duplexes, RNA duplexes, DNA-RNA hybrid duplexes, or DNA-protein duplexes. The antibodies in turn may be labeled and the assay carried out where the duplex is bound to a surface, so that upon the formation of duplex on the surface, the presence of antibody bound to the duplex

WO 02/20569

PCT/US01/28013

39

can be detected. The use of probes to the novel anti-sense RNA may be carried out in conventional techniques such as nucleic acid hybridization, plus and minus screening, recombinational probing, hybrid released translation (HRT), and hybrid arrested translation (HART). This also includes amplification techniques such as polymerase chain reaction (PCR).

Diagnostic kits which also test for the qualitative or quantitative presence of other markers are also contemplated. Diagnosis or prognosis may depend on the combination of multiple indications used as markers. Thus, kits may test for combinations of markers. See, e.g., Viallet, et al. (1989) Progress in Growth Factor Res. 1:89-97.

VIII. Therapeutic Utility

This invention provides reagents with significant therapeutic value. See, e.g., Levitzki (1996) Curr. Opin. Cell Biol. 8:239-244. The cytokine receptors (naturally occurring or recombinant), fragments thereof, mutein receptors, and antibodies, along with compounds identified as having binding affinity to the receptors or antibodies, should be useful in the treatment of conditions exhibiting abnormal expression of the receptors of their ligands. Such abnormality will typically be manifested by immunological or other disorders. Additionally, this invention should provide therapeutic value in various diseases or disorders associated with abnormal expression or abnormal triggering of response to the ligand. The biology of interferons, IL-10, TNFs, and TGFs are well described. Conversely, the TLRs have also been the subject of much interest, and the described homologs described herein will also be of similar interest. Associations with significant medical conditions for the claudins and schlafens is described below.

Recombinant proteins, muteins, agonist or antagonist antibodies thereto, or antibodies can be purified and then administered to a patient. These reagents can be combined for therapeutic use with additional active ingredients, e.g., in conventional pharmaceutically acceptable carriers or diluents, along with physiologically innocuous stabilizers and excipients. These combinations can be sterile, e.g., filtered, and placed into dosage forms as by lyophilization in dosage vials or storage in stabilized aqueous preparations. This invention also contemplates use of antibodies or binding fragments thereof which are not complement binding.

Ligand screening using receptor or fragments thereof can be performed to identify molecules having binding affinity to the receptors. Subsequent biological assays can then be utilized to determine if a putative ligand can provide competitive binding, which can block intrinsic stimulating activity. Receptor fragments can be used as a blocker or antagonist in that it blocks the activity of ligand. Likewise, a compound having intrinsic stimulating activity can activate the receptor and is thus an agonist in that it simulates the activity of ligand, e.g., inducing signaling. This invention further contemplates the therapeutic use of antibodies to cytokine receptors as antagonists.

Conversely, receptor screening for receptors for ligands can be performed. However, ligands can also be screened for function using biological assays, which are typically simple due to the soluble nature of the ligands.

The quantities of reagents necessary for effective therapy will depend upon many different factors, including means of administration, target site, reagent physiological life, pharmacological life, physiological state of the patient, and other medicants administered. Thus, treatment dosages should be titrated to optimize safety and efficacy. Typically, dosages used in vitro may provide useful guidance in the amounts useful for in situ administration of these reagents. Animal testing of effective doses for treatment of particular disorders will provide further predictive indication of human dosage. Various considerations are described, e.g., in Gilman, et al. (eds. 1990) Goodman and Gilman's: The Pharmacological Bases of Therapeutics, 8th Ed., Pergamon Press; and Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed. (1990), Mack Publishing Co., Easton, Penn.; each of which is hereby incorporated herein by reference. Methods for administration are discussed therein and below, e.g., for oral, intravenous, intraperitoneal, or intramuscular administration, transdermal diffusion, and others. Pharmaceutically acceptable carriers will include water, saline, buffers, and other compounds described, e.g., in the Merck Index, Merck & Co., Rahway, New Jersey. Dosage ranges would ordinarily be expected to be in amounts lower than 1 mM concentrations, typically less than about 10 μ M concentrations, usually less than about 100 nM, preferably less than about 10 pM (picomolar), and most preferably less than about 1 fM (femtomolar), with an appropriate carrier. Slow release formulations, or slow release apparatus will often be utilized for continuous administration.

Cytokines, receptors, fragments thereof, and antibodies or its fragments, antagonists, and agonists, may be administered directly to the host to be treated or, depending on the size of the compounds, it may be desirable to conjugate them to carrier proteins such as ovalbumin or serum albumin prior to their administration. Therapeutic formulations may be administered
5 in many conventional dosage formulations. While it is possible for the active ingredient to be administered alone, it is preferable to present it as a pharmaceutical formulation. Formulations comprise at least one active ingredient, as defined above, together with one or more acceptable carriers thereof. Each carrier must be both pharmaceutically and physiologically acceptable in the sense of being compatible with the other ingredients and not
10 injurious to the patient. Formulations include those suitable for oral, rectal, nasal, or parenteral (including subcutaneous, intramuscular, intravenous and intradermal) administration. The formulations may conveniently be presented in unit dosage form and may be prepared by methods well known in the art of pharmacy. See, e.g., Gilman, et al. (eds. 1990) Goodman and Gilman's: The Pharmacological Bases of Therapeutics, 8th Ed., Pergamon Press; and Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed. (1990), Mack Publishing Co., Easton, Penn.; Avis, et al. (eds. 1993) Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications Dekker, NY; Lieberman, et al. (eds. 1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets Dekker, NY; and Lieberman, et al. (eds. 1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems Dekker, NY. The therapy of this invention may be combined with or used in
15 association with other therapeutic agents, e.g., agonists or antagonists of other cytokine receptor family members.
20

IX. Screening

Drug screening using DIRS4, TLR-L receptors, or fragments thereof can be performed
25 to identify compounds having binding affinity to the receptor subunits, including isolation of associated components. See, e.g., Emory and Schlegel (1996) Cost-Effective Strategies for Automated and Accelerated High-Throughput Screening IBC, Inc., Southborough, MA. Subsequent biological assays can then be utilized to determine if the compound has intrinsic stimulating activity and is therefore a blocker or antagonist in that it blocks the activity of the
30 ligand. Likewise, a compound having intrinsic stimulating activity can activate the receptor and is thus an agonist in that it simulates the activity of a cytokine ligand. This invention

WO 02/20569

PCT/US01/28013

42

further contemplates the therapeutic use of antibodies to the receptor as cytokine agonists or antagonists.

Conversely, for ligands, receptors may be screened. Orphan receptor subunits, or testing of known receptor subunits in known or novel pairings may be performed.

- 5 One method of drug screening utilizes eukaryotic or prokaryotic host cells which are stably transformed with recombinant DNA molecules expressing the DIRS4 or TLR-L receptors. Cells may be isolated which express a receptor in isolation from other functional receptors, or in combination with other specific subunits. Such cells, either in viable or fixed form, can be used for standard ligand/receptor binding assays. See also, Parce, et al. (1989) 10 *Science* 246:243-247; and Owicki, et al. (1990) *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 87:4007-4011, which describe sensitive methods to detect cellular responses. Competitive assays are particularly useful, where the cells (source of putative ligand) are contacted and incubated with a labeled receptor or antibody having known binding affinity to the ligand, such as ^{125}I - 15 antibody, and a test sample whose binding affinity to the binding composition is being measured. The bound and free labeled binding compositions are then separated to assess the degree of ligand binding. The amount of test compound bound is inversely proportional to the amount of labeled receptor binding to the known source. Any one of numerous techniques can be used to separate bound from free ligand to assess the degree of ligand binding. This separation step could typically involve a procedure such as adhesion to filters followed by 20 washing, adhesion to plastic followed by washing, or centrifugation of the cell membranes. Viable cells could also be used to screen for the effects of drugs on cytokine mediated functions, e.g., second messenger levels, i.e., Ca^{++} ; cell proliferation; inositol phosphate pool changes; and others. Some detection methods allow for elimination of a separation step, e.g., a proximity sensitive detection system. Calcium sensitive dyes will be useful for detecting 25 Ca^{++} levels, with a fluorimeter or a fluorescence cell sorting apparatus.

X. Ligands

- The descriptions of the DIRS4 and TLR-L receptors herein provide means to identify ligands, as described above. Such ligand should bind specifically to the respective receptor 30 with reasonably high affinity. Various constructs are made available which allow either labeling of the receptor to detect its ligand. For example, directly labeling cytokine receptor,

WO 02/20569

PCT/US01/28013

43

fusing onto it markers for secondary labeling, e.g., FLAG or other epitope tags, etc., will allow detection of receptor. This can be histological, as an affinity method for biochemical purification, or labeling or selection in an expression cloning approach. A two-hybrid selection system may also be applied making appropriate constructs with the available

5 cytokine receptor sequences. See, e.g., Fields and Song (1989) Nature 340:245-246.

Generally, descriptions of cytokine receptors will be analogously applicable to individual specific embodiments directed to DIRS4 or TLR-L reagents and compositions. Conversely, soluble ligands, e.g., TNFs and TGFs, will be characterized for biological activity.

The broad scope of this invention is best understood with reference to the following

10 examples, which are not intended to limit the inventions to the specific embodiments.

EXAMPLES

I. General Methods

15 Some of the standard methods are described or referenced, e.g., in Maniatis, et al. (1982) Molecular Cloning. A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Press; Sambrook, et al. (1989) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, (2d ed.), vols. 1-3, CSH Press, NY; Ausubel, et al., Biology, Greene Publishing Associates, Brooklyn, NY; or Ausubel, et al. (1987 and Supplements) Current Protocols in Molecular

20 Biology, Greene/Wiley, New York. Methods for protein purification include such methods as ammonium sulfate precipitation, column chromatography, electrophoresis, centrifugation, crystallization, and others. See, e.g., Ausubel, et al. (1987 and periodic supplements); Coligan, et al. (ed. 1996) and periodic supplements, Current Protocols in Protein Science Greene/Wiley, New York; Deutscher (1990) "Guide to Protein Purification" in Methods in

25 Enzymology, vol. 182, and other volumes in this series; and manufacturer's literature on use of protein purification products, e.g., Pharmacia, Piscataway, N.J., or Bio-Rad, Richmond, CA. Combination with recombinant techniques allow fusion to appropriate segments, e.g., to a FLAG sequence or an equivalent which can be fused via a protease-removable sequence. See, e.g., Hochuli (1989) Chemische Industrie 12:69-70; Hochuli (1990) "Purification of

30 Recombinant Proteins with Metal Chelate Absorbent" in Setlow (ed.) Genetic Engineering,

WO 02/20569

PCT/US01/28013

44

Principle and Methods 12:87-98, Plenum Press, N.Y.; and Crowe, et al. (1992) QIAexpress: The High Level Expression & Protein Purification System QUIAGEN, Inc., Chatsworth, CA.

Computer sequence analysis is performed, e.g., using available software programs, including those from the GCG (U. Wisconsin) and GenBank sources. Public sequence
5 databases were also used, e.g., from GenBank and others.

Many techniques applicable to IL-10 or IL-12 receptors may be applied to the DIRS4 or other receptor subunits, as described, e.g., in USSN 08/110,683 (IL-10 receptor), which is incorporated herein by reference.

10 II. Computational Analysis

Human sequences were identified from genomic sequence database using, e.g., the BLAST server (Altschul, et al. (1994) Nature Genet. 6:119-129). Standard analysis programs may be used to evaluate structure, e.g., PHD (Rost and Sander (1994) Proteins 19:55-72) and DSC (King and Sternberg (1996) Protein Sci. 5:2298-2310). Standard comparison software
15 includes, e.g., Altschul, et al. (1990) J. Mol. Biol. 215:403-10; Waterman (1995) Introduction to Computational Biology: Maps, Sequences, and Genomes Chapman & Hall; Lander and Waterman (eds. 1995) Calculating the Secrets of Life: Applications of the Mathematical Sciences in Molecular Biology National Academy Press; and Speed and Waterman (eds. 1996) Genetic Mapping and DNA Sequencing (Ima Volumes in Mathematics and Its Applications,
20 Vol 81) Springer Verlag.

III. Cloning of full-length cDNAs; Chromosomal localization

PCR primers derived from the sequences are used to probe a human cDNA library. Full length cDNAs for primate, rodent, or other species DIRS4 are cloned, e.g., by DNA
25 hybridization screening of λ gt10 phage. PCR reactions are conducted using T. aquaticus Taqplus DNA polymerase (Stratagene) under appropriate conditions.

Chromosome spreads are prepared. In situ hybridization is performed on chromosome preparations obtained from phytohemagglutinin-stimulated human lymphocytes cultured for 72 h. 5-bromodeoxyuridine was added for the final seven hours of culture (60
30 μ g/ml of medium), to ensure a posthybridization chromosomal banding of good quality.

WO 02/20569

PCT/US01/28013

45

A PCR fragment, amplified with the help of primers, is cloned into an appropriate vector. The vector is labeled by nick-translation with ^3H . The radiolabeled probe is hybridized to metaphase spreads at final concentration of 200 ng/ml of hybridization solution as described in Mattei, et al. (1985) *Hum. Genet.* 69:327-331.

5 After coating with nuclear track emulsion (KODAK NTB₂), slides are exposed. To avoid any slipping of silver grains during the banding procedure, chromosome spreads are first stained with buffered Giemsa solution and metaphase photographed. R-banding is then performed by the fluorochrome-photolysis-Giemsa (FPG) method and metaphases rephotographed before analysis. Alternatively, mapped sequence tags may be searched in a
10 database.

Similar appropriate methods are used for other species.

IV. Localization of mRNA

Human multiple tissue (Cat # 1, 2) and cancer cell line blots (Cat # 7757-1), containing
15 approximately 2 μg of poly(A)⁺ RNA per lane, are purchased from Clontech (Palo Alto, CA). Probes are radiolabeled with [α - ^{32}P] dATP, e.g., using the Amersham Rediprime random primer labeling kit (RPN1633). Prehybridization and hybridizations are performed at 65° C in 0.5 M Na₂HPO₄, 7% SDS, 0.5 M EDTA (pH 8.0). High stringency washes are conducted, e.g., at 65° C with two initial washes in 2 x SSC, 0.1% SDS for 40 min followed by
20 a subsequent wash in 0.1 x SSC, 0.1% SDS for 20 min. Membranes are then exposed at -70° C to X-Ray film (Kodak) in the presence of intensifying screens. More detailed studies by cDNA library Southern blots are performed with selected human DIRS4 clones to examine their expression in hemopoietic or other cell subsets.

Alternatively, two appropriate primers are selected, e.g., from the tables. RT-PCR is
25 used on an appropriate mRNA sample selected for the presence of message to produce a cDNA, e.g., a sample which expresses the gene.

Full length clones may be isolated by hybridization of cDNA libraries from appropriate tissues pre-selected by PCR signal. Northern blots can be performed.

Message for genes encoding each gene will be assayed by appropriate technology, e.g.,
30 PCR, immunoassay, hybridization, or otherwise. Tissue and organ cDNA preparations are

WO 02/20569

PCT/US01/28013

46

available, e.g., from Clontech, Mountain View, CA. Identification of sources of natural expression are useful, as described. And the identification of functional receptor subunit pairings will allow for prediction of what cells express the combination of receptor subunits which will result in a physiological responsiveness to each of the cytokine ligands.

- 5 For mouse distribution, e.g., Southern Analysis can be performed: DNA (5 µg) from a primary amplified cDNA library was digested with appropriate restriction enzymes to release the inserts, run on a 1% agarose gel and transferred to a nylon membrane (Schleicher and Schuell, Keene, NH).
- Samples for mouse mRNA isolation may include: resting mouse fibroblastic L cell line (C200); Braf:ER (Braf fusion to estrogen receptor) transfected cells, control (C201); T cells, TH1 polarized (Mel14 bright, CD4+ cells from spleen, polarized for 7 days with IFN-γ and anti IL-4; T200); T cells, TH2 polarized (Mel14 bright, CD4+ cells from spleen, polarized for 7 days with IL-4 and anti-IFN-γ; T201); T cells, highly TH1 polarized (see Openshaw, et al. (1995) J. Exp. Med. 182:1357-1367; activated with anti-CD3 for 2, 6, 16 h pooled; T202); T
- 10 cells, highly TH2 polarized (see Openshaw, et al. (1995) J. Exp. Med. 182:1357-1367; activated with anti-CD3 for 2, 6, 16 h pooled; T203); CD44- CD25+ pre T cells, sorted from thymus (T204); TH1 T cell clone D1.1, resting for 3 weeks after last stimulation with antigen (T205); TH1 T cell clone D1.1, 10 µg/ml ConA stimulated 15 h (T206); TH2 T cell clone CDC35, resting for 3 weeks after last stimulation with antigen (T207); TH2 T cell clone
- 20 CDC35, 10 µg/ml ConA stimulated 15 h (T208); Mel14+ naive T cells from spleen, resting (T209); Mel14+ T cells, polarized to Th1 with IFN-γ/IL-12/anti-IL-4 for 6, 12, 24 h pooled (T210); Mel14+ T cells, polarized to Th2 with IL-4/anti-IFN-γ for 6, 13, 24 h pooled (T211); unstimulated mature B cell leukemia cell line A20 (B200); unstimulated B cell line CH12 (B201); unstimulated large B cells from spleen (B202); B cells from total spleen, LPS
- 25 activated (B203); metrizamide enriched dendritic cells from spleen, resting (D200); dendritic cells from bone marrow, resting (D201); monocyte cell line RAW 264.7 activated with LPS 4 h (M200); bone-marrow macrophages derived with GM and M-CSF (M201); macrophage cell line J774, resting (M202); macrophage cell line J774 + LPS + anti-IL-10 at 0.5, 1, 3, 6, 12 h pooled (M203); macrophage cell line J774 + LPS + IL-10 at 0.5, 1, 3, 5, 12 h pooled (M204);
- 30 aerosol challenged mouse lung tissue, Th2 primers, aerosol OVA challenge 7, 14, 23 h pooled (see Garlisi, et al. (1995) Clinical Immunology and Immunopathology 75:75-83; X206);

WO 02/20569

PCT/US01/28013

47

Nippostrongylus-infected lung tissue (see Coffman, et al. (1989) *Science* 245:308-310; X200); total adult lung, normal (O200); total lung, rag-1 (see Schwarz, et al. (1993) *Immunodeficiency* 4:249-252; O205); IL-10 K.O. spleen (see Kuhn, et al. (1991) *Cell* 75:263-274; X201); total adult spleen, normal (O201); total spleen, rag-1 (O207); IL-10 K.O. Peyer's patches (O202);
 5 total Peyer's patches, normal (O210); IL-10 K.O. mesenteric lymph nodes (X203); total mesenteric lymph nodes, normal (O211); IL-10 K.O. colon (X203); total colon, normal (O212); NOD mouse pancreas (see Makino, et al. (1980) *Jikken Dobutsu* 29:1-13; X205); total thymus, rag-1 (O208); total kidney, rag-1 (O209); total heart, rag-1 (O202); total brain, rag-1 (O203); total testes, rag-1 (O204); total liver, rag-1 (O206); rat normal joint tissue
 10 (O300); and rat arthritic joint tissue (X300).

Samples for human mRNA isolation may include: peripheral blood mononuclear cells (monocytes, T cells, NK cells, granulocytes, B cells), resting (T100); peripheral blood mononuclear cells, activated with anti-CD3 for 2, 6, 12 h pooled (T101); T cell, TH0 clone Mot 72, resting (T102); T cell, TH0 clone Mot 72, activated with anti-CD28 and anti-CD3
 15 for 3, 6, 12 h pooled (T103); T cell, TH0 clone Mot 72, anergic treated with specific peptide for 2, 7, 12 h pooled (T104); T cell, TH1 clone HY06, resting (T107); T cell, TH1 clone HY06, activated with anti-CD28 and anti-CD3 for 3, 6, 12 h pooled (T108); T cell, TH1 clone HY06, anergic treated with specific peptide for 2, 6, 12 h pooled (T109); T cell, TH2 clone HY935, resting (T110); T cell, TH2 clone HY935, activated with anti-CD28 and anti-CD3 for
 20 2, 7, 12 h pooled (T111); T cells CD4+CD45RO- T cells polarized 27 days in anti-CD28, IL-4, and anti IFN- γ , TH2 polarized, activated with anti-CD3 and anti-CD28 4 h (T116); T cell tumor lines Jurkat and Hut78, resting (T117); T cell clones, pooled AD130.2, Tc783.12, Tc783.13, Tc783.58, Tc782.69, resting (T118); T cell random $\gamma\delta$ T cell clones, resting (T119); Splenocytes, resting (B100); Splenocytes, activated with anti-CD40 and IL-4 (B101); B cell
 25 EBV lines pooled WT49, RSB, JY, CVIR, 721.221, RM3, HSY, resting (B102); B cell line JY, activated with PMA and ionomycin for 1, 6 h pooled (B103); NK 20 clones pooled, resting (K100); NK 20 clones pooled, activated with PMA and ionomycin for 6 h (K101); NKL clone, derived from peripheral blood of LGL leukemia patient, IL-2 treated (K106); NK cytotoxic clone 640-A30-1, resting (K107); hematopoietic precursor line TF1, activated with
 30 PMA and ionomycin for 1, 6 h pooled (C100); U937 premonocytic line, resting (M100); U937 premonocytic line, activated with PMA and ionomycin for 1, 6 h pooled (M101);

WO 02/20569

PCT/US01/28013

48

elutriated monocytes, activated with LPS, IFN γ , anti-IL-10 for 1, 2, 6, 12, 24 h pooled (M102); elutriated monocytes, activated with LPS, IFN γ , IL-10 for 1, 2, 6, 12, 24 h pooled (M103); elutriated monocytes, activated with LPS, IFN γ , anti-IL-10 for 4, 16 h pooled (M106); elutriated monocytes, activated with LPS, IFN γ , IL-10 for 4, 16 h pooled (M107);

5 elutriated monocytes, activated LPS for 1 h (M108); elutriated monocytes, activated LPS for 6 h (M109); DC 70% CD1a+, from CD34+ GM-CSF, TNF α 12 days, resting (D101); DC 70% CD1a+, from CD34+ GM-CSF, TNF α 12 days, activated with PMA and ionomycin for 1 hr (D102); DC 70% CD1a+, from CD34+ GM-CSF, TNF α 12 days, activated with PMA and ionomycin for 6 hr (D103); DC 95% CD1a+, from CD34+ GM-CSF, TNF_ 12 days

10 FACS sorted, activated with PMA and ionomycin for 1, 6 h pooled (D104); DC 95% CD14+, ex CD34+ GM-CSF, TNF α 12 days FACS sorted, activated with PMA and ionomycin 1, 6 hr pooled (D105); DC CD1a+ CD86+, from CD34+ GM-CSF, TNF_ 12 days FACS sorted, activated with PMA and ionomycin for 1, 6 h pooled (D106); DC from monocytes GM-CSF, IL-4 5 days, resting (D107); DC from monocytes GM-CSF, IL-4 5 days, resting (D108); DC

15 from monocytes GM-CSF, IL-4 5 days, activated LPS 4, 16 h pooled (D109); DC from monocytes GM-CSF, IL-4 5 days, activated TNF α , monocyte supe for 4, 16 h pooled (D110); leiomyoma L11 benign tumor (X101); normal myometrium M5 (O115); malignant leiomyosarcoma GS1 (X103); lung fibroblast sarcoma line MRC5, activated with PMA and ionomycin for 1, 6 h pooled (C101); kidney epithelial carcinoma cell line CHA, activated with

20 PMA and ionomycin for 1, 6 h pooled (C102); kidney fetal 28 wk male (O100); lung fetal 28 wk male (O101); liver fetal 28 wk male (O102); heart fetal 28 wk male (O103); brain fetal 28 wk male (O104); gallbladder fetal 28 wk male (O106); small intestine fetal 28 wk male (O107); adipose tissue fetal 28 wk male (O108); ovary fetal 25 wk female (O109); uterus fetal 25 wk female (O110); testes fetal 28 wk male (O111); spleen fetal 28 wk male (O112); adult placenta

25 28 wk (O113); and tonsil inflamed, from 12 year old (X100).

For the DIRS4, southern blot analysis revealed expression in several cDNA libraries, including resting MOT72 (Th0 clone); resting, activated, and anti-peptide HY06 (Th1 clone); activated T cells CD4+, Th2 polarized; resting pooled T cell clones; resting and activated splenocytes; resting EBV B cells; activated JY (B cell line); cytotoxic NK cells; TF1 cells;

30 resting and activated U937 cells; monocytes treated with anti-IL-10; monocytes (anti-IL-10 and IL-10 stimulated); activated monocytes; dendritic cells (activated and resting); MRC5

WO 02/20569

PCT/US01/28013

49

(lung fibroblast sarcoma line); CHA (kidney epithelial carcinoma line); normal and asthmatic monkey lung; normal and smoker lung; normal colon; fetal lung; liver; gall bladder; and small intestine. There were two transcript sizes, about 500 bp and about 1.8 kb bands, suggesting two different transcripts, possibly soluble and membrane spanning forms.

5 The primate, e.g., human, TNF α expression, by PCR, is high in allergic lung and normal lung; much lower in adult placenta, fetal spleen, and normal skin. Essentially no expression in gut samples and fetal organs. In cells, high expression was detected in resting HY06 cells and TF-1; lower in activated HY06 cell and JY cells, and no significant expression in the other human samples tested, e.g., most in the list above. Table 1 shows additional TaqMan
10 expression data for human TNF α .

WO 02/20569

PCT/US01/28013

50

Table 1:

LIBRARY	Ct_gene	LIBRARY	Ct_gene
PBMC resting	44.64 mono + anti-IL-10		22.47
PBMC activated	40.48 mono + IL-10		21.04
Mot 72 resting	26.29 M1		40.52
Mot 72 activated	24.51 M6		21.75
Mot 72 anti-peptide	20.72 70% DC resting		26.27
HY06 resting	15.86 D1		37.94
HY06 activated	18.3 D6		25.05
HY06 anti-peptide	24.27 CD1a+ 95%		26.87
HY935 resting	25.97 CD14+ 95%		35.17
HY935 activated	25.03 CD1a+ CD86+		27.48
B21 resting	26.3 DC/GM/IL-4		32.33
B21 activated	24.53 DC LPS		27.81
Tc gamma delta	45 DC mix		27.32
Jurkat resting pSPORT	45 fetal kidney		26.41
Jurkat activated pSPORT	28.09 fetal lung		31.16
Splenocytes resting	23.51 fetal liver		26.28
Splenocytes activated	26.19 fetal heart		34.28
Bc	23.88 fetal brain		25.02
JY	19.29 fetal small intestine		37.89
NK pool	38.21 fetal adipose tissue		26.41
NK pool activated	37.54 fetal ovary		37.49
NKA6 pSPORT	34.39 fetal uterus		26.03
NKL/IL-2	25.71 fetal testes		36.65
NK cytotox.	23.28 fetal spleen		23.2
NK non cytotox.	26.35 adult placenta		24.06
U937/CD004 resting	28.18 inflamed tonsil		26.21
U937 activated	26.21 TF1		23.48
C-	27 MRC5		33.99

WO 02/20569

PCT/US01/28013

51

LIBRARY	Ct_gene	LIBRARY	Ct_gene
C+	23.13 CHA		28.27
mast cell pME	28.65 Taq_control_genomic_2		50
TC1080 CD28- pMET7	38.1 Crohns colon 403242A		28.32
RV-C30 TR1 pMET7	24.97 lung 080698-2		27.42
DC resting mono-derived	28.12 18 hr. Ascaris lung		28.06
DC CD40L activ. mono-deriv.	27.07 hi dose IL-4 lung		34.01
DC resting CD34-derived	28.9 normal colon #22		44.6
DC TNF/TGFb act CD34-der.	36.74 ulcerative colitis colon #26		38.12
allergic lung #19	20.21 normal thyroid		28.14
Pneumocystis carinii lung #20	36.33 Hashimotos thyroiditis		36.88
RA synovium pool	28 normal skin		24.12
Psoriasis skin	32.37 Crohns colon 4003197A		30.31
normal lung	35.68 lung 121897-1		36.25
4 hr. Ascaris lung	31.45 Crohns colon 9609C144		27.49
24 hr. Ascaris lung	26.34 A549 unstim.		28.03
normal lung pool	22.21 A549 activated		24.1
Taq_control_genomic_1	50 Taq_control_water		50

The rodent, e.g., mouse, TNF α is highly expressed in 5 month ApoE KO mouse aorta; C57B6 3 wk polarized Th1 cells; and C57B6 3 wk polarized Th2 cells. It is less highly expressed in Balb/c 3 wk polarized Th2 cells, LPS treated spleen, and various other Th2 polarized populations. In tissues, by PCR, it is expressed highly in TNK KO spleen, NZB/W spleen, NZB/W kidney, NZB/W spleen, GF ears/skin; rag-1 testis, w.t. C57B6 spleen, w.t. C57B6 pancreas, and 2 mo. lung. It is expressed at lower levels in influenza lung, rag-1 lung, rag-1 spleen, spinal cord samples, lung samples, stomach, and lymph nodes. Table 2 shows additional TaqMan expression data for mouse TNF α .

WO 02/20569

PCT/US01/28013

52

Table 2:

LIBRARY	Ct_gene	LIBRARY	Ct_gene
L cell		26 rag-1 brain	24.47
TH1 7 day	26.63 rag-1 testes		38.4
TH2 7 day	24.56 rag-1 lung		22.81
TH1 3 week Balb/C	39.09 rag-1 liver		36.69
TH2 3 week Balb/C	24.48 rag-1 spleen		24.23
preT	36.92 rag-1 thymus		23.91
D1.1 resting	32.74 rag-1 kidney		22.32
D1.1 con A stim.	37.76 w.t. Peyers patches		25.48
CDC35 resting	30.8 w.t. mesenteric lymph nodes		25.59
CDC35 con A stim.	41.92 w.t. colon		28.7
Mel 14+ naive T	28.16 Braf:ER (-) oligo dT		38.53
Mel14+ TH1	29.2 TH1 3 week C57 Bl/6		23.12
Mel 14+ TH2	25.02 TH2 3 week C57 Bl/6		22.54
A20	37.61 TH1 3 week Balb/C fresh		28.02
CH12	25.29 TH2 3 week Balb/C fresh		37.73
Ig. B cell	30.34 b.m. DC (YJL) resting		27.99
LPS spleen	24.04 b.m. DC (YJL) aCD40 stim.		40.47
macrophage	28.6 b.m. mf + LPS + aIL-10R		29.74
J774 resting	39.73 b.m. mf + LPS + IL-10		27.67
J774 +LPS + anti-IL-10	36.51 peritoneal mf		37.02
J774 +LPS + IL-10	40.53 MC-9/MCP-12 pMET7		39.68
Nippo-infected lung	25.87 EC		40.13
IL-10 K.O. spleen	24.18 EC + TNFa		40.54
IL-10 K.O. colon	36.97 bEnd3 + TNFa		41.26
asthmatic lung	26.61 bEnd3 + TNFa + IL-10		38.35
w.t. lung	24.06 ApoE aorta 5 month		21.03
w.t. spleen	28.87 ApoE aorta 12 month		34.28
rag-1 heart	26.48 NZ B/W kidney		21.02

WO 02/20569

PCT/US01/28013

53

LIBRARY	Ct_gene	LIBRARY	Ct_gene
Nippo IL-4 K.O. lung	28.59	NZ B/W spleen	21.2
Nippo anti IL-5 lung	25.73	tolerized & challenged lung	27.17
Influenza lung	23.93	Aspergillus lung	23.32
b common lung 2 month	24.53	Taq_control_water	50
IL-10 K.O. stomach	29.87	Taq_control_genomic_1	50
IL-10 K.O. MLN aIL-12	26.58	Taq_control_genomic_2	50
IL-10 K.O. MLN +IL-10	25.89	w.t. d17 spinal cord EAE model	22.87
Rag-2 Hh- colon	29.2	TNF K.O. d17 spinal cord EAE model	22.84
Rag-2 Hh+ colon	27.1	TNF K.O. spinal cord	23.27
IL-7 K.O./Rag-2 Hh- colon	40	TNF K.O. spleen	20.78
IL-7 K.O./Rag-2 Hh+ colon	40	G.F. ears (skin)	20.7
transfer model IBD	28.1	w.t. spinal cord	22.74
w.t. C57 Bl/6 aorta	39.38	w.t. C57 Bl/6 spleen	22.15
w.t. thymus	27.05	w.t. C57 Bl/6 pancreas	24.75
w.t. stomach	26.49	MM2/MM3 activated. pME	37.67
MM2/MM3 resting pME	37.62		

The primate, e.g., human, TNF α is expressed in fetal adipose tissue and fetal ovary. It is expressed at a lower level in fetal brain, Hashimoto's thyroiditis, RA synovium pool, adult placenta, and fetal uterus. It is expressed at lower levels in fetal kidney, normal thyroid, and detectable in Crohn's colon, psoriasis skin, and fetal lung. It is essentially undetectable in other organs evaluated, including various *Ascaris* challenged lung samples. In cell libraries, it is expressed in TF-1 cells, and much lower in CHA cells, and was not significantly expressed in other cell lines tested. Table 3 provides additional TaqMan expression data for human TNF α .

WO 02/20569

PCT/US01/28013

54

Table 3:

LIBRARY	Ct_gene	LIBRARY	Ct_gene
PBMC resting	45 mono + IL-10		42.96
PBMC activated	44.16 M1		41.25
Mot 72 resting	42.47 M6		45
Mot 72 activated	28.59 70% DC resting		40.37
Mot 72 anti-peptide	42.47 D1		28.94
HY06 resting	43.19 D6		28.38
HY06 activated	41.48 CD1a+ 95%		25.63
HY06 anti-peptide	43.28 CD14+ 95%		28.36
HY935 resting	45 CD1a+ CD86+		28.67
HY935 activated	43.62 DC/GM/IL-4		45
B21 resting	41.73 DC LPS		38.8
B21 activated	44.35 DC mix		26.53
Te gamma delta	43.21 fetal kidney		27.98
Jurkat resting pSPORT	23.44 fetal lung		30.57
Jurkat activated pSPORT	25.19 fetal liver		43.92
Splenocytes resting	38.72 fetal heart		40.84
Splenocytes activated	44.09 fetal brain		26.02
Bc	44.83 fetal small intestine		40.05
JY	43.05 fetal adipose tissue		23.63
NK pool	39.09 fetal ovary		25.85
NK pool activated	44.32 fetal uterus		27.57
NKA6 pSPORT	42.8 fetal testes		45
NKL/IL-2	45 fetal spleen		39.08
NK cytotox.	44.79 adult placenta		28.05
NK non cytotox.	45 inflamed tonsil		45
U937/CD004 resting	24.17 TF1		22.09
U937 activated	24.41 MRC5		26.18
C-	40.38 CHA		19.22
C+	41.17 mast cell pME		43.93

WO 02/20569

PCT/US01/28013

55

LIBRARY	Ct_gene	LIBRARY	Ct_gene
mono + anti-IL-10	45	TC1080 CD28- pMET7	41.62
DC resting mono-derived	45	RV-C30 TR1 pMET7	42.76
DC CD40L activ. mono-deriv.	45	4 hr. Ascaris lung	45
DC resting CD34-derived	45	24 hr. Ascaris lung	45
DC TNF/TGFb act CD34-der.	39.71	normal lung pool	45
allergic lung #19	43.22	normal skin	42.69
Pneumocystis carinii lung #20	43.81	Crohns colon 4003197A	29.82
normal colon #22	43.66	lung 121897-1	45
ulcerative colitis colon #26	45	Crohns colon 9609C144	41.86
normal thyroid	27.71	A549 unstim.	27.09
Hashimotos thyroiditis	27.4	A549 activated	29.01
RA synovium pool	28	Taq_control_water	50
Psoriasis skin	31.49	Taq_control_genomic_1	50
normal lung	45	Taq_control_genomic_2	50
Crohns colon 403242A	33.18	18 hr. Ascaris lung	44.16
lung 080698-2	30.01	hi dose IL-4 lung	43.59

WO 02/20569

PCT/US01/28013

56

Table 4 provides TaqMan expression data for rodent, e.g., mouse TNF α .

LIBRARY	Ct_gene	LIBRARY	Ct_gene
L cell	40	rag-1 lung	40
TH1 7 day	40	rag-1 liver	40
TH2 7 day	27.11	rag-1 spleen	23.97
TH1 3 week Balb/C	40	rag-1 thymus	26.29
TH2 3 week Balb/C	26.95	rag-1 kidney	40
preT	40	w.t. Peyer's patches	27.04
D1.1 resting	40	w.t. mesenteric lymph nodes	40
D1.1 con A stim.	40	w.t. colon	26.63
CDC35 resting	40	Braf:ER (-) oligo dT	40
CDC35 con A stim.	39.83	TH1 3 week C57 Bl/6	26.78
Mel 14+ naive T	40	TH2 3 week C57 Bl/6	40
Mel14+ TH1	40	TH1 3 week Balb/C fresh	40
Mel 14+ TH2	31.22	TH2 3 week Balb/C fresh	40
A20	27.39	b.m. DC (YJL) resting	40
CH12	28.18	b.m. DC (YJL) aCD40 stim.	40
Ig B cell	26.35	b.m. mf + LPS + aIL-10R	40
LPS spleen	21.58	b.m. mf + LPS + IL-10	40
macrophage	40	peritoneal mf	40
J774 resting	24.99	MC-9/MCP-12 pMET7	40
J774 +LPS + anti-IL-10	28.41	EC	40
J774 +LPS + IL-10	27.57	EC + TNF α	40
Nippo-infected lung	26.98	bEnd3 + TNF α	40
IL-10 K.O. spleen	25.43	bEnd3 + TNF α + IL-10	40
IL-10 K.O. colon	23.68	ApoE aorta 5 month	35.16
asthmatic lung	37.45	ApoE aorta 12 month	35.47
w.t. lung	40	NZ B/W kidney	37.17
w.t. spleen	39.95	NZ B/W spleen	25.25
rag-1 heart	40	tolerized & challenged lung	40
rag-1 brain	40	Aspergillus lung	39.26

WO 02/20569

PCT/US01/28013

57

LIBRARY	Ct_gene	LIBRARY	Ct_gene
rag-1 testes	40	Nippo IL-4 K.O. lung	26.13
Influenza lung	37.13	Nippo anti IL-5 lung	34.73
b common lung 2 month	39.33	w.t. thymus	40
IL-10 K.O. stomach	27.3	w.t. stomach	30.14
IL-10 K.O. MLN aIL-12	40	MM2/MM3 resting pME	40
IL-10 K.O. MLN +IL-10	37.97	MM2/MM3 activated. pME	40
Rag-2 Hh- colon	26.95	Taq_control_water	50
Rag-2 Hh+ colon	22.94	Taq_control_genomic_1	50
IL-7 K.O./Rag-2 Hh- colon	26.77	Taq_control_genomic_2	50
IL-7 K.O./Rag-2 Hh+ colon	24.24	w.t. d17 spinal cord EAE model	40
transfer model IBD	23.01	TNF K.O. d17 spinal cord EAE model	40
w.t. C57 Bl/6 aorta	40	TNF K.O. spinal cord	27.99
w.t. spinal cord	38.8	TNF K.O. spleen	24.93
w.t. C57 Bl/6 spleen	26.38	G.F. ears (skin)	40
w.t. C57 Bl/6 pancreas	40		

The primate, e.g., human, TLR-L1 is expressed in TF-1 cells, D6 cells, and barely detectable in resting U937 cells, resting Jurkat cells, and pooled NK cells. In tissues, it is found in fetal uterus, fetal ovary, allergic lung, and fetal testis. Lower levels are found in fetal kidney, fetal small intestine, fetal brain, fetal adipose tissue, normal lung pool, and fetal lung.

The primate, e.g., human, TLR-L2, TLR-L3, and TLR-L4 seem to be expressed in brain tissue.

The primate, e.g., human, TLR-L5 seems to be expressed in unstimulated A549, activated A549, MRC5, and Bc cell lines. Among tissues, it is most highly expressed in fetal uterus, fetal small intestine, and lesser in fetal lung, fetal kidney, fetal liver, and fetal ovary. It is just detectable in fetal brain, fetal adipose, fetal testes, psoriasis skin, and various intestinal samples.

The 5685C6 probes show positive hybridization to subtraction libraries of Th2 minus Th1 polarized cells, and absence of hybridization to libraries of Th1 minus Th2 polarized cells. This suggests that the probe is present selectively in Th2 polarized cells, and can serve as a marker for such cell type. PCR techniques should confirm the expression profile.

5 Structurally, this protein exhibits similarities to other proteins possessing a thioredoxin fold, including a peroxidase protein, e.g., glutathione peroxidase. See Choi, et al. (1998) *Nature Structural Biol.* 5:400-406. Thioredoxin has been reported to exhibit certain chemoattractant activities. See Bertini, et al. (1999) *J. Exp'l Med.* 189:1783-1789.

10 TaqMan primers were designed for all four novel claudin transcripts. These primer sets were used to screen a panel of human libraries representing different cell types, tissues, and disease states, and two extended cDNA panels. The cDNA panels were composed of samples derived from either normal or diseased human lung or intestine. The claudin genes are some of the most highly regulated genes detected. Moreover, claudin D8 shows the greatest reciprocal regulation between Crohn's and Ulcerative colitis samples, making it a good
15 candidate in future diagnostic panels for these diseases.

claudin-D2: In library southern blots, expression is highest in one Crohn's colon, the fetal intestine, and two epithelial cell lines, lower level expression in fetal lung, kidney, ovary and testes. In human cDNA panels, this is highly up-regulated in 8/9 Crohn's disease, both with and without steroid treatment (mean induction = 53x, n=9). In addition, claudin-D2 is also
20 induced in 9/12 ulcerative colitis samples (mean induction = 8.2x), but this induction is significantly less than that observed in the Crohn's disease samples. Also up-regulated (mean induction=29 x) in 12/13 interstitial lung disease samples (idiopathic pulmonary fibrosis, hypersensitive pneumonitis, and eosinophilic granuloma).

claudin-D8: In library southern blots, expression is highest in fetal kidney and normal
25 colon. Also, expressed in ulcerative colitis colon, thyroid, and fetal lung. No expression is observed in the cells on the panel. In human cDNA panels, high level expression in the gut. Little to no expression in all Crohn's disease samples (mean reduction 130 x, n=9). Some ulcerative colitis samples also have reduced claudin-D8 expression, but the pattern is heterogeneous. In contrast, claudin-D8 is up-regulated in several interstitial lung disease
30 samples (12/15, mean induction = 9x), but the level of expression in these samples is on the

WO 02/20569

PCT/US01/28013

59

order of ten fold lower than in normal colon. It is also induced in primary human bronchial epithelial cells by I-309.

claudin-D17: In library southern blots, overall the expression level measured is low relative to the other claudins described here, on the order of 100 fold lower. It is unclear whether the expression level is actually lower or whether the primers for this gene are insensitive (non-optimal). Expression is highest in one of the asthma lungs and in psoriatic skin. No expression is observed in the cell lines on the panel. In human cDNA panels, the expression is increased in 8/11 ulcerative colitis samples (mean induction = 13x), while the expression is unchanged in Crohn's disease samples. Expressed at low level in primary bronchial epithelial cell lines, induced by I-309. Otherwise, level is too low to detect except in sporadic samples.

claudin-D7.2: In library southern blots, expressed at highest level in human fetal and adult lung, monkey lungs, and in one Crohn's colon sample. Lower level expression in the two epithelial (A549 and CHA) and one fibroblast (MRC5) cell lines on the panel. In human cDNA panels, expressed at a high level in the gut and an even higher level in the lung. Up-regulated in Crohn's disease samples from patients which have not been treated with steroids (mean induction = 3.7x, n=4). No consistent modulation of this gene in any of the lung diseases examined on this panel.

Claudin family structure: If the genomic structural organization of Claudin family members is based upon that of Paracellin-1, then the proteins would all be encoded by 5 exons. The putative splice sites and exon numbers are predictable, corresponding to the residues of D2 about: 2 codons upstream from M1; A43, A75, G129, and C182; and transmembrane segments corresponding to about G17-V36, M83-C104, V117-H141, and L164-Q188. Paracellin has an extra 60 amino acids at its N-terminus, which is located on the cytoplasmic side of the membrane.

Disease Associations: Claudin-D2 is up-regulated in 8/9 Crohn's disease relative to the control samples, while claudin-D8 is down-regulated. All claudins, described in this invention disclosure, show disease association as described above.

The claudins may form part of a diagnostic panel of genes that could distinguish Crohn's disease from ulcerative colitis, or assist in the determination of disease severity in either or both diseases. For example, claudin-D2 is expressed at higher levels in Crohn's disease than in ulcerative colitis. In contrast, the claudin-D8, cluster 1645577, is expressed at

WO 02/20569

PCT/US01/28013

60

very low levels in Crohn's disease samples, and is less dramatically reduced in most ulcerative colitis samples. See, e.g., Simon, et al. (1999) Science 285:103-106; Hirano, et al. (19xx) Genome Research 10:659-663; Morita, et al. (1999) Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 96:511-516; Anderson and Van Itallie (1999) Current Biology 9:R922-R924; and Furuse, et al. (1999) J. Cell Biol. 147:891-903.

Introduction of an adenovirus or another expression vector expressing the claudin-D8 ortholog into the intestines of patients with inflammatory bowel disease may improve intestinal barrier function and ameliorate disease.

In contrast, antibodies to one of the claudins described here may be able to: induce an intracellular signal that could promote tight junction formation and lead to improved intestinal barrier function; block entry of pathogenic agents, which may play a causative role in initiation or maintenance of either Crohn's disease or ulcerative colitis; promote migration of myeloid cells across tight junctions and allow clearance of pathogenic agents prior to infection of the epithelium.

Expression of schlafen family members in fibroblasts/ thymoma cells retards or arrests cell growth. They guide cell growth and T-cell development, and are an integral component of the machinery that maintains T-cell quiescence. They may have important roles in the development or maintenance of autoimmune disorders. The mouse schlafens participate in the regulation of the cell cycle. This family is characterized by two splice variants: a short and a long form.

Schlafen B: 748 aa; ORF. Quantitative PCR analysis reveals in T cells, resting DC, M1 macrophage cell panel. Induced in Hashimoto's thyroiditis, fetal kidney, fetal uterus, and fetal spleen. Slightly induced in Crohn's colon.

Schlafen C: 891 aa, full ORF. Quantitative PCR data revealed this to be significantly up-regulated in all Crohn's samples, asthmatic lung, Ascaris lung, Hashimoto's thyroiditis, and fetal tissues compared to control.

Schlafen D: 578 aa, full ORF. The quantitative PCR data for human schlafen D revealed that it is significantly differentially regulated in Crohn's disease and Ulcerative Colitis compared to normal colon. Also it appears to be highly expressed in many developing tissues (fetal) and disease states (allergic, Ascaris and pneumocystis carinii lungs, Crohn's colon, ulcerative colitis, and Psoriasis skin) compared to cell lines.

WO 02/20569

PCT/US01/28013

61

Schlafen E: 897 aa, full ORF. Quantitative PCR analysis reveals expression in the colon, fetal liver, fetal lung, fetal ovary, and fetal uterus, and significantly upregulated in one Crohn's sample and highly induced in Hashimoto's thyroiditis.

Schlafen F: 358 aa; full ORF. Distribution analysis is not complete.

5 Similar samples may isolated in other species for evaluation.

V. Cloning of species counterparts

Various strategies are used to obtain species counterparts of, e.g., the DIRS4, preferably from other primates or rodents. One method is by cross hybridization using
10 closely related species DNA probes. It may be useful to go into evolutionarily similar species as intermediate steps. Another method is by using specific PCR primers based on the identification of blocks of similarity or difference between genes, e.g., areas of highly conserved or nonconserved polypeptide or nucleotide sequence.

15 VI. Production of mammalian protein

An appropriate, e.g., GST, fusion construct is engineered for expression, e.g., in E. coli. For example, a mouse IGIF pGex plasmid is constructed and transformed into E. coli. Freshly transformed cells are grown, e.g., in LB medium containing 50 µg/ml ampicillin and induced with IPTG (Sigma, St. Louis, MO). After overnight induction, the bacteria are
20 harvested and the pellets containing, e.g., the DIRS4 protein, are isolated. The pellets are homogenized, e.g., in TE buffer (50 mM Tris-base pH 8.0, 10 mM EDTA and 2 mM pefabloc) in 2 liters. This material is passed through a microfluidizer (Microfluidics, Newton, MA) three times. The fluidized supernatant is spun down on a Sorvall GS-3 rotor for 1 h at 13,000 rpm. The resulting supernatant containing the cytokine receptor protein is filtered and
25 passed over a glutathione-SEPHAROSE column equilibrated in 50 mM Tris-base pH 8.0. The fractions containing the DIRS4-GST fusion protein are pooled and cleaved, e.g., with thrombin (Enzyme Research Laboratories, Inc., South Bend, IN). The cleaved pool is then passed over a Q-SEPHAROSE column equilibrated in 50 mM Tris-base. Fractions containing DIRS4 are pooled and diluted in cold distilled H₂O, to lower the conductivity, and passed
30 back over a fresh Q-Sepharose column, alone or in succession with an immunoaffinity

WO 02/20569

PCT/US01/28013

62

antibody column. Fractions containing the DIRS4 protein are pooled, aliquoted, and stored in the -70° C freezer.

Comparison of the CD spectrum with cytokine receptor protein may suggest that the protein is correctly folded. See Hazuda, et al. (1969) J. Biol. Chem. 264:1689-1693.

5 For other genes, e.g., membrane proteins, the protein may be best expressed on cell surfaces. Those may be in prokaryote expression systems, or eukaryotes. Surface expressed forms will most likely have conformations consistent with the natural interaction with lipid.

VII. Determining physiological forms of receptors

10 The cellular forms of receptors for ligands can be tested with the various ligands and receptor subunits provided, e.g., IL-10 related sequences. In particular, multiple cytokine receptor like ligands have been identified, see, e.g., USSN 60/027,368, 08/934,959, and 08/842,659, which are incorporated herein by reference.

15 Cotransformation of the DIRS4 with putative other receptor subunits may be performed. Such cells may be used to screen putative cytokine ligands, such as the AK155, for signaling. A cell proliferation assay may be used.

In addition, it has been known that many cytokine receptors function as heterodimers, e.g., a soluble alpha subunit, and transmembrane beta subunit. Subunit combinations can be tested now with the provided reagents. In particular, appropriate constructs can be made for 20 transformation or transfection of subunits into cells. Combinatorial transfections of transformations can make cells expressing defined subunits, which can be tested for response to the predicted ligands. Appropriate cell types can be used, e.g., 293 T cells, with, e.g., an NF_b reporter construct.

25 Biological assays for receptors will generally be directed to the ligand binding feature of the protein or to the kinase/phosphatase activity of the receptor. The activity will typically be reversible, as are many other enzyme reactions, and may mediate phosphatase or phosphorylase activities, which activities are easily measured by standard procedures. See, e.g., Hardie, et al. (eds. 1995) The Protein Kinase FactBook vols. I and II, Academic Press, San Diego, CA; Hanks, et al. (1991) Meth. Enzymol. 200:38-62; Hunter, et al. (1992) Cell 70:375-388; Lewin (1990) Cell 61:743-752; Pines, et al. (1991) Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 56:449-463; and Parker, et al. (1993) Nature 363:736-738.

30

WO 02/20569

PCT/US01/28013

63

The family of cytokines contains molecules which are important mediators of hematopoiesis or inflammatory disease. See, e.g., Nelson and Martin (eds. 2000) Cytokines in Pulmonary Disease Dekker, NY; Ganser and Hoelzer (eds. 1999) Cytokines in the Treatment of Hematopoietic Failure Dekker, NY; Remick and Friedland (eds. 1997) Cytokines in Health and Disease Dekker, NY; Dinarello (1996) Blood 87:2095-2147; and Thomson (ed. 1994) The Cytokine Handbook Academic Press, San Diego. Ligand and receptors are very important in the signaling process.

VIII. Antibodies specific for proteins

10 Inbred Balb/c mice are immunized intraperitoneally with recombinant forms of the protein, e.g., purified DIRS4 or stable transfected NIH-3T3 cells. Animals are boosted at appropriate time points with protein, with or without additional adjuvant, to further stimulate antibody production. Serum is collected, or hybridomas produced with harvested spleens.

15 Alternatively, Balb/c mice are immunized with cells transformed with the gene or fragments thereof, either endogenous or exogenous cells, or with isolated membranes enriched for expression of the antigen. Serum is collected at the appropriate time, typically after numerous further administrations. Various gene therapy techniques may be useful, e.g., in producing protein in situ, for generating an immune response. Serum may be immunoselected to prepare substantially purified antibodies of defined specificity and high affinity.

20 Monoclonal antibodies may be made. For example, splenocytes are fused with an appropriate fusion partner and hybridomas are selected in growth medium by standard procedures. Hybridoma supernatants are screened for the presence of antibodies which bind to the DIRS4, e.g., by ELISA or other assay. Antibodies which specifically recognize specific DIRS4 embodiments may also be selected or prepared.

25 In another method, synthetic peptides or purified protein are presented to an immune system to generate monoclonal or polyclonal antibodies. See, e.g., Coligan (ed. 1991) Current Protocols in Immunology Wiley/Greene; and Harlow and Lane (1989) Antibodies: A Laboratory Manual Cold Spring Harbor Press. In appropriate situations, the binding reagent is either labeled as described above, e.g., fluorescence or otherwise, or immobilized to a substrate for panning methods. Nucleic acids may also be introduced into cells in an animal to produce the antigen, which serves to elicit an immune response. See, e.g., Wang, et al. (1993)

WO 02/20569

PCT/US01/28013

64

Proc. Nat'l. Acad. Sci. 90:4156-4160; Barry, et al. (1994) BioTechniques 16:616-619; and Xiang, et al. (1995) Immunity 2: 129-135.

Moreover, antibodies which may be useful to determine the combination of the DIRS4 with a functional alpha subunit may be generated. Thus, e.g., epitopes characteristic of a particular functional alpha/beta combination may be identified with appropriate antibodies.

IX. Production of fusion proteins

Various fusion constructs are made, e.g., with DIRS4. A portion of the appropriate gene is fused to an epitope tag, e.g., a FLAG tag, or to a two hybrid system construct. See, e.g., Fields and Song (1989) Nature 340:245-246.

The epitope tag may be used in an expression cloning procedure with detection with anti-FLAG antibodies to detect a binding partner, e.g., ligand for the respective cytokine receptor. The two hybrid system may also be used to isolate proteins which specifically bind to DIRS4.

X. Structure activity relationship

Information on the criticality of particular residues is determined using standard procedures and analysis. Standard mutagenesis analysis is performed, e.g., by generating many different variants at determined positions, e.g., at the positions identified above, and evaluating biological activities of the variants. This may be performed to the extent of determining positions which modify activity, or to focus on specific positions to determine the residues which can be substituted to either retain, block, or modulate biological activity.

Alternatively, analysis of natural variants can indicate what positions tolerate natural mutations. This may result from populational analysis of variation among individuals, or across strains or species. Samples from selected individuals are analyzed, e.g., by PCR analysis and sequencing. This allows evaluation of population polymorphisms.

XI. Isolation of a ligand for receptor

A cytokine receptor can be used as a specific binding reagent to identify its binding partner, by taking advantage of its specificity of binding, much like an antibody would be used. Typically, the binding receptor is a heterodimer of receptor subunits. A binding reagent

WO 02/20569

PCT/US01/28013

65

is either labeled as described above, e.g., fluorescence or otherwise, or immobilized to a substrate for panning methods.

The binding composition is used to screen an expression library made from a cell line which expresses a binding partner, i.e., ligand, preferably membrane associated. Standard staining techniques are used to detect or sort surface expressed ligand, or surface expressing transformed cells are screened by panning. Screening of intracellular expression is performed by various staining or immunofluorescence procedures. See also McMahan, et al. (1991) EMBO J. 10:2821-2832.

For example, on day 0, precoat 2-chamber permanox slides with 1 ml per chamber of fibronectin, 10 ng/ml in PBS, for 30 min at room temperature. Rinse once with PBS. Then plate COS cells at $2-3 \times 10^5$ cells per chamber in 1.5 ml of growth media. Incubate overnight at 37° C.

On day 1 for each sample, prepare 0.5 ml of a solution of 66 µg/ml DEAE-dextran, 66 µM chloroquine, and 4 µg DNA in serum free DME. For each set, a positive control is prepared, e.g., of DIRS4-FLAG cDNA at 1 and 1/200 dilution, and a negative mock. Rinse cells with serum free DME. Add the DNA solution and incubate 5 hr at 37° C. Remove the medium and add 0.5 ml 10% DMSO in DME for 2.5 min. Remove and wash once with DME. Add 1.5 ml growth medium and incubate overnight.

On day 2, change the medium. On days 3 or 4, the cells are fixed and stained. Rinse the cells twice with Hank's Buffered Saline Solution (HBSS) and fix in 4% paraformaldehyde (PFA)/glucose for 5 min. Wash 3X with HBSS. The slides may be stored at -80° C after all liquid is removed. For each chamber, 0.5 ml incubations are performed as follows. Add HBSS/saponin (0.1%) with 32 µl/ml of 1 M NaN₃ for 20 min. Cells are then washed with HBSS/saponin 1X. Add appropriate DIRS4 or DIRS4/antibody complex to cells and incubate for 30 min. Wash cells twice with HBSS/saponin. If appropriate, add first antibody for 30 min. Add second antibody, e.g., Vector anti-mouse antibody, at 1/200 dilution, and incubate for 30 min. Prepare ELISA solution, e.g., Vector Elite ABC horseradish peroxidase solution, and preincubate for 30 min. Use, e.g., 1 drop of solution A (avidin) and 1 drop solution B (biotin) per 2.5 ml HBSS/saponin. Wash cells twice with HBSS/saponin. Add ABC HRP solution and incubate for 30 min. Wash cells twice with HBSS, second wash for 2 min, which closes cells. Then add Vector diaminobenzoic acid (DAB) for 5 to 10 min. Use 2 drops of

WO 02/20569

PCT/US01/28013

66

buffer plus 4 drops DAB plus 2 drops of H₂O₂ per 5 ml of glass distilled water. Carefully remove chamber and rinse slide in water. Air dry for a few minutes, then add 1 drop of Crystal Mount and a cover slip. Bake for 5 min at 85-90° C.

5 Evaluate positive staining of pools and progressively subclone to isolation of single genes responsible for the binding.

Alternatively, receptor reagents are used to affinity purify or sort out cells expressing a putative ligand. See, e.g., Sambrook, et al. or Ausubel, et al.

Another strategy is to screen for a membrane bound receptor by panning. The receptor cDNA is constructed as described above. The ligand can be immobilized and used to
10 immobilize expressing cells. Immobilization may be achieved by use of appropriate antibodies which recognize, e.g., a FLAG sequence of a DIRS4 fusion construct, or by use of antibodies raised against the first antibodies. Recursive cycles of selection and amplification lead to enrichment of appropriate clones and eventual isolation of receptor expressing clones.

15 Phage expression libraries can be screened by mammalian DIRS4. Appropriate label techniques, e.g., anti-FLAG antibodies, will allow specific labeling of appropriate clones.

All citations herein are incorporated herein by reference to the same extent as if each individual publication or patent application was specifically and individually indicated to be incorporated by reference.

20 Many modifications and variations of this invention can be made without departing from its spirit and scope, as will be apparent to those skilled in the art. The specific embodiments described herein are offered by way of example only, and the invention is to be limited by the terms of the appended claims, along with the full scope of equivalents to which such claims are entitled; and the invention is not to be limited by the specific embodiments
25 that have been presented herein by way of example.

WO 02/20569

PCT/US01/28013

67

WHAT IS CLAIMED IS:

1. A substantially pure or recombinant polypeptide comprising at least three distinct nonoverlapping segments of at least four amino acids identical to segments of SEQ ID NO: 2 (DIRS4); SEQ ID NO: 9, 11, 13, or 53 (TNF α or TNF γ); SEQ ID NO: 15, 17, 19, 21, 23, 25, or 27 (TLR-L1 through TLR-L5); SEQ ID NO: 29 (TGF α); SEQ ID NO: 31 or 33 (5685C6); SEQ ID NO: 35, 37, 39, or 41 (claudins); or SEQ ID NO: 43, 45, 47, 49, or 51 (schlafens).
2. The substantially pure or isolated antigenic polypeptide of Claim 1, wherein said distinct nonoverlapping segments of identity:
 - a) include one of at least eight amino acids;
 - b) include one of at least four amino acids and a second of at least five amino acids;
 - c) include at least three segments of at least four, five, and six amino acids; or
 - d) include one of at least twelve amino acids.
3. The composition of matter of Claim 1, wherein said polypeptide:
 - a) is unglycosylated;
 - b) is from a primate, such as a human;
 - c) comprises at least contiguous seventeen amino acids of said SEQ ID NO;
 - d) exhibits at least four nonoverlapping segments of at least seven amino acids of said SEQ ID NO;
 - e) has a length at least about 30 amino acids;
 - f) has a molecular weight of at least 30 kD with natural glycosylation;
 - g) is a synthetic polypeptide;
 - h) is attached to a solid substrate;
 - i) is conjugated to another chemical moiety; or
 - j) comprises a detection or purification tag, including a FLAG, His6, or Ig sequence.
4. A composition comprising:
 - a) a substantially pure polypeptide of Claim 1;

WO 02/20569

PCT/US01/28013

68

- b) a sterile polypeptide of Claim 1; or
c) said polypeptide of Claim 1 and a carrier, wherein said carrier is:
i) an aqueous compound, including water, saline, and/or buffer; and/or
ii) formulated for oral, rectal, nasal, topical, or parenteral administration.
- 5
5. A kit comprising a polypeptide of Claim 1, and:
a) a compartment comprising said polypeptide; or
b) instructions for use or disposal of reagents in said kit.
- 10 6. A binding compound comprising an antigen binding site from an antibody,
which specifically binds to a polypeptide of Claim 1, wherein:
a) said binding compound is in a container;
b) said polypeptide is from a human;
c) said binding compound is an Fv, Fab, or Fab2 fragment;
15 d) said binding compound is conjugated to another chemical moiety; or
e) said antibody:
i) is raised to a recombinant polypeptide of Claim 1;
ii) is raised to a purified polypeptide of Claim 1;
iii) is immunoselected;
20 iv) is a polyclonal antibody;
v) binds to a denatured antigen;
vi) exhibits a Kd to antigen of at least 30 μ M;
vii) is attached to a solid substrate, including a bead or plastic membrane;
viii) is in a sterile composition; or
25 ix) is detectably labeled, including a radioactive or fluorescent label.
7. A kit comprising said binding compound of Claim 6, and:
a) a compartment comprising said binding compound; or
b) instructions for use or disposal of reagents in said kit.
- 30

WO 02/20569

PCT/US01/28013

69

8. A method of producing an antigen:antibody complex, comprising contacting under appropriate conditions a primate polypeptide with an antibody of Claim 7, thereby allowing said complex to form.
- 5 9. A method of producing an antigen:antibody complex, comprising contacting under appropriate conditions a polypeptide of Claim 1 with an antibody which binds thereto, thereby allowing said complex to form.
10. A method of producing a binding compound comprising:
- 10 a) immunizing an immune system with a polypeptide of Claim 1; or
- b) introducing a nucleic acid encoding said polypeptide of Claim 1 to a cell under conditions leading to an immune response, thereby producing said binding compound; or
- 15 c) selecting for a phage display library for those phage which bind to said polypeptide of Claim 1.
11. A composition comprising:
- a) a sterile binding compound of Claim 7, or
- b) said binding compound of Claim 7 and a carrier, wherein said carrier is:
- 20 i) an aqueous compound, including water, saline, and/or buffer; and/or
- ii) formulated for oral, rectal, nasal, topical, or parenteral administration.
12. An isolated or recombinant nucleic acid encoding said polypeptide of Claim 1, wherein said:
- 25 a) polypeptide is from a primate; or
- b) said nucleic acid:
- i) encodes an antigenic polypeptide;
- 30 ii) encodes a plurality of antigenic polypeptide sequences of SEQ ID NO:2, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53;

WO 02/20569

PCT/US01/28013

70

- iii) exhibits identity over at least thirteen nucleotides to a natural cDNA encoding said segment;
- iv) is an expression vector;
- v) further comprises an origin of replication;
- 5 vi) is from a natural source;
- vii) comprises a detectable label;
- viii) comprises synthetic nucleotide sequence;
- ix) is less than 6 kb, preferably less than 3 kb;
- x) is a hybridization probe for a gene encoding said polypeptide; or
- 10 xi) is a PCR primer, PCR product, or mutagenesis primer.
13. A cell comprising said recombinant nucleic acid of Claim 12.
14. The cell of Claim 13, wherein said cell is:
- 15 a) a prokaryotic cell;
- b) a eukaryotic cell;
- c) a bacterial cell;
- d) a yeast cell;
- e) an insect cell;
- 20 f) a mammalian cell;
- g) a mouse cell;
- h) a primate cell; or
- i) a human cell.
- 25 15. A kit comprising said nucleic acid of Claim 12, and:
- a) a compartment comprising said nucleic acid;
- b) a compartment further comprising a primate polypeptide; or
- c) instructions for use or disposal of reagents in said kit.
- 30 16. A nucleic acid which:

WO 02/20569

PCT/US01/28013

71

- a) hybridizes under wash conditions of 30 minutes at 37° C and less than 2M salt to the coding portion of SEQ ID NO: 1, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, or 52; or
- b) exhibits identity over a stretch of at least about 30 nucleotides to a SEQ ID NO: 1, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, or 52.
17. The nucleic acid of Claim 16, wherein:
- a) said wash conditions are at 45° C and/or 500 mM salt; or
- b) said stretch is at least 55 nucleotides.
18. The nucleic acid of Claim 16, wherein:
- a) said wash conditions are at 55° C and/or 150 mM salt; or
- b) said stretch is at least 75 nucleotides.
19. A method of making:
- a) a duplex nucleic acid comprising contacting:
- i) a nucleic acid of Claim 12 with a complementary nucleic acid, under appropriate conditions, thereby resulting in hybridization to form said complex; or
- ii) a nucleic acid complementary to said nucleic acid of Claim 12 with its complementary nucleic acid, under appropriate conditions, thereby resulting in hybridization to form said complex; or
- b) a polypeptide comprising culturing a cell comprising said nucleic acid of Claim 12 under conditions resulting in expression of said nucleic acid.
20. A method of:
- a) modulating physiology or development of a cell comprising contacting said cell with a polypeptide comprising SEQ ID NO: 9, 11, 13, 29, 31, 33, or 53;
- b) modulating physiology or development of a cell comprising contacting said cell with a binding compound of Claim 6 which binds to SEQ ID NO: 9, 11, 13, 29,

WO 02/20569

PCT/US01/28013

72

31, or 33, thereby blocking signaling mediated by a protein comprising said
SEQ ID NO;

- c) labeling a cell comprising contacting said cell with a binding compound which binds
to SEQ ID NO: 2, 15, 17, 19, 21, 23, 25, or 27; or
- 5 d) diagnosing a medical condition comprising a step of evaluating expression of nucleic
acid comprising SEQ ID NO: 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, or 50.

WO 02/20569

PCT/US01/28013

73

SEQUENCE IDENTIFICATION NUMBERS

- SEQ ID NO: 1 is primate DIRS4 nucleotide sequence.
SEQ ID NO: 2 is primate DIRS4 polypeptide sequence.
5 SEQ ID NO: 3 is tissue factor polypeptide sequence.
SEQ ID NO: 4 is primate IFN α PR polypeptide sequence.
SEQ ID NO: 5 is CRF1-4 polypeptide sequence.
SEQ ID NO: 6 is cytor x polypeptide sequence.
SEQ ID NO: 7 is cytor7 polypeptide sequence.
10 SEQ ID NO: 8 is primate TNF α nucleic acid sequence.
SEQ ID NO: 9 is primate TNF α polypeptide sequence.
SEQ ID NO: 10 is rodent TNF α nucleic acid sequence.
SEQ ID NO: 11 is rodent TNF α polypeptide sequence.
SEQ ID NO: 12 is primate TNF β nucleic acid sequence.
15 SEQ ID NO: 13 is primate TNF β polypeptide sequence.
SEQ ID NO: 14 is primate TLR-L1 nucleic acid sequence.
SEQ ID NO: 15 is primate TLR-L1 polypeptide sequence.
SEQ ID NO: 16 is rodent TLR-L1 nucleic acid sequence.
SEQ ID NO: 17 is rodent TLR-L1 polypeptide sequence.
20 SEQ ID NO: 18 is primate TLR-L2 nucleic acid sequence.
SEQ ID NO: 19 is primate TLR-L2 polypeptide sequence.
SEQ ID NO: 20 is rodent TLR-L2 nucleic acid sequence.
SEQ ID NO: 21 is rodent TLR-L2 polypeptide sequence.
SEQ ID NO: 22 is primate TLR-L3 nucleic acid sequence.
25 SEQ ID NO: 23 is primate TLR-L3 polypeptide sequence.
SEQ ID NO: 24 is primate TLR-L4 nucleic acid sequence.
SEQ ID NO: 25 is primate TLR-L4 polypeptide sequence.
SEQ ID NO: 26 is primate TLR-L5 nucleic acid sequence.
SEQ ID NO: 27 is primate TLR-L5 polypeptide sequence.
30 SEQ ID NO: 28 is primate TGF α nucleic acid sequence.
SEQ ID NO: 29 is primate TGF α polypeptide sequence.

WO 02/20569

PCT/US01/28013

74

- SEQ ID NO: 30 is primate 5685C6 nucleic acid sequence.
SEQ ID NO: 31 is primate 5685C6 polypeptide sequence.
SEQ ID NO: 32 is rodent 5685C6 nucleic acid sequence.
SEQ ID NO: 33 is rodent 5685C6 polypeptide sequence.
- 5 SEQ ID NO: 34 is primate claudin-D2 nucleic acid sequence.
SEQ ID NO: 35 is primate claudin-D2 polypeptide sequence.
SEQ ID NO: 36 is primate claudin-D8 nucleic acid sequence.
SEQ ID NO: 37 is primate claudin-D8 polypeptide sequence.
SEQ ID NO: 38 is primate claudin-D17 nucleic acid sequence.
- 10 SEQ ID NO: 39 is primate claudin-D17 polypeptide sequence.
SEQ ID NO: 40 is primate claudin-D7.2 nucleic acid sequence.
SEQ ID NO: 41 is primate claudin-D7.2 polypeptide sequence.
SEQ ID NO: 42 is primate schlafen B nucleic acid sequence.
SEQ ID NO: 43 is primate schlafen B polypeptide sequence.
- 15 SEQ ID NO: 44 is primate schlafen C nucleic acid sequence.
SEQ ID NO: 45 is primate schlafen C polypeptide sequence.
SEQ ID NO: 46 is primate schlafen D nucleic acid sequence.
SEQ ID NO: 47 is primate schlafen D polypeptide sequence.
SEQ ID NO: 48 is primate schlafen E nucleic acid sequence.
- 20 SEQ ID NO: 49 is primate schlafen E polypeptide sequence.
SEQ ID NO: 50 is primate schlafen F nucleic acid sequence.
SEQ ID NO: 51 is primate schlafen F polypeptide sequence.
SEQ ID NO: 52 is rodent TNF α nucleic acid sequence.
SEQ ID NO: 53 is rodent TNF α polypeptide sequence.

WO 02/20569

1/19

PCT/US01/28013

```

TissueFactor      --METPAWPRVPRPETAVARTILLGWVFAQVAGASGTTN-T
1274993R          -----MAGPERWGPLLLCLLQAAPGRPR-L
hIFNabR           MLLSQNAFIF--RSLNLVLMVYISLVFGISYDSFDYT---
CRF2-4            -----MAWSLGSWLGGCLLVSAALGMV---
cytor x           --MMP-----KHCFLGFLISFFLTGVAGTQSTHES---
cytor7            -MRAPGRPAL--RPLPLPPLLLLLLAPWGRAVFCVSGGL

TissueFactor      VAAYNLTKSTNEFKTILEWEPK---PVN-QVYTVQISTKS
1274993aaR        APPQNVTLTLLSQNFSVYLTWLPGLGNPQD-VTYFVAYQSSP
hIFNabR           DESCTFKISLRNFRSILSWE-LKNHSIVPTHYTLTYTIMS
CRF2-4            PPEENVRMNSVNFKNILQWESPAFAKGN-LTFTAQYLSY-
cytor x           LKPRVQFQSRNFHNILQWQPGRAITGNSSVYFVQYKIYG
cytor7            PKPANITFLSINMKNVLQWTPEGLQGVKVTYTVQYFIYG

TissueFactor      --GDWKS--CFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSY
1274993R          TRRRWREVEECAGTKELLCMMCLKKQDLYNKFKGRVRTV
hIFNabR           KPEDLKVVKNCANTTRSFCDLTDEW--RSTHEAYVTVLEG
CRF2-4            --RIFQDK--CMNTTLECDFSSLS-KYGDHTL--RVRAE
cytor x           -QRQWKNKEDCWGTQELSCDLTSET-SDIQEPYYGRVRAA
cytor7            -QKKWLNKSECRNINRTYCDLSAET-SDYEHQYYAKVKAI

TissueFactor      PAGNVESTGSAGEFLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFQ
1274993R          SPSSKS-----PWVESEYLDYLFVEVEPAPP-VLVLTQ
hIFNabR           FSGNTT-----LFSCSHNEFLAIDMSFEPP-EFEIVG
CRF2-4            FADEHS-----DWVNIT-FCPVDDTIIGPP-GMQVEV
cytor x           SAGSYS-----EWSMTPRFTPWETKIDPP-VMNITQ
cytor7            WGTKCS-----KWAESGRFYPFLETQIGPP-EVALTT

TissueFactor      VGTKVNVTVEDERTLVR-RNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYY
1274993R          T-EEILSANATYQLPP-----CMPPLD---LKYEVAF
hIFNabR           FTNHINVVVKFPSIVE---EELQFDLSLVIE-EQSEGIVK
CRF2-4            LADSLHMRFLAPKIEN---EYETWTMKNVYN-SWTYNVQY
cytor x           VNGSLLVILHAPNLPYRYQKEKNVSIEDYY--ELLYRVFI
cytor7            DEKSI SVVLTAPKWKRNPEDLPVSMQIYS-NLKYNVSV

```

FIG.1A

WO 02/20569

2/19

PCT/US01/28013

```

TissueFactor      WKSSSSG-KKTAKTNTNEFLIDV--DKGENYCFVSQAVIP
1274993R          WKEGAGN-----KVGSSFPAPR--LGPLLHPFLLRFFSP
hIFNabR           KHKPEIK---GNMSGNFTYIIDK-LIPNTNYCVSVYLEHS
CRF2-4            WKNGTDE--KFQITPQYDFEVLRLNLEPWTTCVQVRGFLP
cytor x           INNSLEKEQKVYEGAHRAVEIEA-LTPHSSYCVVAEIIYQP
cytor7            LNTKSNR-TWSQCVTNHTLVLTW-LEPNTLYCVHVESFVP
TissueFactor      SRTVNRKSTDs-PVECMGQEKGE-----FREIFYII
1274993R          -----SQPAPAPLLQEVFPVHS-----
hIFNabR           D---EQAVIKS-PLKCTLLPPGQESSESASAKIGGIITVF
CRF2-4            DR--NKAGEWS-EPVCEQTHDET-----VPSWMVAVIL
cytor x           ML--DRRSQRS-EERCVEIP-----
cytor7            GP--PRRAQPS-EKQCARTLKDQSSEFKAKIIFWYVLPIS

TissueFactor      GAVAFVVIILVILAILSLHKCRKAG-----
1274993R          -----
hIFNabR           LIALVLTSTIVTLKWIGYICLRNSLPKVLNFHN---FLAW
CRF2-4            MASVFMVCLALLGCFSLWCVYKKT-----KY
cytor x           -----
cytor7            IT-VFLFSVMGYSIYRIHVGKEKHPANLILIYGNEFDKR

TissueFactor      -----
1274993R          -----
hIFNabR           PFPNLPPLAMDMVEVIYINRKKKVWDYNYDDDES-DSDTE
CRF2-4            AFS-----
cytor x           -----
cytor7            FFVPAEKIVINFITLNISSDKISHQDMSLLGKSSDVSSL

TissueFactor      -----VGQSWK-----EN---
1274993R          -----
hIFNabR           AAPRTSGGGYTMHGLTVRPLGQASATSTESQLIDPESEEE
CRF2-4            --PR---NSLPQHLKEFLGHPHNTLLFFSFPLSDEN---
cytor x           -----
cytor7            NDPQPSGNLRPPQEEEEVKHLGYASHLMEIFCDSEENTEG

```

FIG.1B

WO 02/20569

3/19

PCT/US01/28013

```

TissueFactor -----SP
1274993R -----
hIFNabR PEEDYSSTEGSGGRITFNVDLNSVFLRVLDDEDSDDLEAP
CRF2-4 -----VFDK
cytor x -----
cytor7 SLQEEVSTQGTLLSQAALAVLGPQTLQYSYTPQLQDLDP

TissueFactor -----
1274993R -----
hIFNabR PDLPEVDVELPTMPKDSP-QQLELLSGPCERRKSPLQDPF
CRF2-4 -----D-----
cytor x -----
cytor7 TSLTQQESLSRTIPPDKTVIEYDYDVRTTDICAGPEEQEL

TissueFactor LNVS-----
1274993R -----
hIFNabR LMLSSHLEEMVDPEDPDNVQSNHLLASGEG-----TQ
CRF2-4 LSVIAEDSESG-KQNP-----G-----DS
cytor x -----
cytor7 LAQEHTDSEEGPEEPSTTLVDWDPQTGRLCIPSLSSFQDQ

TissueFactor -----
1274993R -----
hIFNabR PTFPSPSSEG-----LWSEDAPSDQSDTSES
CRF2-4 CSLGTTPPGQG-----PQS-----
cytor x -----
cytor7 DSEGCEPSEGDGLGEEGLLSRLXEEPAPDRPPGENETYLM

TissueFactor -----
1274993R -----
hIFNabR DVDLGDGYIMR---
CRF2-4 aa -----
cytor x -----
cytor7 QFMEEWGLYVQMEN

```

FIG.1C

1	pTNF- α	7	AGREGEE-7
1	rTNF- α	1	NMAWGAAAAALLWLQTACAGARQELKKSRQLFARVDSFNITTSNREGFGP
1	pTNF- γ	0	
8	pTNF- α	51	---PSOASGPEFSDAHMTWLNFRVRPDDGALKRCKGSRDKKPR---DLFG
51	rTNF- α	100	SVKPEASGPELLSDAHMTWLNFRVRPDDGSSRRKCRGRDKKSRGLSLGPG
0	pTNF- γ	0	
52	pTNF- α	92	PPGPGP-----AEVTAETILLHEFOELLKEATERRFSGLLDPLLPQG
101	rTNF- α	150	PPGPPGPPGPGSGVGVTFEALLQEFQETLKEATELRFSGLLDPTLLPQE
1	pTNF- γ	0	
93	pTNF- α	142	RGLRLVGAEAFCHRCLOGPRVDKRTIVELHGFQAPAPQGAFLRSGELSLAS
151	rTNF- α	200	PSQRLVVEAFYCRLLKGFVLVDKTIIVELQGFQAPTQGAFLRSGELSLSL
1	pTNF- γ	25	HELGVYLPDAEGAFRRGFGNLITS
143	pTNF- α	192	GRFTAPVSGIFQFSASLHVDHSELOGKARLRDVRVCLFIESLCQRHT
201	rTNF- α	250	GRFTAPVSAIFQFSASLHVDHSELOGKRLRTRDMRVLLFIESLCHRHT
26	pTNF- γ	75	GQYRAPVAGFYALANTLHVVALGEPGRGPRPRDHLRLLLICIQSRQRNT
193	pTNF- α	242	CLEAVSGLESNSRVETLQVGGILLQIQAGQYASVFVDNGSCAVLTIQAGSS
251	rTNF- α	300	SLEAVSGLESNSRVETVQVGGILLHLLQSGQYVSFVDNNGSCAVLTIQNTSS
76	pTNF- γ	124	SLEATMGLESSELFTISVNGVLYLQMGQWTSACRPP-QALPLRCKWS
243	pTNF- α	250	PSGMLLGT
301	rTNF- α	308	FSGMLLGT
125	pTNF- γ	135	TDLDNVWTVSE

FIG. 2

[illegible]

FIG. 3A

FIG. 3B

FIG. 3C

WO 02/20569

8/19

PCT/US01/28013

```

T1RL1_HU HFSLPVKGVLDQLPAFIQIDLQENPDWCTCDIMGLKDWTEHANSPIVINEVTCESPAKH
T1RL2_HU HFTSLFVSGVLDQLKSLIQIDLDHNPWDCTCDIVGKLVQELKVGVLVDEVICAKPKE
T1RL4_HU KEMFLPVSGVLDQLQSLTQIDLEGNPDWCTCDIVALKWVKELSDGIVWKELKCTETVQF
T1RL3_HU YFLYLPVAGVLEHNAIVQIDLNENPDWCTCDIVPFKQWETITSSVSVGVGLCRSPENL
T1RL5_HU QFTHLPVSNILDLDLITQIDLEDNPDWDCSDLVGLQQWIOKLSKNVTDDILCTSPGHL
* *** .:.* : ****. *****: : : * : * :
AGEILKFLGREAIQPD-----SPNLSGTVLSMHNHTDTPRSLSVS--PSSYPELH--
T1RL1_HU AETDMRSIKSELLCPDYSDVVVSTPTPSSIQVEARTSAVTPAYRLNSTGAPASLGAGGA
T1RL2_HU ANIELKSLKNEILCEK-----LLNKSPAPFTSPAPAITFTPLGLFIRSPFGG--
T1RL4_HU THRDVRTIELEVLCP-----MLHVAPAGESPAQPGDSHLIGAPTASPYEFSPPG--
T1RL3_HU DKKELKALNSEILCPG-----LVNPNPMPTQTSYLMVTTPATTNTADTILRSLT
T1RL5_HU : : * : **
TEVPLSVLILGLLVFVILSVCFAGLVFVLKRR-KGVPSVPRNTNMLDVSSFQIQGSI
T1RL1_HU SSVPLSVLILSLLVFMVSFVAAGLVFLVMKRR-KKNQSDHTSTNNSDVSSFNMQYSVI
T1RL2_HU -PVPLSILILSILVILVTVFVAFCLLVFVLRN-KKPTYKHEGLGNPDGCGMQLQLRKH
T1RL4_HU GEVPLSVLILSLLVLFSAVFAAGLVFVILRRRRKKLPFRSKRQEGVDLTGIGQCHRL
T1RL3_HU DAVPLSVLILGLLIMEFTIVFCAAGLVFVILHRR-RRYKKKQVDEQMRDNSPVHLQYSNY
T1RL5_HU *****: : : * . . . * : * :

```

FIG. 3D

FIG. 3E

WO 02/20569

10/19

PCT/US01/28013

TLRL1_HU	ERVKELPS--AG--LVHYN--FCTLPRQFAPSIESRRQNQ-----DRINKTVLYGT
TLRL2_HU	EPDKHCSTTPAGNSLPEYPKFCSPAAYTFSPNYDLRRPHQYLHPGAGDSRLREVLVSP
TLRL4_HU	ESKKEYNS-----IGVSGFEIRYPERQPDK-----KSKKSLLIGN
TLRL3_HU	RPOPACTVGFVDCLYGTVPKLKELHVPHPGMPDLOQDA-----RLKETLLFSA
TLRL5_HU	EKERELQQLG----ITEYLRKNIAQLQPDMEAHYPGAHEEL-----KIMETIMYSR
	. * : . : : .
TLRL1_HU	PRKCFVGQS-KPNHPLLQAKPOSEPDYLEVLEKQTATISQL
TLRL2_HU	PSAVFVEPN-RNEYLELAKLVNVEPDYLEVLEKQTFFSOF
TLRL4_HU	HSKIVVEQR-KSEYFELKAKLQSSPDYLVLEEQTALNKI
TLRL3_HU	EKGFTDHQTQKSDYLELRAKLQTKPDYLEVLEKTYTRF--
TLRL5_HU	PRKVLVEQT-KNEYFELKANLHAEPDYLEVLEQQT-----
	: : : * : : . : : : * : : : *

FIG. 3F

FIG. 4

FIG. 5A

FIG. 5B

FIG. 5B

WO 02/20569

14/19

PCT/US01/28013

```

B 1 MESIKTDTEMPYPEVIVDVGRVIFGEENRKKMTNSCLKRSENRIRRA 48
C 1 MEANHCSLGVPSYPLDIVDVGVTLGEENRKKLQKTQDQ-EEARVIRA 49
D 1 MNIISVDLETNYAELVLDVGRVTLGENSRKKMKDKLRKKQNERVSR 47
E 1 MSLRIDVDTNFPCVVDAGKVTILGTQORQEMDPRLEK-QNEIIRRA 46
F 1 MEANQCPVVEPSYPLDIVNVGEVTLGEENRKKLQKTQDQ-EKERVIRA 49
      . . . . * * * * . . . . **
      . . . . * * * * . . . . **

B 49 ICALLNSGGGVTKAEIDDKTYSYQCHGLGQDLETSTFQKLLPS-GSQKYLD 97
C 50 ACALLNSGGGVIQMEMANR--DERPTMGLDLEESLRKLIQYPYIQAFFE 97
D 48 MCALLNSGGGVTKAEIENEDYSYTKDGI GLDLENSFSNILLF-VP-EYLD 95
E 47 VCALLNSGGGIIKAEIE-----NKGNYERHGVGLDVPPIFRSHLD 87
F 50 ACALLNSGGGVIRMAKK----VEHPVEMGLDLEQSLRELIQSSDIQAFFE 95
      ******.
      *

B 98 YMQQGHNLILFVKWSPD-----VFSLEPLRICSLRSNLYRRDVTSAINLSA 143
C 98 TKQGRGCFYIFVKWSGDPFLKDGFSNRI CSLSSSLYCRSGTSLHMNS 147
D 96 FMQNGNYFLIFVKWS-----LNTSGLRITTLSSNLYKRDI TSAKVMA 139
E 88 KMQKENHFLIFVKSWNTEAGP-----LATICSNLYHRERTSTVDMS 130
F 96 TKQGRGCFYIFVKWSGSGPPEPDRSVKPRLCSSSLYRSETSVRSMD 145
      *****
      *
      ... * * * * *
      . . .

```

FIG. 6A

WO 02/20569

15/19

PCT/US01/28013

```

B 144 SSALELLREKGFRAQGRPRVKLHPQOVLNRCIOEEDMR-----ILA 187
C 148 ROAEFLKTKER-QSKYNLINEGSPSKIMKAVYQNISESN-----PA 189
D 140 TAALEFLKD--MKTRGRGLYLRPELLAKRPCVDIOENNKK-----ALA 181
E 131 QEALAFLLKCR--QTPTNINVSNSLGPQAAQGSVOYEGNIN-----VSA 172
F 146 REAFCFLKTKR----KPKILLEEG-PFHKLHKGVIQELPNSDPADNSDPA 190
      *      *      *      *      *      *      *      *      *
B 188 SEFFKDKLMYKEKLNFTFESTHVEFKRFTTKKVIPIKEMLPHYVSAFAN 237
C 190 YEVEQTDTIEYGEILSPESPESIEFKQSTKHIQQYVENIIPEYISAFAN 239
D 182 GVFFDRTELDREKELTFTFESTHVEIKNFSTKELQRIKIKILPOIVSAFAN 231
E 173 AALFDRKRLOYLEKLNLPSTHVEFVFMFST-DVSHCVKDRLLPKCVSAFAN 221
F 191 DLIHQDYILEYGEILPFEPESQLVEFKQSTKHFQEVYVKRTIPEYVPAFAN 240
      *      *      *      *      *      *      *      *      *
B 238 TGGYVLIGVDDKSKEVYGCKWEKYNPDLLKKEIENCIKELPTFFHCCEK 287
C 240 TEGGYLFIGVDDKSRKVLGCAKEOVDPDSLKNVIARAI SKLPIVHFCSSK 289
D 232 TDGGYLFITGLNED-KEILGFAEMSDLDLLEIEKSIKMPVHHFCMEK 280
E 222 TEGGYVFFGVHDETCQVIGCEKEKIDLTSLRASIDGICIKLFPVHHFTQR 271
F 241 TGGGYLFXGVDDKSREVLGCAKENXDPDSLKXKIEAIIKLPXHHFCQPO 290
      *      *      *      *      *      *      *      *      *

```

FIG. 6B

WO 02/20569

16/19

PCT/US01/28013

```

B 288 PKVNTTKILNVYQKVDLVGYVCVIQVEFECCVVFPAEADPSWINKNSVT 337
C 290 PRVEYSTKIVEFCGKELYLCVIKZAFCCVVFSEAPKSMVREKYIR 339
D 281 KKINYSCKFLGVYDKSLGGVYCALVERFCCAVFAKEPDSWHVKNRVM 330
E 272 PEIKYVLNLFVHDGALRGYVCAIKVEKEFCAVFAKVPSSWQVKDNVR 321
F 291 RPITFTLKIVDLKRGELYGYACMIRVNPFCCAVFSEAPNSWIVEDKYVC 340
      . . . * * * * . . . * * * * . . . *
B 338 RLTAEQWVVMMLDTQ----- 352
C 340 PLTTEEWVEKMDADPEPPDEAFESQLSLSDSPSLCRPVYSKKGLEH 389
D 331 QLTKREWIOFMVEAPKFS-SSYEEVISQINTSLPAPHSWPLL-----EW 374
E 322 QLPTREWTAMMEADPDLS--RCPEMVLQSLSSATPRSKPVCITHKNSC 369
F 341 SLTTEKWVGMMTDTDPDLL-QLSEDEFECQLSLSSGPPLSRPVYSKKGLEH 389
      * * * * *
B 353 -----SGKKG 357
C 390 KADLQOHLFPVPPGHLECTPESLWKELSLQHEGLKELIHKOMRPFSGIV 439
D 375 QR--QRHCPGLSGRITYTPENLCRLFLQHEGLKQLICEMDSVRKGS 422
E 370 LKEQQRYPFPVSDRVVTPESLYKELFSQHKGLRDLINTEMPFSGIL 419
F 390 KKEQLQLLFSVPPGYIRYTPESLWRDLISEHRGLEELINKMQOPFFRGIV 439

```

FIG. 6C

WO 02/20569

17/19

PCT/US01/28013

```
B 358
C 440 ILRSWAVDLNLQKPGVICDALLIAQNSTPILYTLIREQDAEGQDYCTR 357
D 423 IFSRSWVDLGLQENHKVLC DALLISQSPFPVLYTFHMTQDEEFKGYSTQ 489
E 420 IFSQSWAVDLGLQEKQGVICDALLISQNTPIYTLIFSKWDAGCKGYSMI 472
F 440 ILRSWAVDLNLQKPGVICDALLIAQNSTPILYTLIREQDAEGQDYCTR 469
357
B 358
C 490 TAFTLKQKLVNMGGYTGKVCVRKAVLC LSPSSAEALEAAVSPMDYPASY 539
D 473 TALTLKQKLVNMGGYTGKVCVMTKLFYLSPEG----- 504
E 470 VAYSLKQKLVNMGGYTGRCTPLVCVLNSDRKAQSVYSSY-LQIYFESY 518
F 490 TAFTLKQKLVNMGGYTGKVCVRKAVLC LSPSSAEALEAAVSPMDYPASY 539
357
B 358
C 540 SLACTQHMEALLQSLVIVLLGFRSLSDQLGCEVLNLLTAQQYEIFRSRL 589
D 505 -----MTSCQYDLRSQVI 517
E 519 NFMTPOHMEALLQSLVIVLLGFKFSLSEELGSEVLNLLTNKQYELLKSNL 568
F 540 SLACTQHMEALLQSLVIVLLGFRSLSDQLGCEVLNLLTAQQYEIFRSRL 589
```

FIG. 6D

WO 02/20569

18/19

PCT/US01/28013

B 358
C 590 RKNRELFVHGLPGSGKTTIMAMKIMEKIRNVFCEAHRILYVCENQPLRNF 357 639
D 518 YPESYFTRRKYLIKALFKALKRLKSLRDQFSFAENLYQIIG----- 599
E 569 RKTRELFVHGLPGSGKTTILALRIMEKIRNVFCEPANILYICENQPLKKL 618
F 590 RKNRELFVHGLPGSGKTTIMAMKIMEKIRNVFCEAHRILYVCENQPLRNF 639

B 358
C 640 ISD--RNICRAETRETFLREKFEHQHIVIDEAQNFRTEDGDWYRKAKTI 357 687
D 560 -----IDCFQKNDKKMFKSCRRL 577
E 619 VFSKKNICQFVTRKTFMKNNFEHQHIIIDDAQNFRTEDGDWYGKAKFI 668
F 640 ISD--RNICRAETRKTFLRENFEHQHIVIDEAQNFRTEDGDWYGKAKSI 687

B 358
C 688 TQREKDCPGVLWIFLDYFQTSHLGHSGLPPLSAQYPREELTRVVRNADEI 357 737
D 578 T 578
E 669 TRQORDGPGVLWIFLDYFQTYHLSCSGLPPLSPSDOYPREETINRVVRNAGPI 718
F 688 TRAKGGPGILWIFLDYFQTSHLDCSGLPPLSDQYPREELTRIVRNADPI 737

FIG. 6E

FIG. 6F

WO 02/20569

PCT/US01/28013

1

SEQUENCE LISTING

<110> Schering Corporation

<120> MAMMALIAN GENES; RELATED REAGENTS AND METHODS

<130> DX01169K

<150> 60/231,267

<151> 2000-09-08

<160> 53

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 704

<212> DNA

<213> Homo sapiens

```
<400> 1
atggcggggc cggagcgctg gggccccctg ctctgtgccc tgctgcaggg cgctccaggg 60
aggccccctc tggccccctc ccagaatgtg acgctgctct cccagaactt cagcgtgtac 120
ctgacatggc tcccagggtc tggcaacccc caggatgtga cctattttgt ggccctacag 180
agctctccca ccgtagacg gtggcgcgaa gtggaagagt gtgcgggaac caaggagctg 240
ctatgttcta tgatgtgctt gaagaaacag gacctgtaca acaagttcaa gggacgcgtg 300
cggacgggtt ctcccagctc caagtcctcc tgggtggagt ccgaatacct ggattacctt 360
tttgaagtgg agccggcccc acctgtcctg gtgctcacc cagcggagga gatcctgagt 420
gccaatgcc cgtaccagct gccccctgc atgccccac tggatctgaa gtatgaggtg 480
gcattctgga aggagggggc cggaaacaag gtgggaagct cctttcctgc ccccaggcta 540
ggccccctcc tccaccctt ctactcagg ttcttctcac cctcccagcc tgctcctgca 600
```

WO 02/20569

PCT/US01/28013

2

ccctctctcc aggaagtctt cctgtacac tctgaactt ctggcagtc gccctaataa 660
aatctgatca aagtaaaaaa aaaaaaaaaaag ggcggccgcc gact 704

<210> 2

<211> 211

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

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

WO 02/20569

PCT/US01/28013

3

Ala Pro Arg Leu Gly Pro Leu Leu His Pro Phe Leu Leu Arg Phe Phe
 180 185 190

Ser Pro Ser Gln Pro Ala Pro Ala Pro Leu Leu Gln Glu Val Phe Pro
 195 200 205

Val His Ser
 210

<210> 3

<211> 295

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

Met Glu Thr Pro Ala Trp Pro Arg Val Pro Arg Pro Glu Thr Ala Val
 1 5 10 15

Ala Arg Thr Leu Leu Leu Gly Trp Val Phe Ala Gln Val Ala Gly Ala
 20 25 30

Ser Gly Thr Thr Asn Thr Val Ala Ala Tyr Asn Leu Thr Trp Lys Ser
 35 40 45

Thr Asn Phe Lys Thr Ile Leu Glu Trp Glu Pro Lys Pro Val Asn Gln
 50 55 60

Val Tyr Thr Val Gln Ile Ser Thr Lys Ser Gly Asp Trp Lys Ser Lys
 65 70 75 80

Cys Phe Tyr Thr Thr Asp Thr Glu Cys Asp Leu Thr Asp Glu Ile Val
 85 90 95

Lys Asp Val Lys Gln Thr Tyr Leu Ala Arg Val Phe Ser Tyr Pro Ala
 100 105 110

Gly Asn Val Glu Ser Thr Gly Ser Ala Gly Glu Pro Leu Tyr Glu Asn
 115 120 125

Ser Pro Glu Phe Thr Pro Tyr Leu Glu Thr Asn Leu Gly Gln Pro Thr

WO 02/20569

PCT/US01/28013

4

130 135 140
 Ile Gln Ser Phe Glu Gln Val Gly Thr Lys Val Asn Val Thr Val Glu
 145 150 155 160
 Asp Glu Arg Thr Leu Val Arg Arg Asn Asn Thr Phe Leu Ser Leu Arg
 165 170 175
 Asp Val Phe Gly Lys Asp Leu Ile Tyr Thr Leu Tyr Tyr Trp Lys Ser
 180 185 190
 Ser Ser Ser Gly Lys Lys Thr Ala Lys Thr Asn Thr Asn Glu Phe Leu
 195 200 205
 Ile Asp Val Asp Lys Gly Glu Asn Tyr Cys Phe Ser Val Gln Ala Val
 210 215 220
 Ile Pro Ser Arg Thr Val Asn Arg Lys Ser Thr Asp Ser Pro Val Glu
 225 230 235 240
 Cys Met Gly Gln Glu Lys Gly Glu Phe Arg Glu Ile Phe Tyr Ile Ile
 245 250 255
 Gly Ala Val Ala Phe Val Val Ile Ile Leu Val Ile Ile Leu Ala Ile
 260 265 270
 Ser Leu His Lys Cys Arg Lys Ala Gly Val Gly Gln Ser Trp Lys Glu
 275 280 285
 Asn Ser Pro Leu Asn Val Ser
 290 295
 <210> 4
 <211> 515
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 4
 Met Leu Leu Ser Gln Asn Ala Phe Ile Phe Arg Ser Leu Asn Leu Val
 1 5 10 15

WO 02/20569

PCT/US01/28013

5

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

WO 02/20569

PCT/US01/28013

6

Leu Thr Ser Thr Ile Val Thr Leu Lys Trp Ile Gly Tyr Ile Cys Leu
 260 265 270
 Arg Asn Ser Leu Pro Lys Val Leu Asn Phe His Asn Phe Leu Ala Trp
 275 280 285
 Pro Phe Pro Asn Leu Pro Pro Leu Glu Ala Met Asp Met Val Glu Val
 290 295 300
 Ile Tyr Ile Asn Arg Lys Lys Lys Val Trp Asp Tyr Asn Tyr Asp Asp
 305 310 315 320
 Glu Ser Asp Ser Asp Thr Glu Ala Ala Pro Arg Thr Ser Gly Gly Gly
 325 330 335
 Tyr Thr Met His Gly Leu Thr Val Arg Pro Leu Gly Gln Ala Ser Ala
 340 345 350
 Thr Ser Thr Glu Ser Gln Leu Ile Asp Pro Glu Ser Glu Glu Glu Pro
 355 360 365
 Asp Leu Pro Glu Val Asp Val Glu Leu Pro Thr Met Pro Lys Asp Ser
 370 375 380
 Pro Gln Gln Leu Glu Leu Leu Ser Gly Pro Cys Glu Arg Arg Lys Ser
 385 390 395 400
 Pro Leu Gln Asp Pro Phe Pro Glu Glu Asp Tyr Ser Ser Thr Glu Gly
 405 410 415
 Ser Gly Gly Arg Ile Thr Phe Asn Val Asp Leu Asn Ser Val Phe Leu
 420 425 430
 Arg Val Leu Asp Asp Glu Asp Ser Asp Asp Leu Glu Ala Pro Leu Met
 435 440 445
 Leu Ser Ser His Leu Glu Glu Met Val Asp Pro Glu Asp Pro Asp Asn
 450 455 460
 Val Gln Ser Asn His Leu Leu Ala Ser Gly Glu Gly Thr Gln Pro Thr
 465 470 475 480
 Phe Pro Ser Pro Ser Ser Glu Gly Leu Trp Ser Glu Asp Ala Pro Ser
 485 490 495

WO 02/20569

PCT/US01/28013

7

Asp Gln Ser Asp Thr Ser Glu Ser Asp Val Asp Leu Gly Asp Gly Tyr
500 505 510

Ile Met Arg
515

<210> 5

<211> 325

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

Met Ala Trp Ser Leu Gly Ser Trp Leu Gly Gly Cys Leu Leu Val Ser
1 5 10 15

Ala Leu Gly Met Val Pro Pro Pro Glu Asn Val Arg Met Asn Ser Val
20 25 30

Asn Phe Lys Asn Ile Leu Gln Trp Glu Ser Pro Ala Phe Ala Lys Gly
35 40 45

Asn Leu Thr Phe Thr Ala Gln Tyr Leu Ser Tyr Arg Ile Phe Gln Asp
50 55 60

Lys Cys Met Asn Thr Thr Leu Thr Glu Cys Asp Phe Ser Ser Leu Ser
65 70 75 80

Lys Tyr Gly Asp His Thr Leu Arg Val Arg Ala Glu Phe Ala Asp Glu
85 90 95

His Ser Asp Trp Val Asn Ile Thr Phe Cys Pro Val Asp Asp Thr Ile
100 105 110

Ile Gly Pro Pro Gly Met Gln Val Glu Val Leu Ala Asp Ser Leu His
115 120 125

Met Arg Phe Leu Ala Pro Lys Ile Glu Asn Glu Tyr Glu Thr Trp Thr
130 135 140

Met Lys Asn Val Tyr Asn Ser Trp Thr Tyr Asn Val Gln Tyr Trp Lys

WO 02/20569

PCT/US01/28013

8

145 150 155 160
Asn Gly Thr Asp Glu Lys Phe Gln Ile Thr Pro Gln Tyr Asp Phe Glu
 165 170 175
Val Leu Arg Asn Leu Glu Pro Trp Thr Thr Tyr Cys Val Gln Val Arg
 180 185 190
Gly Phe Leu Pro Asp Arg Asn Lys Ala Gly Glu Trp Ser Glu Pro Val
 195 200 205
Cys Glu Gln Thr Thr His Asp Glu Thr Val Pro Ser Trp Met Val Ala
 210 215 220
Val Ile Leu Met Ala Ser Val Phe Met Val Cys Leu Ala Leu Leu Gly
 225 230 235 240
Cys Phe Ser Leu Leu Trp Cys Val Tyr Lys Lys Thr Lys Tyr Ala Phe
 245 250 255
Ser Pro Arg Asn Ser Leu Pro Gln His Leu Lys Glu Phe Leu Gly His
 260 265 270
Pro His His Asn Thr Leu Leu Phe Phe Ser Phe Pro Leu Ser Asp Glu
 275 280 285
Asn Asp Val Phe Asp Lys Leu Ser Val Ile Ala Glu Asp Ser Glu Ser
 290 295 300
Gly Lys Gln Asn Pro Gly Asp Ser Cys Ser Leu Gly Thr Pro Pro Gly
 305 310 315 320
Gln Gly Pro Gln Ser
 325

<210> 6

<211> 231

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

WO 02/20569

PCT/US01/28013

9

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

WO 02/20569

PCT/US01/28013

10

<210> 7

<211> 553

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (522)..(522)

<223> unknown amino

<400> 7

Met Arg Ala Pro Gly Arg Pro Ala Leu Arg Pro Leu Pro Leu Pro Pro
1 5 10 15

Leu Leu Leu Leu Leu Ala Ala Pro Trp Gly Arg Ala Val Pro Cys
20 25 30

Val Ser Gly Gly Leu Pro Lys Pro Ala Asn Ile Thr Phe Leu Ser Ile
35 40 45

Asn Met Lys Asn Val Leu Gln Trp Thr Pro Pro Glu Gly Leu Gln Gly
50 55 60

Val Lys Val Thr Tyr Thr Val Gln Tyr Phe Ile Tyr Gly Gln Lys Lys
65 70 75 80

Trp Leu Asn Lys Ser Glu Cys Arg Asn Ile Asn Arg Thr Tyr Cys Asp
85 90 95

Leu Ser Ala Glu Thr Ser Asp Tyr Glu His Gln Tyr Tyr Ala Lys Val
100 105 110

Lys Ala Ile Trp Gly Thr Lys Cys Ser Lys Trp Ala Glu Ser Gly Arg
115 120 125

Phe Tyr Pro Phe Leu Glu Thr Gln Ile Gly Pro Pro Glu Val Ala Leu
130 135 140

WO 02/20569

PCT/US01/28013

11

Thr Thr Asp Glu Lys Ser Ile Ser Val Val Leu Thr Ala Pro Glu Lys
 145 150 155 160
 Trp Lys Arg Asn Pro Glu Asp Leu Pro Val Ser Met Gln Gln Ile Tyr
 165 170 175
 Ser Asn Leu Lys Tyr Asn Val Ser Val Leu Asn Thr Lys Ser Asn Arg
 180 185 190
 Thr Trp Ser Gln Cys Val Thr Asn His Thr Leu Val Leu Thr Trp Leu
 195 200 205
 Glu Pro Asn Thr Leu Tyr Cys Val His Val Glu Ser Phe Val Pro Gly
 210 215 220
 Pro Pro Arg Arg Ala Gln Pro Ser Glu Lys Gln Cys Ala Arg Thr Leu
 225 230 235 240
 Lys Asp Gln Ser Ser Glu Phe Lys Ala Lys Ile Ile Phe Trp Tyr Val
 245 250 255
 Leu Pro Ile Ser Ile Thr Val Phe Leu Phe Ser Val Met Gly Tyr Ser
 260 265 270
 Ile Tyr Arg Tyr Ile His Val Gly Lys Glu Lys His Pro Ala Asn Leu
 275 280 285
 Ile Leu Ile Tyr Gly Asn Glu Phe Asp Lys Arg Phe Phe Val Pro Ala
 290 295 300
 Glu Lys Ile Val Ile Asn Phe Ile Thr Leu Asn Ile Ser Asp Asp Ser
 305 310 315 320
 Lys Ile Ser His Gln Asp Met Ser Leu Leu Gly Lys Ser Ser Asp Val
 325 330 335
 Ser Ser Leu Asn Asp Pro Gln Pro Ser Gly Asn Leu Arg Pro Pro Gln
 340 345 350
 Glu Glu Glu Glu Val Lys His Leu Gly Tyr Ala Ser His Leu Met Glu
 355 360 365
 Ile Phe Cys Asp Ser Glu Glu Asn Thr Glu Gly Thr Ser Leu Thr Gln
 370 375 380

WO 02/20569

PCT/US01/28013

12

Gln Glu Ser Leu Ser Arg Thr Ile Pro Pro Asp Lys Thr Val Ile Glu
385 390 395 400

Tyr Glu Tyr Asp Val Arg Thr Thr Asp Ile Cys Ala Gly Pro Glu Glu
405 410 415

Gln Glu Leu Ser Leu Gln Glu Glu Val Ser Thr Gln Gly Thr Leu Leu
420 425 430

Glu Ser Gln Ala Ala Leu Ala Val Leu Gly Pro Gln Thr Leu Gln Tyr
435 440 445

Ser Tyr Thr Pro Gln Leu Gln Asp Leu Asp Pro Leu Ala Gln Glu His
450 455 460

Thr Asp Ser Glu Glu Gly Pro Glu Glu Glu Pro Ser Thr Thr Leu Val
465 470 475 480

Asp Trp Asp Pro Gln Thr Gly Arg Leu Cys Ile Pro Ser Leu Ser Ser
485 490 495

Phe Asp Gln Asp Ser Glu Gly Cys Glu Pro Ser Glu Gly Asp Gly Leu
500 505 510

Gly Glu Glu Gly Leu Leu Ser Arg Leu Xaa Glu Glu Pro Ala Pro Asp
515 520 525

Arg Pro Pro Gly Glu Asn Glu Thr Tyr Leu Met Gln Phe Met Glu Glu
530 535 540

Trp Gly Leu Tyr Val Gln Met Glu Asn
545 550

<210> 8

<211> 687

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

WO 02/20569

PCT/US01/28013

13

<222> (1)..(684)

<223>

```

<400> 8
atg gct gaa ctt tgt ccg gcg gcc gga cga cgg cgc ctt aag gaa gcg 48
Met Ala Glu Leu Cys Pro Ala Ala Gly Arg Arg Arg Leu Lys Glu Ala
1 5 10 15

gtg cgg aag cag gga caa gaa gcc gcg gga tct ctt cgg tcc ccc agg 96
Val Arg Lys Gln Gly Gln Glu Ala Ala Gly Ser Leu Arg Ser Pro Arg
20 25 30

acc tcc agg tgc aga agt gac cgc gga gac tct gct tca cga gtt tca 144
Thr Ser Arg Cys Arg Ser Asp Arg Gly Asp Ser Ala Ser Arg Val Ser
35 40 45

gga gct gct gaa aga gcc cac gga gcg cgg gtt ctc agg gct tct gga 192
Gly Ala Ala Glu Arg Gly His Gly Ala Pro Val Leu Arg Ala Ser Gly
50 55 60

ccc gct gct gcc cca ggg gcg gcc ctg cgg ctg gtg gcc gag gcc ttt 240
Pro Ala Ala Ala Pro Gly Ala Gly Leu Arg Leu Val Gly Glu Ala Phe
65 70 75 80

cac tgc cgg ctg cag ggt ccc cgc cgg gtg gac aag cgg acg ctg gtg 288
His Cys Arg Leu Gln Gly Pro Arg Arg Val Asp Lys Arg Thr Leu Val
85 90 95

gag ctg cat ggt ttc cag gct cct gct gcc caa ggt gcc ttc ctg cga 336
Glu Leu His Gly Phe Gln Ala Pro Ala Ala Gln Gly Ala Phe Leu Arg
100 105 110

ggc tcc ggt ctg agc ctg gcc tgg ggt cgg ttc acg gcc ccc gtg tcc 384
Gly Ser Gly Leu Ser Leu Ala Ser Gly Arg Phe Thr Ala Pro Val Ser
115 120 125

ggc atc ttc cag ttc tct gcc agt ctg cac gtg gac cac agt gag ctg 432
Gly Ile Phe Gln Phe Ser Ala Ser Leu His Val Asp His Ser Glu Leu
130 135 140

cag gcc aag gcc cgg ctg cgg gcc cgg gac gtg gtg tgt gtt ctc atc 480
Gln Gly Lys Ala Arg Leu Arg Ala Arg Asp Val Val Cys Val Leu Ile
145 150 155 160

tgt att gag tcc ctg tgc cag cgc cac acg tgc ctg gag gcc gtc tca 528
Cys Ile Glu Ser Leu Cys Gln Arg His Thr Cys Leu Glu Ala Val Ser
165 170 175

ggc ctg gag agc aac agc agg gtc ttc acg cta cag gtg cag ggg ctg 576
Gly Leu Glu Ser Asn Ser Arg Val Phe Thr Leu Gln Val Gln Gly Leu
180 185 190

ctg cag ctg cag gct gga cag tac gct tct gtg ttt gtg gac aat gcc 624
Leu Gln Leu Gln Ala Gly Gln Tyr Ala Ser Val Phe Val Asp Asn Gly
195 200 205

```

WO 02/20569

PCT/US01/28013

14

tcc ggg gcc gtc ctc acc atc cag gcg ggc tcc agc ttc tcc ggg ctg 672
 Ser Gly Ala Val Leu Thr Ile Gln Ala Gly Ser Ser Phe Ser Gly Leu
 210 215 220

ctc ctg ggc acg tga 687
 Leu Leu Gly Thr
 225

<210> 9

<211> 228

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 9

Met Ala Glu Leu Cys Pro Ala Ala Gly Arg Arg Arg Leu Lys Glu Ala
 1 5 10 15

Val Arg Lys Gln Gly Gln Glu Ala Ala Gly Ser Leu Arg Ser Pro Arg
 20 25 30

Thr Ser Arg Cys Arg Ser Asp Arg Gly Asp Ser Ala Ser Arg Val Ser
 35 40 45

Gly Ala Ala Glu Arg Gly His Gly Ala Pro Val Leu Arg Ala Ser Gly
 50 55 60

Pro Ala Ala Ala Pro Gly Ala Gly Leu Arg Leu Val Gly Glu Ala Phe
 65 70 75 80

His Cys Arg Leu Gln Gly Pro Arg Arg Val Asp Lys Arg Thr Leu Val
 85 90 95

Glu Leu His Gly Phe Gln Ala Pro Ala Ala Gln Gly Ala Phe Leu Arg
 100 105 110

Gly Ser Gly Leu Ser Leu Ala Ser Gly Arg Phe Thr Ala Pro Val Ser
 115 120 125

Gly Ile Phe Gln Phe Ser Ala Ser Leu His Val Asp His Ser Glu Leu
 130 135 140

Gln Gly Lys Ala Arg Leu Arg Ala Arg Asp Val Val Cys Val Leu Ile
 145 150 155 160

WO 02/20569

PCT/US01/28013

15

Cys Ile Glu Ser Leu Cys Gln Arg His Thr Cys Leu Glu Ala Val Ser
 165 170 175

Gly Leu Glu Ser Asn Ser Arg Val Phe Thr Leu Gln Val Gln Gly Leu
 180 185 190

Leu Gln Leu Gln Ala Gly Gln Tyr Ala Ser Val Phe Val Asp Asn Gly
 195 200 205

Ser Gly Ala Val Leu Thr Ile Gln Ala Gly Ser Ser Phe Ser Gly Leu
 210 215 220

Leu Leu Gly Thr
 225

<210> 10

<211> 1232

<212> DNA

<213> Mus musculus

<220>

<221> CDS

<222> (241)..(1104)

<223>

<400> 10
 gggaggccta gggagaaagt agttctcttt cgggtggcagg gttgctgtcg agggcaccga 60
 gcaggagata ggtcgacaga gacgaggagt tctggctcct cctgcagaca tgcaccagcg 120
 gctgctgggc tgcctcctgg gcctcgcccc cgcgcggggg ctctgaatgc ctgcccgcgc 180
 ccccatgaga gcaccggcct gggctccgc cctaagcct ctgctcgcg agactgagcc 240
 atg tgg gcc tgg gcc tgg gcc gct gca gcg ctc ctc tgg cta cag act 288
 Met Trp Ala Trp Gly Trp Ala Ala Ala Leu Leu Trp Leu Gln Thr
 1 5 10 15
 gca gga gcc ggg gcc cgg cag gag ctc aag aag tct cgg cag ctg ttt 336
 Ala Gly Ala Gly Ala Arg Gln Glu Leu Lys Lys Ser Arg Gln Leu Phe
 20 25 30

WO 02/20569

PCT/US01/28013

16

gcg cgt gtg gat tcc ccc aat att acc acg tcc aac cgt gag gga ttc Ala Arg Val Asp Ser Pro Asn Ile Thr Thr Ser Asn Arg Glu Gly Phe 35 40 45	384
cca gcc tcc gtc aag ccc ccg gaa gcc tct gga cct gag ctg tca gat Pro Gly Ser Val Lys Pro Pro Glu Ala Ser Gly Pro Glu Leu Ser Asp 50 55 60	432
gcc cac atg acg tgg ttg aac ttt gtc cga cgg cca gat gat ggg tcc Ala His Met Thr Trp Leu Asn Phe Val Arg Arg Pro Asp Asp Gly Ser 65 70 75 80	480
ccc cca gga cct cct gcc cct cct ggt ccc cct gcc tcc cct ggt gtg Pro Pro Gly Pro Pro Gly Pro Pro Gly Pro Gly Ser Pro Gly Val 85 90 95	528
ggc gtt acc cca gag gcc tta ctg cag gaa ttt cag gag ata ctg aaa Gly Val Thr Pro Glu Ala Leu Leu Gln Glu Phe Gln Glu Ile Leu Lys 100 105 110	576
gag gcc aca gaa ctt cga ttc tca ggg cta cca gac aca ttg tta ccc Glu Ala Thr Glu Leu Arg Phe Ser Gly Leu Pro Asp Thr Leu Leu Pro 115 120 125	624
cag gaa ccc agc caa cgg ctg gtg gtt gag gcc ttc tac tgc cgt ttg Gln Glu Pro Ser Gln Arg Leu Val Val Glu Ala Phe Tyr Cys Arg Leu 130 135 140	672
aaa gcc cct gtg ctg gtg gac aag aag act ctg gtg gaa ctg caa gga Lys Gly Pro Val Leu Val Asp Lys Lys Thr Leu Val Glu Leu Gln Gly 145 150 155 160	720
ttc caa gct cct act act cag gcc gcc ttc ctg cgg gga tct gcc ctg Phe Gln Ala Pro Thr Thr Gln Gly Ala Phe Leu Arg Gly Ser Gly Leu 165 170 175	768
agc ctg tcc ttg gcc cga ttc aca gcc cca gtc tct gcc atc ttc cag Ser Leu Ser Leu Gly Arg Phe Thr Ala Pro Val Ser Ala Ile Phe Gln 180 185 190	816
ttt tct gcc agc ctg cac gtg gac cac agt gaa ctg cag gcc aga gcc Phe Ser Ala Ser Leu His Val Asp His Ser Glu Leu Gln Gly Arg Gly 195 200 205	864
cgg ttg cgt acc cgg gat atg gtc cgt gtt ctg atc tgt att gag tcc Arg Leu Arg Thr Arg Asp Met Val Arg Val Leu Ile Cys Ile Glu Ser 210 215 220	912
ttg tgt cat cgt cat acg tcc ctg gag gct gta tca ggt ctg gag agc Leu Cys His Arg His Thr Ser Leu Glu Ala Val Ser Gly Leu Glu Ser 225 230 235 240	960
aac agc agg gtc ttc aca gtg cag gtt cag ggg ctg ctg cat cta cag Asn Ser Arg Val Phe Thr Val Gln Val Gln Gly Leu Leu His Leu Gln 245 250 255	1008
tct gga cag tat gtc tct gtg ttc gtg gac aac agt tct ggg gca gtc Ser Gly Gln Tyr Val Ser Val Phe Val Asp Asn Ser Ser Gly Ala Val 260 265 270	1056

WO 02/20569

PCT/US01/28013

17

```

ctc acc atc cag aac act tcc agc ttc tog gga atg ctt ttg ggt acc 1104
Leu Thr Ile Gln Asn Thr Ser Ser Phe Ser Gly Met Leu Leu Gly Thr
275 280 285

tagcggagct gaagaaacga ttgtggattg aggaaccaac accttgcttc ttagaggagc 1164
tgaaaaggac tactcaactcc cctttaata gttttcatag caataaagaa ctccaaactt 1224
cttcactct 1232

<210> 11
<211> 288
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 11
Met Trp Ala Trp Gly Trp Ala Ala Ala Ala Leu Leu Trp Leu Gln Thr
1 5 10 15

Ala Gly Ala Gly Ala Arg Gln Glu Leu Lys Lys Ser Arg Gln Leu Phe
20 25 30

Ala Arg Val Asp Ser Pro Asn Ile Thr Thr Ser Asn Arg Glu Gly Phe
35 40 45

Pro Gly Ser Val Lys Pro Pro Glu Ala Ser Gly Pro Glu Leu Ser Asp
50 55 60

Ala His Met Thr Trp Leu Asn Phe Val Arg Arg Pro Asp Asp Gly Ser
65 70 75 80

Pro Pro Gly Pro Pro Gly Pro Pro Gly Pro Pro Gly Ser Pro Gly Val
85 90 95

Gly Val Thr Pro Glu Ala Leu Leu Gln Glu Phe Gln Glu Ile Leu Lys
100 105 110

Glu Ala Thr Glu Leu Arg Phe Ser Gly Leu Pro Asp Thr Leu Leu Pro
115 120 125

Gln Glu Pro Ser Gln Arg Leu Val Val Glu Ala Phe Tyr Cys Arg Leu
130 135 140

```

WO 02/20569

PCT/US01/28013

18

Lys Gly Pro Val Leu Val Asp Lys Lys Thr Leu Val Glu Leu Gln Gly
145 150 155 160

Phe Gln Ala Pro Thr Thr Gln Gly Ala Phe Leu Arg Gly Ser Gly Leu
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Leu Gly Arg Phe Thr Ala Pro Val Ser Ala Ile Phe Gln
180 185 190

Phe Ser Ala Ser Leu His Val Asp His Ser Glu Leu Gln Gly Arg Gly
195 200 205

Arg Leu Arg Thr Arg Asp Met Val Arg Val Leu Ile Cys Ile Glu Ser
210 215 220

Leu Cys His Arg His Thr Ser Leu Glu Ala Val Ser Gly Leu Glu Ser
225 230 235 240

Asn Ser Arg Val Phe Thr Val Gln Val Gln Gly Leu Leu His Leu Gln
245 250 255

Ser Gly Gln Tyr Val Ser Val Phe Val Asp Asn Ser Ser Gly Ala Val
260 265 270

Leu Thr Ile Gln Asn Thr Ser Ser Phe Ser Gly Met Leu Leu Gly Thr
275 280 285

<210> 12

<211> 477

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(474)

<223>

<400> 12

gcg cgg cgc gtg gag gcc gct ttc ctc tgc cgc ctg cgc cgg gac gcg 48

WO 02/20569

PCT/US01/28013

19

```

Ala Pro Arg Val Glu Ala Ala Phe Leu Cys Arg Leu Arg Arg Asp Ala
1      5      10      15
ttg gtg gag cgg cgc gcg ctg cac gag ctt ggc gtc tac tac ctg ccc      96
Leu Val Glu Arg Arg Ala Leu His Glu Leu Gly Val Tyr Tyr Leu Pro
20      25      30
gac gcc gag ggt gcc ttc cgc cgc ggc ccg ggc ctg aac ttg acc agc      144
Asp Ala Glu Gly Ala Phe Arg Arg Gly Pro Gly Leu Asn Leu Thr Ser
35      40      45
ggc cag tac agg gcg ccc gtg gct ggc ttc tac gct ctc gcc gcc acg      192
Gly Gln Tyr Arg Ala Pro Val Ala Gly Phe Tyr Ala Leu Ala Ala Thr
50      55      60
ctg cac gtg gcg ctc ggg gag ccg ccg agg agg ggg ccg ccg cgc ccc      240
Leu His Val Ala Leu Gly Glu Pro Pro Arg Arg Gly Pro Pro Arg Pro
65      70      75      80
cgg gac cac ctg cgc ctg ctc atc tgc atc cag tcc cgg tgc cag cgc      288
Arg Asp His Leu Arg Leu Leu Ile Cys Ile Gln Ser Arg Cys Gln Arg
85      90      95
aac acg tcc ctg gag gcc atc atg ggc ctg gag agc agc agt gag ctc      336
Asn Thr Ser Ser Leu Glu Ala Ile Met Gly Leu Glu Ser Ser Ser Glu Leu
100     105     110
ttc acc atc tct gtg aat ggc gtc ctg tac ctg cag atg ggg cag tgg      384
Phe Thr Ile Ser Val Asn Gly Val Leu Tyr Leu Gln Met Gly Gln Trp
115     120     125
acc tcc tgg gcg tgt gag cgg cca cca cag gcc ctt cct ctc agg ggc      432
Thr Ser Trp Ala Cys Glu Arg Pro Pro Gln Ala Leu Pro Leu Arg Gly
130     135     140
aaa tgg agc aca gat cta gac aat gtg tgg aca gtg tca gag tag      477
lys Trp Ser Thr Asp Leu Asp Asn Val Trp Thr Val Ser Glu
145     150     155

```

<210> 13

<211> 158

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 13

```

Ala Pro Arg Val Glu Ala Ala Phe Leu Cys Arg Leu Arg Arg Asp Ala
1      5      10      15
Leu Val Glu Arg Arg Ala Leu His Glu Leu Gly Val Tyr Tyr Leu Pro
20      25      30

```

WO 02/20569

PCT/US01/28013

20

```

Asp Ala Glu Gly Ala Phe Arg Arg Gly Pro Gly Leu Asn Leu Thr Ser
 35          40          45

Gly Gln Tyr Arg Ala Pro Val Ala Gly Phe Tyr Ala Leu Ala Ala Thr
 50          55          60

Leu His Val Ala Leu Gly Glu Pro Pro Arg Arg Gly Pro Pro Arg Pro
 65          70          75          80

Arg Asp His Leu Arg Leu Leu Ile Cys Ile Gln Ser Arg Cys Gln Arg
 85          90          95

Asn Thr Ser Leu Glu Ala Ile Met Gly Leu Glu Ser Ser Ser Glu Leu
100          105          110

Phe Thr Ile Ser Val Asn Gly Val Leu Tyr Leu Gln Met Gly Gln Trp
115          120          125

Thr Ser Trp Ala Cys Glu Arg Pro Pro Gln Ala Leu Pro Leu Arg Gly
130          135          140

Lys Trp Ser Thr Asp Leu Asp Asn Val Trp Thr Val Ser Glu
145          150          155

<210> 14
<211> 3180
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CDS
<222> (143)..(2677)
<223>

<400> 14
gctggaagca gcgtcttatt ttaccttggt ctcccacttc ctgaagatgc taaactcctg 60
gtggactgca gaggagaggg attcagtctt ctctgatgt gttgcctgt aggtacctga 120
gttgacacog aagctoctaa ag atg ctg agc ggc gtt tgg ttc ctc agt gtg 172

```

WO 02/20569

PCT/US01/28013

21

	Met	Leu	Ser	Gly	Val	Trp	Phe	Leu	Ser	Val	
	1				5					10	
tta acc gtg gcc ggg atc tta cag aca gag agt cgc aaa act gcc aaa											220
Leu Thr Val Ala Gly Ile Leu Gln Thr Glu Ser Arg Lys Thr Ala Lys											
	15				20					25	
gac att tgc aag atc cgc tgt ctg tgc gaa gaa aag gaa aac gta ctg											268
Asp Ile Cys Lys Ile Arg Cys Leu Cys Glu Glu Lys Glu Asn Val Leu											
	30				35					40	
aat atc aac tgt gag aac aaa gga ttt aca aca gtt agc ctg ctc cag											316
Asn Ile Asn Cys Glu Asn Lys Gly Phe Thr Thr Val Ser Leu Leu Gln											
	45				50					55	
ccc ccc cag tat cga atc tat cag ctt ttt ctc aat gga aac ctc ttg											364
Pro Pro Gln Tyr Arg Ile Tyr Gln Leu Phe Leu Asn Gly Asn Leu Leu											
	60				65					70	
aca aga ctg tat cca aac gaa ttt gtc aat tac tcc aac ggg gtg act											412
Thr Arg Leu Tyr Pro Asn Glu Phe Val Asn Tyr Ser Asn Ala Val Thr											
	75				80					85	90
ctt cac cta ggt aac aac ggg tta cag gag atc cga acg ggg gca ttc											460
Leu His Leu Gly Asn Asn Gly Leu Gln Glu Ile Arg Thr Gly Ala Phe											
	95				100					105	
agt ggc ctg aaa act ctc aaa aga ctg cat ctc aac aac aac aag ctt											508
Ser Gly Leu Lys Thr Leu Lys Arg Leu His Leu Asn Asn Asn Lys Leu											
	110				115					120	
gag ata ttg agg gag gac acc ttc cta ggc ctg gag agc ctg gag tat											556
Glu Ile Leu Arg Glu Asp Thr Phe Leu Gly Leu Glu Ser Leu Glu Tyr											
	125				130					135	
ctc cag gcc gac tac aat tac atc agt gcc atc gag gct ggg gca ttc											604
Leu Gln Ala Asp Tyr Asn Tyr Ile Ser Ala Ile Glu Ala Gly Ala Phe											
	140				145					150	
agc aaa ctt aac aag ctc aaa gtg ctc atc ctg aat gac aac ctt ctg											652
Ser Lys Leu Asn Lys Leu Lys Val Leu Ile Leu Asn Asp Asn Leu Leu											
	155				160					165	170
ctt tca ctg ccc agc aat gtg ttc cgc ttt gtc ctg ctg acc cac tta											700
Leu Ser Leu Pro Ser Asn Val Phe Arg Phe Val Leu Leu Thr His Leu											
	175				180					185	
gac ctc agg ggg aat agg cta aaa gta atg cct ttt gct ggc gtc ctt											748
Asp Leu Arg Gly Asn Arg Leu Lys Val Met Pro Phe Ala Gly Val Leu											
	190				195					200	
gaa cat att gga ggg atc atg gag att cag ctg gag gaa aat cca tgg											796
Glu His Ile Gly Gly Ile Met Glu Ile Gln Leu Glu Glu Asn Pro Trp											
	205				210					215	
aat tgc act tgt gac tta ctt cct ctc aag gcc tgg cta gac acc ata											844
Asn Cys Thr Cys Asp Leu Leu Pro Leu Lys Ala Trp Leu Asp Thr Ile											
	220				225					230	

WO 02/20569

PCT/US01/28013

22

act gtt ttt gtg gga gag att gtc tgt gag act ccc ttt agg ttg cat Thr Val Phe Val Gly Glu Ile Val Cys Glu Thr Pro Phe Arg Leu His 235 240 245 250	892
ggg aaa gac gtg acc cag ctg acc agg caa gac ctc tgt ccc aga aaa Gly Lys Asp Val Thr Gln Leu Thr Arg Gln Asp Leu Cys Pro Arg Lys 255 260 265	940
agt gcc agt gat tcc agt cag agg ggc agc cat gct gac acc cac gtc Ser Ala Ser Asp Ser Ser Gln Arg Gly Ser His Ala Asp Thr His Val 270 275 280	988
caa agg ctg tca cct aca atg aat cct gct ctc aac cca acc agg gct Gln Arg Leu Ser Pro Thr Met Asn Pro Ala Leu Asn Pro Thr Arg Ala 285 290 295	1036
ccg aaa gcc agc cgg ccg ccc aaa atg aga aat cgt cca act ccc cga Pro Lys Ala Ser Arg Pro Pro Lys Met Arg Asn Arg Pro Thr Pro Arg 300 305 310	1084
gtg act gtg tca aag gac agg caa agt ttt gga ccc atc atg gtg tac Val Thr Val Ser Lys Asp Arg Gln Ser Phe Gly Pro Ile Met Val Tyr 315 320 325 330	1132
cag acc aag tct cct gtg cct ctc acc tgt ccc agc agc tgt gtc tgc Gln Thr Lys Ser Pro Val Pro Leu Thr Cys Pro Ser Ser Cys Val Cys 335 340 345	1180
acc tct cag agc tca gac aat ggt ctg aat gta aac tgc caa gaa agg Thr Ser Gln Ser Ser Asp Asn Gly Leu Asn Val Asn Cys Gln Glu Arg 350 355 360	1228
aag ttc act aat atc tct gac ctg cag ccc aaa ccg acc agt cca aag Lys Phe Thr Asn Ile Ser Asp Leu Gln Pro Lys Pro Thr Ser Pro Lys 365 370 375	1276
aaa ctc tac cta aca ggg aac tat ctt caa act gtc tat aag aat gac Lys Leu Tyr Leu Thr Gly Asn Tyr Leu Gln Thr Val Tyr Lys Asn Asp 380 385 390	1324
ctc tta gaa tac agt tct ttg gac tta ctg cac tta gga aac aac agg Leu Leu Glu Tyr Ser Ser Leu Asp Leu Leu His Leu Gly Asn Asn Arg 395 400 405 410	1372
att gca gtc att cag gaa ggt gcc ttt aca aac ctg acc agt tta cgc Ile Ala Val Ile Gln Glu Gly Ala Phe Thr Asn Leu Thr Ser Leu Arg 415 420 425	1420
aga ctt tat ctg aat ggc aat tac ctt gaa gtg ctg tac cct tct atg Arg Leu Tyr Leu Asn Gly Asn Tyr Leu Glu Val Leu Tyr Pro Ser Met 430 435 440	1468
ttt gat gga ctg cag agc ttg caa tat ctc tat tta gag tat aat gtc Phe Asp Gly Leu Gln Ser Leu Gln Tyr Leu Tyr Leu Glu Tyr Asn Val 445 450 455	1516
att aag gaa att aag cct ctg acc ttt gat gct ttg att aac cta cag Ile Lys Glu Ile Lys Pro Leu Thr Phe Asp Ala Leu Ile Asn Leu Gln 460 465 470	1564

WO 02/20569

PCT/US01/28013

23

cta ctg ttt ctg aac aac aac ctt ctt cgg tcc tta cct gat aat ata Leu Leu Phe Leu Asn Asn Asn Leu Leu Arg Ser Leu Pro Asp Asn Ile 475 480 485 490	1612
ttt ggg ggg acg gcc cta acc agg ctg aat ctg aga aac aac cat ttt Phe Gly Gly Thr Ala Leu Thr Arg Leu Asn Leu Arg Asn Asn His Phe 495 500 505	1660
tct cac ctg ccc gtg aaa ggg gtt ctg gat cag ctc cgg gct ttc atc Ser His Leu Pro Val Lys Gly Val Leu Asp Gln Leu Pro Ala Phe Ile 510 515 520	1708
cag ata gat ctg cag gag aac ccc tgg gac tgt acc tgt gac atc atg Gln Ile Asp Leu Gln Glu Asn Pro Trp Asp Cys Thr Cys Asp Ile Met 525 530 535	1756
ggg ctg aaa gac tgg aca gaa cat gcc aat tcc cct gtc atc att aat Gly Leu Lys Asp Trp Thr Glu His Ala Asn Ser Pro Val Ile Ile Asn 540 545 550	1804
gag gtg act tgc gaa tct cct gct aag cat gca ggg gag ata cta aaa Glu Val Thr Cys Glu Ser Pro Ala Lys His Ala Gly Glu Ile Leu Lys 555 560 565 570	1852
ttt ctg ggg agg gag gct atc tgt cca gac agc cca aac ttg tca gat Phe Leu Gly Arg Glu Ala Ile Cys Pro Asp Ser Pro Asn Leu Ser Asp 575 580 585	1900
gga acc gtc ttg tca atg aat cac aat aca gac aca cct cgg tgc ctt Gly Thr Val Leu Ser Met Asn His Asn Thr Asp Thr Pro Arg Ser Leu 590 595 600	1948
agt gtg tct cct agt tcc tat cct gaa cta cac act gaa gtt cca ctg Ser Val Ser Pro Ser Ser Tyr Pro Glu Leu His Thr Glu Val Pro Leu 605 610 615	1996
tct gtc tta att ctg gga ttg ctt gtt gtt ttc atc tta tct gtc tgt Ser Val Leu Ile Leu Gly Leu Leu Val Val Phe Ile Leu Ser Val Cys 620 625 630	2044
ttt ggg gct ggt tta ttc gtc ttt gtc ttg aaa cgc cga aag gga gtg Phe Gly Ala Gly Leu Phe Val Phe Val Leu Lys Arg Arg Lys Gly Val 635 640 645 650	2092
ccg agc gtt ccc agg aat acc aac aac tta gac gta agc tcc ttt caa Pro Ser Val Pro Arg Asn Thr Asn Asn Leu Asp Val Ser Phe Gln 655 660 665	2140
tta cag tat ggg tct tac aac act gag act cac gat aaa aca gac ggc Leu Gln Tyr Gly Ser Tyr Asn Thr Glu Thr His Asp Lys Thr Asp Gly 670 675 680	2188
cat gtc tac aac tat atc ccc cca cct gtg ggt cag atg tgc caa aac His Val Tyr Asn Tyr Ile Pro Pro Pro Val Gly Gln Met Cys Gln Asn 685 690 695	2236
ccc atc tac atg cag aag gaa gga gac cca gta gcc tat tac cga aac Pro Ile Tyr Met Gln Lys Glu Gly Asp Pro Val Ala Tyr Tyr Arg Asn	2284

WO 02/20569

PCT/US01/28013

24

```

700              705              710
ctg caa gag ttc agc tat agc aac ctg gag gag aaa aaa gaa gag cca 2332
Leu Gln Glu Phe Ser Tyr Ser Asn Leu Glu Glu Lys Lys Glu Glu Pro
715              720              725              730
gcc aca cct gct tac aca ata agt gcc act gag ctg cta gaa aag cag 2380
Ala Thr Pro Ala Tyr Thr Ile Ser Ala Thr Glu Leu Leu Glu Lys Gln
735              740              745
gcc aca cca aga gag cct gag ctg ctg tat caa aat att gct gag cga 2428
Ala Thr Pro Arg Glu Pro Glu Leu Leu Tyr Gln Asn Ile Ala Glu Arg
750              755              760
gtc aag gaa ctt ccc agc gca ggc cta gtc cac tat aac ttt tgt acc 2476
Val Lys Glu Leu Pro Ser Ala Gly Leu Val His Tyr Asn Phe Cys Thr
765              770              775
tta cct aaa agg cag ttt gcc cct tcc tat gaa tct cga cgc caa aac 2524
Leu Pro Lys Arg Gln Phe Ala Pro Ser Tyr Glu Ser Arg Arg Gln Asn
780              785              790
caa gac aga atc aat aaa acc gtt tta tat gga act ccc agg aaa tgc 2572
Gln Asp Arg Ile Asn Lys Thr Val Leu Tyr Gly Thr Pro Arg Lys Cys
795              800              805              810
ttt gtg ggg cag tca aaa ccc aac cac cct tta ctg caa gct aag ccg 2620
Phe Val Gly Gln Ser Lys Pro Asn His Pro Leu Leu Gln Ala Lys Pro
815              820              825
caa tca gaa ccg gac tac ctc gaa gtt ctg gaa aaa caa act gca atc 2668
Gln Ser Glu Pro Asp Tyr Leu Glu Val Leu Glu Lys Gln Thr Ala Ile
830              835              840
agt cag ctg tgaagggaat tcattttaca cctaaggca tcagaggatg 2717
Ser Gln Leu
845
ctgctccgaa ctgttggaat caaggacatt agctttttgtg tttgtttttg ttctcccttt 2777
cccagtggtta atgggggact ttgaaaatgt ttgggagata ggatgaagtc atgattttgc 2837
ttttgcaagt ttctctttta attattttct tctcgtctct ctcctctctt tttttttttt 2897
tttttttttt tctttttccc ttctcttctt aggaaccatc agtggacatg aatgtttcta 2957
caatgcattt cttcatagat tttgtttatg gttttgttct ttttttcttc tttgtttttc 3017
agtgtgggag tgggaagagg agattatagt gactgaagaa agaataaggca aacttttcaa 3077
atgaaaatgg atatttagtg tattttgtag aagatctcoa aagatctttt gtgactacaa 3137
cttcttttgt aaataatgat atatggtatt tccatcgtoa gtt 3180

<210> 15
<211> 845

```

WO 02/20569

PCT/US01/28013

25

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 15

Met Leu Ser Gly Val Trp Phe Leu Ser Val Leu Thr Val Ala Gly Ile
1 5 10 15

Leu Gln Thr Glu Ser Arg Lys Thr Ala Lys Asp Ile Cys Lys Ile Arg
20 25 30

Cys Leu Cys Glu Glu Lys Glu Asn Val Leu Asn Ile Asn Cys Glu Asn
35 40 45

Lys Gly Phe Thr Thr Val Ser Leu Leu Gln Pro Pro Gln Tyr Arg Ile
50 55 60

Tyr Gln Leu Phe Leu Asn Gly Asn Leu Leu Thr Arg Leu Tyr Pro Asn
65 70 75 80

Glu Phe Val Asn Tyr Ser Asn Ala Val Thr Leu His Leu Gly Asn Asn
85 90 95

Gly Leu Gln Glu Ile Arg Thr Gly Ala Phe Ser Gly Leu Lys Thr Leu
100 105 110

Lys Arg Leu His Leu Asn Asn Asn Lys Leu Glu Ile Leu Arg Glu Asp
115 120 125

Thr Phe Leu Gly Leu Glu Ser Leu Glu Tyr Leu Gln Ala Asp Tyr Asn
130 135 140

Tyr Ile Ser Ala Ile Glu Ala Gly Ala Phe Ser Lys Leu Asn Lys Leu
145 150 155 160

Lys Val Leu Ile Leu Asn Asp Asn Leu Leu Leu Ser Leu Pro Ser Asn
165 170 175

Val Phe Arg Phe Val Leu Leu Thr His Leu Asp Leu Arg Gly Asn Arg
180 185 190

Leu Lys Val Met Pro Phe Ala Gly Val Leu Glu His Ile Gly Gly Ile
195 200 205

WO 02/20569

PCT/US01/28013

26

Met Glu Ile Gln Leu Glu Glu Asn Pro Trp Asn Cys Thr Cys Asp Leu
 210 215 220

Leu Pro Leu Lys Ala Trp Leu Asp Thr Ile Thr Val Phe Val Gly Glu
 225 230 235 240

Ile Val Cys Glu Thr Pro Phe Arg Leu His Gly Lys Asp Val Thr Gln
 245 250 255

Leu Thr Arg Gln Asp Leu Cys Pro Arg Lys Ser Ala Ser Asp Ser Ser
 260 265 270

Gln Arg Gly Ser His Ala Asp Thr His Val Gln Arg Leu Ser Pro Thr
 275 280 285

Met Asn Pro Ala Leu Asn Pro Thr Arg Ala Pro Lys Ala Ser Arg Pro
 290 295 300

Pro Lys Met Arg Asn Arg Pro Thr Pro Arg Val Thr Val Ser Lys Asp
 305 310 315 320

Arg Gln Ser Phe Gly Pro Ile Met Val Tyr Gln Thr Lys Ser Pro Val
 325 330 335

Pro Leu Thr Cys Pro Ser Ser Cys Val Cys Thr Ser Gln Ser Ser Asp
 340 345 350

Asn Gly Leu Asn Val Asn Cys Gln Glu Arg Lys Phe Thr Asn Ile Ser
 355 360 365

Asp Leu Gln Pro Lys Pro Thr Ser Pro Lys Lys Leu Tyr Leu Thr Gly
 370 375 380

Asn Tyr Leu Gln Thr Val Tyr Lys Asn Asp Leu Leu Glu Tyr Ser Ser
 385 390 395 400

Leu Asp Leu Leu His Leu Gly Asn Asn Arg Ile Ala Val Ile Gln Glu
 405 410 415

Gly Ala Phe Thr Asn Leu Thr Ser Leu Arg Arg Leu Tyr Leu Asn Gly
 420 425 430

Asn Tyr Leu Glu Val Leu Tyr Pro Ser Met Phe Asp Gly Leu Gln Ser
 435 440 445

WO 02/20569

PCT/US01/28013

27

Leu Gln Tyr Leu Tyr Leu Glu Tyr Asn Val Ile Lys Glu Ile Lys Pro
450 455 460

Leu Thr Phe Asp Ala Leu Ile Asn Leu Gln Leu Leu Phe Leu Asn Asn
465 470 475 480

Asn Leu Leu Arg Ser Leu Pro Asp Asn Ile Phe Gly Gly Thr Ala Leu
485 490 495

Thr Arg Leu Asn Leu Arg Asn Asn His Phe Ser His Leu Pro Val Lys
500 505 510

Gly Val Leu Asp Gln Leu Pro Ala Phe Ile Gln Ile Asp Leu Gln Glu
515 520 525

Asn Pro Trp Asp Cys Thr Cys Asp Ile Met Gly Leu Lys Asp Trp Thr
530 535 540

Glu His Ala Asn Ser Pro Val Ile Ile Asn Glu Val Thr Cys Glu Ser
545 550 555 560

Pro Ala Lys His Ala Gly Glu Ile Leu Lys Phe Leu Gly Arg Glu Ala
565 570 575

Ile Cys Pro Asp Ser Pro Asn Leu Ser Asp Gly Thr Val Leu Ser Met
580 585 590

Asn His Asn Thr Asp Thr Pro Arg Ser Leu Ser Val Ser Pro Ser Ser
595 600 605

Tyr Pro Glu Leu His Thr Glu Val Pro Leu Ser Val Leu Ile Leu Gly
610 615 620

Leu Leu Val Val Phe Ile Leu Ser Val Cys Phe Gly Ala Gly Leu Phe
625 630 635 640

Val Phe Val Leu Lys Arg Arg Lys Gly Val Pro Ser Val Pro Arg Asn
645 650 655

Thr Asn Asn Leu Asp Val Ser Ser Phe Gln Leu Gln Tyr Gly Ser Tyr
660 665 670

Asn Thr Glu Thr His Asp Lys Thr Asp Gly His Val Tyr Asn Tyr Ile

WO 02/20569

PCT/US01/28013

28

675 680 685

Pro Pro Pro Val Gly Gln Met Cys Gln Asn Pro Ile Tyr Met Gln Lys
690 695 700

Glu Gly Asp Pro Val Ala Tyr Tyr Arg Asn Leu Gln Glu Phe Ser Tyr
705 710 715 720

Ser Asn Leu Glu Glu Lys Lys Glu Glu Pro Ala Thr Pro Ala Tyr Thr
725 730 735

Ile Ser Ala Thr Glu Leu Leu Glu Lys Gln Ala Thr Pro Arg Glu Pro
740 745 750

Glu Leu Leu Tyr Gln Asn Ile Ala Glu Arg Val Lys Glu Leu Pro Ser
755 760 765

Ala Gly Leu Val His Tyr Asn Phe Cys Thr Leu Pro Lys Arg Gln Phe
770 775 780

Ala Pro Ser Tyr Glu Ser Arg Arg Gln Asn Gln Asp Arg Ile Asn Lys
785 790 795 800

Thr Val Leu Tyr Gly Thr Pro Arg Lys Cys Phe Val Gly Gln Ser Lys
805 810 815

Pro Asn His Pro Leu Leu Gln Ala Lys Pro Gln Ser Glu Pro Asp Tyr
820 825 830

Leu Glu Val Leu Glu Lys Gln Thr Ala Ile Ser Gln Leu
835 840 845

<210> 16

<211> 469

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 16

ctgaaattcc tgggaaggga ggctatttgt ccagaaaatc ctaacctgtc agatgggact 60

atattgtcaa tgaatcaca cacagacaca cctagatcac ttagtgtgtc tcctagttct 120

taccccgac tacacactga agttccactc tcggttttaa ttttaggatt gcttgtggtt 180

WO 02/20569

PCT/US01/28013

29

```

tttatctctgt ctgtctgttt tggggcgggg ttgttcgtct ttgttctgaa gcgtcgaaag 240
ggagtgccaa atgttcccag gaatgccacc aacttagatg taagtccctt ccagttacaa 300
tatgggtctt acaacaccga gactaatgat aaagctgatg gccacgtcta taactacatt 360
cctccacctg tgggtcagat gtgccaaaac cccatctaca tgcagaagga aggagaccca 420
gtggcctatt accgaaatct gcaggacttc agctatggca acctggagg 469

```

<210> 17

<211> 156

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 17

```

Leu Lys Phe Leu Gly Arg Glu Ala Ile Cys Pro Glu Asn Pro Asn Leu
1      5      10     15

```

```

Ser Asp Gly Thr Ile Leu Ser Met Asn His Asn Thr Asp Thr Pro Arg
20     25     30

```

```

Ser Leu Ser Val Ser Pro Ser Ser Tyr Pro Glu Leu His Thr Glu Val
35     40     45

```

```

Pro Leu Ser Val Leu Ile Leu Gly Leu Leu Val Val Phe Ile Leu Ser
50     55     60

```

```

Val Cys Phe Gly Ala Gly Leu Phe Val Phe Val Leu Lys Arg Arg Lys
65     70     75     80

```

```

Gly Val Pro Asn Val Pro Arg Asn Ala Thr Asn Leu Asp Val Ser Ser
85     90     95

```

```

Phe Gln Leu Gln Tyr Gly Ser Tyr Asn Thr Glu Thr Asn Asp Lys Ala
100    105    110

```

```

Asp Gly His Val Tyr Asn Tyr Ile Pro Pro Pro Val Gly Gln Met Cys
115    120    125

```

```

Gln Asn Pro Ile Tyr Met Gln Lys Glu Gly Asp Pro Val Ala Tyr Tyr
130    135    140

```

WO 02/20569

PCT/US01/28013

30

Arg Asn Leu Gln Asp Phe Ser Tyr Gly Asn Leu Glu
 145 150 155

<210> 18
 <211> 3402
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (89)..(2899)
 <223>

<400> 18
 tagacgcgga gcccaaggag gtaaaatgca cacttgctgc cccccagtaa ctttgggaaca 60
 ggaccttcac agaaaaatgc atagctgg atg ctg cag act cta gcg ttt gct 112
 Met Leu Gln Thr Leu Ala Phe Ala
 1 5
 gta aca tct ctc gtc ctt tgg tgt gca gaa acc atc gat tat tac ggg 160
 Val Thr Ser Leu Val Leu Ser Cys Ala Glu Thr Ile Asp Tyr Tyr Gly
 10 15 20
 gaa atc tgt gac aat gca tgt cct tgt gag gaa aag gac ggc att tta 208
 Glu Ile Cys Asp Asn Ala Cys Pro Cys Glu Glu Lys Asp Gly Ile Leu
 25 30 35 40
 act gtg agc tgt gaa aac cgg ggg atc atc agt ctc tct gaa att agc 256
 Thr Val Ser Cys Glu Asn Arg Gly Ile Ile Ser Leu Ser Glu Ile Ser
 45 50 55
 cct ccc cgt ttc cca atc tac cac ctc ttg ttg tcc gga aac ctt ttg 304
 Pro Pro Arg Phe Pro Ile Tyr His Leu Leu Leu Ser Gly Asn Leu Leu
 60 65 70
 aac cgt ctc tat ccc aat gag ttt gtc aat tac act ggg gct tca att 352
 Asn Arg Leu Tyr Pro Asn Glu Phe Val Asn Tyr Thr Gly Ala Ser Ile
 75 80 85
 ttg cat cta ggt agc aat gtt atc cag gac att gag acc ggg gct ttc 400
 Leu His Leu Gly Ser Asn Val Ile Gln Asp Ile Glu Thr Gly Ala Phe
 90 95 100
 cat ggg cta cgg ggt ttg agg aga ttg cat cta aac aat aat aaa ctg 448
 His Gly Leu Arg Gly Leu Arg Arg Leu His Leu Asn Asn Asn Lys Leu
 105 110 115 120

WO 02/20569

PCT/US01/28013

31

gaa ctt ctg cga gat gat acc ttc ctt ggc ttg gag aac ctg gag tac Glu Leu Leu Arg Asp Asp Thr Phe Leu Gly Leu Glu Asn Leu Glu Tyr 125 130 135	496
cta cag gtc gat tac aac tac atc agc gtc att gaa ccc aat gct ttt Leu Gln Val Asp Tyr Asn Tyr Ile Ser Val Ile Glu Pro Asn Ala Phe 140 145 150	544
ggg aaa ctg cat ttg ttg cag gtg ctt atc ctc aat gac aat ctt ttg Gly Lys Leu His Leu Leu Gln Val Leu Ile Leu Asn Asp Asn Leu Leu 155 160 165	592
tcc agt tta ccc aac aat ctt ttc cgt ttt gtg ccc tta acg cac ttg Ser Ser Leu Pro Asn Asn Leu Phe Arg Phe Val Pro Leu Thr His Leu 170 175 180	640
gac ctc cgg ggg aac cgg ctg aaa ctt ctg ccc tac gtg ggg ctc ttg Asp Leu Arg Gly Asn Arg Leu Lys Leu Leu Pro Tyr Val Gly Leu Leu 185 190 195 200	688
cag cac atg gat aaa gtt gtg gag cta cag ctg gag gaa aac cct tgg Gln Lys Met Asp Lys Val Val Glu Leu Gln Leu Glu Glu Asn Pro Trp 205 210 215	736
aat tgt tct tgt gag ctg atc tct cta aag gat tgg ttg gac agc atc Asn Cys Ser Cys Glu Leu Ile Ser Leu Lys Asp Trp Leu Asp Ser Ile 220 225 230	784
tcc tat tca gcc ctg gtg ggg gat gta gtt tgt gag acc ccc ttc cgc Ser Tyr Ser Ala Leu Val Gly Asp Val Val Cys Glu Thr Pro Phe Arg 235 240 245	832
tta cac gga agg gac ttg gac gag gta tcc aag cag gaa ctt tgc cca Leu His Gly Arg Asp Leu Asp Glu Val Ser Lys Gln Glu Leu Cys Pro 250 255 260	880
agg aga ctt att tct gac tac gag atg agg ccg cag acg cct ttg agc Arg Arg Leu Ile Ser Asp Tyr Glu Met Arg Pro Gln Thr Pro Leu Ser 265 270 275 280	928
acc acg ggg tat tta cac acc acc ccg gcg tca gtg aat tct gtg gcc Thr Thr Gly Tyr Leu His Thr Thr Pro Ala Ser Val Asn Ser Val Ala 285 290 295	976
act tct tcc tct gct gtt tac aaa ccc cct ttg aag ccc cct aag ggg Thr Ser Ser Ser Ala Val Tyr Lys Pro Pro Leu Lys Pro Pro Lys Gly 300 305 310	1024
act cgc caa ccc aac aag ccc agg gtg cgc ccc acc tct cgg cag ccc Thr Arg Gln Pro Asn Lys Pro Arg Val Arg Pro Thr Ser Arg Gln Pro 315 320 325	1072
tct aag gac ttg ggc tac agc aac tat ggc ccc agc atc gcc tat cag Ser Lys Asp Leu Gly Tyr Ser Asn Tyr Gly Pro Ser Ile Ala Tyr Gln 330 335 340	1120
acc aaa tcc ccg gtg cct ttg gag tgt ccc acc gcg tgc tct tgc aac Thr Lys Ser Pro Val Pro Leu Glu Cys Pro Thr Ala Cys Ser Cys Asn	1168

WO 02/20569

PCT/US01/28013

32

345	350	355	360	
ctg cag atc tct gat	ctg ggc ctc aac gta aac tgc cag gag cga aag	1216		
Leu Gln Ile Ser Asp	Leu Gly Leu Asn Val Asn Cys Gln Glu Arg Lys			
365	370	375		
atc gag agc atc gct gaa	ctg cag ccc aag ccc tac aat ccc aag aaa	1264		
Ile Glu Ser Ile Ala Glu Leu	Gln Pro Lys Pro Tyr Asn Pro Lys Lys			
380	385	390		
atg tat ctg aca gag aac tac	atc gct gtc gtg cgc agg aca gac ttc	1312		
Met Tyr Leu Thr Glu Asn Tyr	Ile Ala Val Val Arg Arg Thr Asp Phe			
395	400	405		
ctg gag gcc acg ggg	ctg gac ctc ctg cac ctg ggg aat aac cgc atc	1360		
Leu Glu Ala Thr Gly Leu Asp Leu Leu His Leu Gly Asn Asn Arg Ile				
410	415	420		
tgg atg atc cag gac cgc gct ttc ggg gat ctc acc aac	ctg agg cgc	1408		
Ser Met Ile Gln Asp Arg Ala Phe Gly Asp	Leu Thr Asn Leu Arg Arg			
425	430	435	440	
ctc tac ctg aat ggc aac agg atc gag agg ctg agc cgc gag tta ttc		1456		
Leu Tyr Leu Asn Gln Ser Leu Gln Tyr Leu Phe Leu Gln Tyr Asn Leu Ile				
445	450	455		
tat ggc ctg cag agc ctg cag tat ctc ttc ctc cag tac aat ctc atc		1504		
Tyr Gly Leu Gln Ser Leu Gln Tyr Leu Phe Leu Gln Tyr Asn Leu Ile				
460	465	470		
cgc gag att cag tct gga act ttt gac cgc gtc cca aac ctc cag ctg		1552		
Arg Glu Ile Gln Ser Gly Thr Phe Asp Pro Val Pro Asn Leu Gln Leu				
475	480	485		
cta ttc ttg aat aac aac ctc ctg cag gcc atg ccc tca ggc gtc ttc		1600		
Leu Phe Leu Asn Asn Asn Leu Leu Gln Ala Met Pro Ser Gly Val Phe				
490	495	500		
tct ggc ttg acc ctc ctc agg cta aac ctg agg agt aac cac ttc acc		1648		
Ser Gly Leu Thr Leu Leu Arg Leu Asn Leu Arg Ser Asn His Phe Thr				
505	510	515	520	
tcc ttg cca gtg agt gga gtt ttg gac cag ctg aag tca ctc atc caa		1696		
Ser Leu Pro Val Ser Gly Val Leu Asp Gln Leu Lys Ser Leu Ile Gln				
525	530	535		
atc gac ctg cat gac aat cct tgg gat tgt acc tgt gac att gtg ggc		1744		
Ile Asp Leu His Asp Asn Pro Trp Asp Cys Thr Cys Asp Ile Val Gly				
540	545	550		
atg aag ctg tgg gtg gag cag ctc aaa gtg ggc gtc cta gtg gac gag		1792		
Met Lys Leu Trp Val Glu Gln Leu Lys Val Gly Val Leu Val Asp Glu				
555	560	565		
gtg atc tgt aag gcg ccc aaa aaa ttc gct gag acc gac atg cgc tcc		1840		
Val Ile Cys Lys Ala Pro Lys Lys Phe Ala Glu Thr Asp Met Arg Ser				
570	575	580		
att aag tcg gag ctg ctg tgc cct gac tat tca gat gta gta gtt tcc		1888		

WO 02/20569

PCT/US01/28013

33

Ile Lys Ser Glu Leu Leu Cys Pro Asp Tyr Ser Asp Val Val Val Ser	
585 590 595 600	
acg ccc aca ccc tcc tct atc cag gtc cct gcg agg acc agc gcc gtg	1936
Thr Pro Thr Pro Ser Ser Ile Gln Val Pro Ala Arg Thr Ser Ala Val	
605 610 615	
act cct gcg gtc cgg ttg aat agc acc ggg gcc ccc gcg agc ttg ggc	1984
Thr Pro Ala Val Arg Leu Asn Ser Thr Gly Ala Pro Ala Ser Leu Gly	
620 625 630	
gca ggc gga ggg gcg tgc tgc gtg ccc ttg tct gtg tta att ctc agc	2032
Ala Gly Gly Gly Ala Ser Ser Val Pro Leu Ser Val Leu Ile Leu Ser	
635 640 645	
ctc ctg ctg gtt ttc atc atg tcc gtc ttc gtg gcc gcc ggg ctc ttc	2080
Leu Leu Leu Val Phe Ile Met Ser Val Phe Val Ala Ala Gly Leu Phe	
650 655 660	
gtg ctg gtc atg aag cgc agg aag aac cag agc gac cac acc agc	2128
Val Leu Val Met Lys Arg Arg Lys Lys Asn Gln Ser Asp His Thr Ser	
665 670 675 680	
acc aac aac tcc gac gtg agc tcc ttt aac atg cag tac agc gtg tac	2176
Thr Asn Asn Ser Asp Val Ser Ser Phe Asn Met Gln Tyr Ser Val Tyr	
685 690 695	
ggc ggc ggc ggc ggc acg ggc ggc cac cca cac gcg cac gtg cat cac	2224
Gly Gly Gly Gly Thr Gly Gly His Pro His Ala His Val His His	
700 705 710	
cgc ggg ccc gcg ctg ccc aag gtg aag acg ccc gcg ggc cac gtg tat	2272
Arg Gly Pro Ala Leu Pro Lys Val Lys Thr Pro Ala Gly His Val Tyr	
715 720 725	
gaa tac atc ccc cac cca ctg ggc cac atg tgc aaa aac ccc atc tac	2320
Glu Tyr Ile Pro His Pro Leu Gly His Met Cys Lys Asn Pro Ile Tyr	
730 735 740	
cgc tcc cga gag ggc aac tcc gta gag gat tac aaa gac ctg cac gag	2368
Arg Ser Arg Glu Gly Asn Ser Val Glu Asp Tyr Lys Asp Leu His Glu	
745 750 755 760	
ctc aag gtc acc tac agc agc aac cac cac ctg cag cag cag cag cag	2416
Leu Lys Val Thr Tyr Ser Ser Asn His His Leu Gln Gln Gln Gln	
765 770 775	
ccg ccg ccg cca ccg cag cag cca cag cag cag ccc ccg ccg cag ctg	2464
Pro Pro Pro Pro Pro Gln Gln Pro Gln Gln Gln Pro Pro Pro Gln Leu	
780 785 790	
cag ctg cag cct ggg gag gag gag agg cgg gaa agc cac cac ttg cgg	2512
Gln Leu Gln Pro Gly Glu Glu Glu Arg Arg Glu Ser His His Leu Arg	
795 800 805	
agc ccc gcc tac agc gtc agc acc atc gag ccc cgg gag gac ctg ctg	2560
Ser Pro Ala Tyr Ser Val Ser Thr Ile Glu Pro Arg Glu Asp Leu Leu	
810 815 820	

WO 02/20569

PCT/US01/28013

34

```

tcg cgg gtg cag gac gcc gac cgc ttt tac agg ggc att tta gaa cca 2608
Ser Pro Val Gln Asp Ala Asp Arg Phe Tyr Arg Gly Ile Leu Glu Pro
825      830      835      840

gac aaa cac tgc tcc acc acc ccc gcc ggc aat agc ctc cgg gaa tat 2656
Asp Lys His Cys Ser Thr Thr Pro Ala Gly Asn Ser Leu Pro Glu Tyr
845      850      855

ccc aaa ttc cgg tgc agc ccc gct gct tac act ttc tcc ccc aac tat 2704
Pro Lys Phe Pro Cys Ser Pro Ala Ala Tyr Thr Phe Ser Pro Asn Tyr
860      865      870

gac ctg aga cgc ccc cat cag tat ttg cac cgg ggg gca ggg gac agc 2752
Asp Leu Arg Arg Pro His Gln Tyr Leu His Pro Gly Ala Gly Asp Ser
875      880      885

agg cta cgg gaa cgg gtg ctc tac agc ccc cgg agt gct gtc ttt gta 2800
Arg Leu Arg Glu Pro Val Leu Tyr Ser Pro Pro Ser Ala Val Phe Val
890      895      900

gaa ccc aac cgg aac gaa tat ctg gag tta aaa gca aaa cta aac gtt 2848
Glu Pro Asn Arg Asn Glu Tyr Leu Glu Leu Lys Ala Lys Leu Asn Val
905      910      915      920

gag cgg gac tac ctc gaa gtg ctg gaa aaa cag acc acg ttt agc cag 2896
Glu Pro Asp Tyr Leu Glu Val Leu Glu Lys Gln Thr Thr Phe Ser Gln
925      930      935

ttc taaaagcaaa gaaactctct tggagctttt gcatttaaaa caaacaagca 2949
Phe

agcagacaca cacagtgaac acatttgatt aattgtgttg tttcaacgtt taggggaag 3009

tgccttggca cgggatttct cagcttcggt ggaagatacg aaaagggtgt gcaatttct 3069

ttaaaattta cacgtgggaa acatttggtt aaactgggca catcactttc tcttcttgcg 3129

tgtggggcag gtgtggagaa gggctttaag gagccaatt tgctgcgcgg gtgacctgtg 3189

aaaggtcaca gtcatttttg tagtggttgg aagtgcataag aatggtgat gatggcagag 3249

catagattct actcttcctc ttttcttcc tccctctccc ccgcccctgc cccactctc 3309

tttctccctt ttaagccat ggggtgggtct aactggcttt tgtggagaaa ttagcacacc 3369

ccaactttaa taggaaattt gttctctttt tcc 3402

<210> 19
<211> 937
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

WO 02/20569

PCT/US01/28013

35

<400> 19

Met Leu Gln Thr Leu Ala Phe Ala Val Thr Ser Leu Val Leu Ser Cys
 1 5 10 15

Ala Glu Thr Ile Asp Tyr Tyr Gly Glu Ile Cys Asp Asn Ala Cys Pro
 20 25 30

Cys Glu Glu Lys Asp Gly Ile Leu Thr Val Ser Cys Glu Asn Arg Gly
 35 40 45

Ile Ile Ser Leu Ser Glu Ile Ser Pro Pro Arg Phe Pro Ile Tyr His
 50 55 60

Leu Leu Leu Ser Gly Asn Leu Leu Asn Arg Leu Tyr Pro Asn Glu Phe
 65 70 75 80

Val Asn Tyr Thr Gly Ala Ser Ile Leu His Leu Gly Ser Asn Val Ile
 85 90 95

Gln Asp Ile Glu Thr Gly Ala Phe His Gly Leu Arg Gly Leu Arg Arg
 100 105 110

Leu His Leu Asn Asn Asn Lys Leu Glu Leu Leu Arg Asp Asp Thr Phe
 115 120 125

Leu Gly Leu Glu Asn Leu Glu Tyr Leu Gln Val Asp Tyr Asn Tyr Ile
 130 135 140

Ser Val Ile Glu Pro Asn Ala Phe Gly Lys Leu His Leu Leu Gln Val
 145 150 155 160

Leu Ile Leu Asn Asp Asn Leu Leu Ser Ser Leu Pro Asn Asn Leu Phe
 165 170 175

Arg Phe Val Pro Leu Thr His Leu Asp Leu Arg Gly Asn Arg Leu Lys
 180 185 190

Leu Leu Pro Tyr Val Gly Leu Leu Gln His Met Asp Lys Val Val Glu
 195 200 205

Leu Gln Leu Glu Glu Asn Pro Trp Asn Cys Ser Cys Glu Leu Ile Ser
 210 215 220

Leu Lys Asp Trp Leu Asp Ser Ile Ser Tyr Ser Ala Leu Val Gly Asp

WO 02/20569

PCT/US01/28013

36

225 230 235 240
 Val Val Cys Glu Thr Pro Phe Arg Leu His Gly Arg Asp Leu Asp Glu
 245 250 255
 Val Ser Lys Gln Glu Leu Cys Pro Arg Arg Leu Ile Ser Asp Tyr Glu
 260 265 270
 Met Arg Pro Gln Thr Pro Leu Ser Thr Thr Gly Tyr Leu His Thr Thr
 275 280 285
 Pro Ala Ser Val Asn Ser Val Ala Thr Ser Ser Ser Ala Val Tyr Lys
 290 295 300
 Pro Pro Leu Lys Pro Pro Lys Gly Thr Arg Gln Pro Asn Lys Pro Arg
 305 310 315 320
 Val Arg Pro Thr Ser Arg Gln Pro Ser Lys Asp Leu Gly Tyr Ser Asn
 325 330 335
 Tyr Gly Pro Ser Ile Ala Tyr Gln Thr Lys Ser Pro Val Pro Leu Glu
 340 345 350
 Cys Pro Thr Ala Cys Ser Cys Asn Leu Gln Ile Ser Asp Leu Gly Leu
 355 360 365
 Asn Val Asn Cys Gln Glu Arg Lys Ile Glu Ser Ile Ala Glu Leu Gln
 370 375 380
 Pro Lys Pro Tyr Asn Pro Lys Lys Met Tyr Leu Thr Glu Asn Tyr Ile
 385 390 395 400
 Ala Val Val Arg Arg Thr Asp Phe Leu Glu Ala Thr Gly Leu Asp Leu
 405 410 415
 Leu His Leu Gly Asn Asn Arg Ile Ser Met Ile Gln Asp Arg Ala Phe
 420 425 430
 Gly Asp Leu Thr Asn Leu Arg Arg Leu Tyr Leu Asn Gly Asn Arg Ile
 435 440 445
 Glu Arg Leu Ser Pro Glu Leu Phe Tyr Gly Leu Gln Ser Leu Gln Tyr
 450 455 460

WO 02/20569

PCT/US01/28013

37

Leu Phe Leu Gln Tyr Asn Leu Ile Arg Glu Ile Gln Ser Gly Thr Phe
 465 470 475 480
 Asp Pro Val Pro Asn Leu Gln Leu Leu Phe Leu Asn Asn Asn Leu Leu
 485 490 495
 Gln Ala Met Pro Ser Gly Val Phe Ser Gly Leu Thr Leu Leu Arg Leu
 500 505 510
 Asn Leu Arg Ser Asn His Phe Thr Ser Leu Pro Val Ser Gly Val Leu
 515 520 525
 Asp Gln Leu Lys Ser Leu Ile Gln Ile Asp Leu His Asp Asn Pro Trp
 530 535 540
 Asp Cys Thr Cys Asp Ile Val Gly Met Lys Leu Trp Val Glu Gln Leu
 545 550 555 560
 Lys Val Gly Val Leu Val Asp Glu Val Ile Cys Lys Ala Pro Lys Lys
 565 570 575
 Phe Ala Glu Thr Asp Met Arg Ser Ile Lys Ser Glu Leu Leu Cys Pro
 580 585 590
 Asp Tyr Ser Asp Val Val Val Ser Thr Pro Thr Pro Ser Ser Ile Gln
 595 600 605
 Val Pro Ala Arg Thr Ser Ala Val Thr Pro Ala Val Arg Leu Asn Ser
 610 615 620
 Thr Gly Ala Pro Ala Ser Leu Gly Ala Gly Gly Gly Ala Ser Ser Val
 625 630 635 640
 Pro Leu Ser Val Leu Ile Leu Ser Leu Leu Leu Val Phe Ile Met Ser
 645 650 655
 Val Phe Val Ala Ala Gly Leu Phe Val Leu Val Met Lys Arg Arg Lys
 660 665 670
 Lys Asn Gln Ser Asp His Thr Ser Thr Asn Asn Ser Asp Val Ser Ser
 675 680 685
 Phe Asn Met Gln Tyr Ser Val Tyr Gly Gly Gly Gly Gly Thr Gly Gly
 690 695 700

WO 02/20569

PCT/US01/28013

38

His Pro His Ala His Val His His Arg Gly Pro Ala Leu Pro Lys Val
705 710 715 720

Lys Thr Pro Ala Gly His Val Tyr Glu Tyr Ile Pro His Pro Leu Gly
725 730 735

His Met Cys Lys Asn Pro Ile Tyr Arg Ser Arg Glu Gly Asn Ser Val
740 745 750

Glu Asp Tyr Lys Asp Leu His Glu Leu Lys Val Thr Tyr Ser Ser Asn
755 760 765

His His Leu Gln Gln Gln Gln Gln Pro Pro Pro Pro Gln Gln Pro
770 775 780

Gln Gln Gln Pro Pro Gln Leu Gln Leu Gln Gly Glu Glu Glu
785 790 795 800

Arg Arg Glu Ser His His Leu Arg Ser Pro Ala Tyr Ser Val Ser Thr
805 810 815

Ile Glu Pro Arg Glu Asp Leu Leu Ser Pro Val Gln Asp Ala Asp Arg
820 825 830

Phe Tyr Arg Gly Ile Leu Glu Pro Asp Lys His Cys Ser Thr Thr Pro
835 840 845

Ala Gly Asn Ser Leu Pro Glu Tyr Pro Lys Phe Pro Cys Ser Pro Ala
850 855 860

Ala Tyr Thr Phe Ser Pro Asn Tyr Asp Leu Arg Arg Pro His Gln Tyr
865 870 875 880

Leu His Pro Gly Ala Gly Asp Ser Arg Leu Arg Glu Pro Val Leu Tyr
885 890 895

Ser Pro Pro Ser Ala Val Phe Val Glu Pro Asn Arg Asn Glu Tyr Leu
900 905 910

Glu Leu Lys Ala Lys Leu Asn Val Glu Pro Asp Tyr Leu Glu Val Leu
915 920 925

Glu Lys Gln Thr Thr Phe Ser Gln Phe
930 935

WO 02/20569

PCT/US01/28013

39

<210> 20

<211> 406

<212> DNA

<213> Mus musculus

```

<400> 20
aagaacccca tctaccggtc tcgagaaggc aattccgtgg aggattacaa agacctgcac    60
gagctcaagg tcacttacag cagcaaccac cacctgcagc agcagccgcc gccgccgccg    120
caacagcccc agcagcagcc cctccgcag atgcagatgc agcctgggga ggaggagagg    180
cgggaaagcc accatttgag gagccccgcc tacagcgtca gcaccatcga gccccgagag    240
gacctactgt cgccggtgca ggacgctgat cgcttttaca ggggcatttt agagccagac    300
aaacactgct ccactacccc tgcgggcagc agcctcccag aataccctaa attcccatgc    360
agcccggtcg cttacacattt ctcccaaac tatgaccgtt cggccg                    406

```

<210> 21

<211> 135

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 21

```

Lys Asn Pro Ile Tyr Arg Ser Arg Glu Gly Asn Ser Val Glu Asp Tyr
1           5           10          15

Lys Asp Leu His Glu Leu Lys Val Thr Tyr Ser Ser Asn His His Leu
20          25          30

Gln Gln Gln Pro Pro Pro Pro Gln Gln Pro Gln Gln Gln Pro Pro
35          40          45

Pro Gln Met Gln Met Gln Pro Gly Glu Glu Glu Arg Arg Glu Ser His
50          55          60

His Leu Arg Ser Pro Ala Tyr Ser Val Ser Thr Ile Glu Pro Arg Glu
65          70          75          80

```

WO 02/20569

PCT/US01/28013

40

Asp Leu Leu Ser Pro Val Gln Asp Ala Asp Arg Phe Tyr Arg Gly Ile
85 90 95

Leu Glu Pro Asp Lys His Cys Ser Thr Thr Pro Ala Gly Ser Ser Leu
100 105 110

Pro Glu Tyr Pro Lys Phe Pro Cys Ser Pro Ala Ala Tyr Thr Phe Ser
115 120 125

Pro Asn Tyr Asp Arg Ser Ala
130 135

<210> 22

<211> 3545

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (112)..(3042)

<223>

<400> 22
ctgatggatt tgcattcagg ttccagccct gcgtttccta tattgactcc ttatacacga 60
cctggcgctc cagtttagga ggagacgttg ttttgaatc aaccacgaac g atg aaa 117
Met Lys
1

cct tcc ata gct gag atg ctt cac aga gga agg atg ttg tgg ata att 165
Pro Ser Ile Ala Glu Met Leu His Arg Gly Arg Met Leu Trp Ile Ile
5 10 15

ctt cta agc aca att gct cta gga tgg act acc ccg att ccc cta ata 213
Leu Leu Ser Thr Ile Ala Leu Gly Trp Thr Thr Pro Ile Pro Leu Ile
20 25 30

gag gac tca gag gaa ata gat gag ccc tgt ttt gat cca tgc tac tgt 261
Glu Asp Ser Glu Glu Ile Asp Glu Pro Cys Phe Asp Pro Cys Tyr Cys
35 40 45 50

gaa gtt aaa gaa agc ctc ttt cat ata cat tgt gac agt aaa gga ttt 309
Glu Val Lys Glu Ser Leu Phe His Ile His Cys Asp Ser Lys Gly Phe
55 60 65

WO 02/20569

PCT/US01/28013

41

```

aca aat att agt cag att acc gag ttc tgg tca aga cct ttt aaa ctg      357
Thr Asn Ile Ser Gln Ile Thr Glu Phe Trp Ser Arg Pro Phe Lys Leu
      70                      75                      80

tat ctg cag agg aat tct atg agg aaa tta tat acc aac agt ttt ctt      405
Tyr Leu Gln Arg Asn Ser Met Arg Lys Leu Tyr Thr Asn Ser Phe Leu
      85                      90                      95

cat ttg aat aat gct gtg tct att aat ctt ggg aac aat gca ttg cag      453
His Leu Asn Asn Ala Val Ser Ile Asn Leu Gly Asn Asn Ala Leu Gln
      100                     105                     110

gac att cag act gga gct ttc aat ggt ctt aag att tta aag aga cta      501
Asp Ile Gln Thr Gly Ala Phe Asn Gly Leu Lys Ile Leu Lys Arg Leu
      115                     120                     125                     130

tat cta cat gaa aac aaa cta gat gtc ttc aga aat gac acc ttc ctt      549
Tyr Leu His Glu Asn Lys Leu Asp Val Phe Arg Asn Asp Thr Phe Leu
      135                     140                     145

ggc ttg gaa agt cta gaa tat ctg cag gca gat tac aat gtc att aaa      597
Gly Leu Glu Ser Leu Glu Tyr Leu Gln Ala Asp Tyr Asn Val Ile Lys
      150                     155                     160

cgt att gag agt ggg gca ttt cgg aac cta agt aaa ttg agg gtt ctg      645
Arg Ile Glu Ser Gly Ala Phe Arg Asn Leu Ser Lys Leu Arg Val Leu
      165                     170                     175

att tta aat gat aat ctc atc ccc atg ctt cca acc aat tta ttt aag      693
Ile Leu Asn Asp Asn Leu Ile Pro Met Leu Pro Thr Asn Leu Phe Lys
      180                     185                     190

gct gtc tct tta acc cat ttg gac cta cgt gga aat agg tta aag gtt      741
Ala Val Ser Leu Thr His Leu Asp Leu Arg Gly Asn Arg Leu Lys Val
      195                     200                     205                     210

ctt ttt tac cga gga atg cta gat cac att ggc aga agc ctg atg gag      789
Leu Phe Tyr Arg Gly Met Leu Asp His Ile Gly Arg Ser Leu Met Glu
      215                     220                     225

ctc cag ctg gaa gaa aac cct tgg aac tgt aca tgt gaa att gta caa      837
Leu Gln Leu Glu Glu Asn Pro Trp Asn Cys Thr Cys Glu Ile Val Gln
      230                     235                     240

ctg aag agt tgg ctg gaa cgc att cct tat act gcc ctg gtg gga gac      885
Leu Lys Ser Trp Leu Glu Arg Ile Pro Tyr Thr Ala Leu Val Gly Asp
      245                     250                     255

att acc tgt gag acc cct ttc cac ttc cat gga aag gac cta cga gaa      933
Ile Thr Cys Glu Thr Pro Phe His Phe His Gly Lys Asp Leu Arg Glu
      260                     265                     270

atc agg aag aca gaa ctc tgt ccc ttg ttg tct gac tct gag gta gag      981
Ile Arg Lys Thr Glu Leu Cys Pro Leu Leu Ser Asp Ser Glu Val Glu
      275                     280                     285                     290

gct agt ttg gga att cca cat tcg tca tca agt aag gag aat gca tgg      1029
Ala Ser Leu Gly Ile Pro His Ser Ser Ser Ser Lys Glu Asn Ala Trp

```

WO 02/20569

PCT/US01/28013

42

	295	300	305	
cca act aag cct tcc tca atg cta tcc tct gtt cat ttt act gct tct				1077
Pro Thr Lys Pro Ser Ser Met Leu Ser Ser Val His Phe Thr Ala Ser				
	310	315	320	
tct gtc gaa tac aag tcc tca aat aaa cag cct aag ccc acc aaa cag				1125
Ser Val Glu Tyr Lys Ser Ser Asn Lys Gln Pro Lys Pro Thr Lys Gln				
	325	330	335	
cct cga aca cca agg cca ccc tcc acc tcc caa gct tta tat cct ggt				1173
Pro Arg Thr Pro Arg Pro Pro Ser Thr Ser Gln Ala Leu Tyr Pro Gly				
	340	345	350	
cca aac cag cct ccc att gct cct tat cag acc aga cca cca atc ccc				1221
Pro Asn Gln Pro Pro Ile Ala Pro Tyr Gln Thr Arg Pro Pro Ile Pro				
	355	360	365	370
att ata tgc ccc act ggg tgt acc tgt aat ttg cac atc aat gac ctt				1269
Ile Ile Cys Pro Thr Gly Cys Thr Cys Asn Leu His Ile Asn Asp Leu				
	375	380	385	
ggc ttg act gtc aac tgc aaa gag cga gga ttt aat aac att tct gaa				1317
Gly Leu Thr Val Asn Cys Lys Glu Arg Gly Phe Asn Asn Ile Ser Glu				
	390	395	400	
ctt ctt cca agg ccc ttg aat gcc aag aaa ctg tat ctg agt agc aat				1365
Leu Leu Pro Arg Pro Leu Asn Ala Lys Lys Leu Tyr Leu Ser Ser Asn				
	405	410	415	
ctg att cag aaa ata tac cgt tct gat ttt tgg aat ttt tct tcc ttg				1413
Leu Ile Gln Lys Ile Tyr Arg Ser Asp Phe Trp Asn Phe Ser Ser Leu				
	420	425	430	
gat ctc ttg cat ctg ggg aac aat cgt att tcc tat gtc caa gat ggg				1461
Asp Leu Leu His Leu Gly Asn Asn Arg Ile Ser Tyr Val Gln Asp Gly				
	435	440	445	450
gcc ttt atc aac ttg ccc aac tta aag agc ctc ttc ctt aat ggc aac				1509
Ala Phe Ile Asn Leu Pro Asn Leu Lys Ser Leu Phe Leu Asn Gly Asn				
	455	460	465	
gat ata gag aag ctg aca cca ggc atg ttc cga ggc cta cag agt ttg				1557
Asp Ile Glu Lys Leu Thr Pro Gly Met Phe Arg Gly Leu Gln Ser Leu				
	470	475	480	
cac tac ttg tac ttt gag ttc aat gtc atc cgg gaa atc cag cct gca				1605
His Tyr Leu Tyr Phe Glu Phe Asn Val Ile Arg Glu Ile Gln Pro Ala				
	485	490	495	
gcc ttc agc ctc atg ccc aac ttg aag ctg cta ttc ctc aat aat aac				1653
Ala Phe Ser Leu Met Pro Asn Leu Lys Leu Leu Phe Leu Asn Asn Asn				
	500	505	510	
tta ctg agg act ctg cca aca gac gcc ttt gct ggc aca tcc ctg gcc				1701
Leu Leu Arg Thr Leu Pro Thr Asp Ala Phe Ala Gly Thr Ser Leu Ala				
	515	520	525	530
cgg ctc aac ctg agg aag aac tac ttc ctc tat ctt ccc gtg gct ggt				1749

WO 02/20569

PCT/US01/28013

43

Arg Leu Asn Leu Arg Lys Asn Tyr Phe Leu Tyr Leu Pro Val Ala Gly	
535 540 545	
gtc ctg gaa cac ttg aat gcc att gtc cag ata gac ctc aat gag aat	1797
Val Leu Glu His Leu Asn Ala Ile Val Gln Ile Asp Leu Asn Glu Asn	
550 555 560	
cct tgg gac tgc acc tgt gac ctg gtc ccc ttt aaa cag tgg atc gaa	1845
Pro Trp Asp Cys Thr Cys Asp Leu Val Pro Phe Lys Gln Trp Ile Glu	
565 570 575	
acc atc agc tca gtc agt gtg gtt ggt gat gtg ctt tgc agg agc cct	1893
Thr Ile Ser Ser Val Ser Val Val Gly Asp Val Leu Cys Arg Ser Pro	
580 585 590	
gag aac ctc acg cac cgt gat gtg cgc act att gag ctg gaa gtt ctt	1941
Glu Asn Leu Thr His Arg Asp Val Arg Thr Ile Glu Leu Glu Val Leu	
595 600 605 610	
tgc cca gag atg ctg cac gtt gca cca gct gga gaa tcc cca gcc cag	1989
Cys Pro Glu Met Leu His Val Ala Pro Ala Gly Glu Ser Pro Ala Gln	
615 620 625	
cct gga gat tct cac ctt att ggg gca cca acc agt gca tca cct tat	2037
Thr Gly Asp Ser His Leu Ile Gly Ala Pro Thr Ser Ala Ser Pro Tyr	
630 635 640	
gag ttt tct cct cct ggg ggc cct gtg cca ctt tct gtg tta att ctc	2085
Glu Phe Ser Pro Pro Gly Gly Pro Val Pro Leu Ser Val Leu Ile Leu	
645 650 655	
agc ctg ctg gtt ctg ttt ttc tca gca gtc ttt gtt gct gca ggc ctc	2133
Ser Leu Leu Val Leu Phe Phe Ser Ala Val Phe Val Ala Ala Gly Leu	
660 665 670	
ttt gcc tac gtg ctc cga agg cgt cga aag aag ctg ccc ttc aga agc	2181
Phe Ala Tyr Val Leu Arg Arg Arg Arg Lys Lys Leu Pro Phe Arg Ser	
675 680 685 690	
aag cgg cag gaa ggt gtg gac ctt act ggc atc caa atg caa tgc cac	2229
Lys Arg Gln Glu Gly Val Asp Leu Thr Gly Ile Gln Met Gln Cys His	
695 700 705	
agg ctg ttt gag gat ggt gga ggt ggt ggc gga agt ggg ggt ggt	2277
Arg Leu Phe Glu Asp Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly	
710 715 720	
ggt cga cca act ctt tcc tct cca gag aag gcc cct ccc gtg ggt cat	2325
Gly Arg Pro Thr Leu Ser Ser Pro Glu Lys Ala Pro Pro Val Gly His	
725 730 735	
gtg tat gag tac atc ccc cac ccg gtt acc caa atg tgc aac aac ccc	2373
Val Tyr Glu Tyr Ile Pro His Pro Val Thr Gln Met Cys Asn Asn Pro	
740 745 750	
atc tac aag cct cgt gag gag gag gag gtg gct gtt tca tca gcc caa	2421
Ile Tyr Lys Pro Arg Glu Glu Glu Glu Val Ala Val Ser Ser Ala Gln	
755 760 765 770	

WO 02/20569

PCT/US01/28013

44

gaa gca ggg agt gca gaa cgt ggg ggt cca ggg aca caa cca ccg gga 2469
 Glu Ala Gly Ser Ala Glu Arg Gly Gly Pro Gly Thr Gln Pro Pro Gly
 775 780 785
 atg ggt gag gct ctc cta gga agt gag cag ttt gct gag aca ccc aag 2517
 Met Gly Glu Ala Leu Leu Gly Ser Glu Gln Phe Ala Glu Thr Pro Lys
 790 795 800
 gag aac cat agt aac tac cgg acc ttg ctg gaa aaa gag aag gag tgg 2565
 Glu Asn His Ser Asn Tyr Arg Thr Leu Leu Glu Lys Glu Lys Glu Trp
 805 810 815
 gcc cta gca gtg tcc agc tcc cag ctt aac acc ata gtg acg gtg aat 2613
 Ala Leu Ala Val Ser Ser Ser Gln Leu Asn Thr Ile Val Thr Val Asn
 820 825 830
 cac cat cac cct cac cac cca gca gtt ggt ggg gtt tca gga gta gtt 2661
 His His His Pro His His Pro Ala Val Gly Gly Val Ser Gly Val Val
 835 840 845 850
 ggg gga act ggg gga gac ttg gca ggg ttc cgc cac cat gag aaa aat 2709
 Gly Gly Thr Gly Gly Asp Leu Ala Gly Phe Arg His His Glu Lys Asn
 855 860 865
 ggt ggg gtg gtg ctg ttt cct cct ggg gga ggc tgt ggt agt ggc agt 2757
 Gly Gly Val Val Leu Phe Pro Pro Gly Gly Gly Cys Gly Ser Gly Ser
 870 875 880
 atg cta cta gat cga gag agg cca cag cct gcc ccc tgc aca gtg gga 2805
 Met Leu Leu Asp Arg Glu Arg Pro Gln Pro Ala Pro Cys Thr Val Gly
 885 890 895
 ttt gtg gac tgt ctc tat gga aca gtg ccc aaa tta aag gaa ctg cac 2853
 Phe Val Asp Cys Leu Tyr Gly Thr Val Pro Lys Leu Lys Glu Leu His
 900 905 910
 gtg cac cct cct ggc atg caa tac cca gac tta cag cag gat gcc agg 2901
 Val His Pro Pro Gly Met Gln Tyr Pro Asp Leu Gln Gln Asp Ala Arg
 915 920 925 930
 ctc aaa gaa acc ctt ctc ttc tgc gct gaa aag ggc ttc aca gac cac 2949
 Leu Lys Glu Thr Leu Leu Phe Ser Ala Glu Lys Gly Phe Thr Asp His
 935 940 945
 caa acc caa aaa agt gat tac ctc gag tta agg gcc aaa ctt caa acc 2997
 Gln Thr Gln Lys Ser Asp Tyr Leu Glu Leu Arg Ala Lys Leu Gln Thr
 950 955 960
 aag ccg gat tac ctc gaa gtc ctg gag aag aca aca tac agg ttc 3042
 Lys Pro Asp Tyr Leu Glu Val Leu Glu Lys Thr Thr Tyr Arg Phe
 965 970 975
 taacagagag aagaaaatat attagtgtt tttttttttc aaaagaaaag gaaaataaaa 3102
 gaaatatatc ccttgctccc ttacacttg tccagtaac tccatcctca cgatctttcc 3162
 taccctgaac aaaactaaaa ccgcatgata actagagaat acagatgtat gctctccctc 3222
 ctcagatgcg atttgagga agggccatcc tcagatcatt aatcaatgaa agtgccttcg 3282

WO 02/20569

PCT/US01/28013

45

```

cagacttttg ccagcaaatg ttatcattat ttttttatac tgaacttga gactttgact 3342
gtgccatgta taagatatac tggggatcat tgtatggatc ctaattaagt aaaattcaat 3402
gtgtcttttt attttcagta actatttttt ttatagttgt agttttgatt taaagggggg 3462
gaaacaagtt gacatttgto atttgggct ttctttotta tcatcatggc acagattctg 3522
tacatgtatt aacaatgcag ttt 3545

```

<210> 23

<211> 977

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 23

```

Met Lys Pro Ser Ile Ala Glu Met Leu His Arg Gly Arg Met Leu Trp
1      5      10      15

```

```

Ile Ile Leu Leu Ser Thr Ile Ala Leu Gly Trp Thr Thr Pro Ile Pro
20      25      30

```

```

Leu Ile Glu Asp Ser Glu Glu Ile Asp Glu Pro Cys Phe Asp Pro Cys
35      40      45

```

```

Tyr Cys Glu Val Lys Glu Ser Leu Phe His Ile His Cys Asp Ser Lys
50      55      60

```

```

Gly Phe Thr Asn Ile Ser Gln Ile Thr Glu Phe Trp Ser Arg Pro Phe
65      70      75      80

```

```

Lys Leu Tyr Leu Gln Arg Asn Ser Met Arg Lys Leu Tyr Thr Asn Ser
85      90      95

```

```

Phe Leu His Leu Asn Asn Ala Val Ser Ile Asn Leu Gly Asn Asn Ala
100     105     110

```

```

Leu Gln Asp Ile Gln Thr Gly Ala Phe Asn Gly Leu Lys Ile Leu Lys
115     120     125

```

```

Arg Leu Tyr Leu His Glu Asn Lys Leu Asp Val Phe Arg Asn Asp Thr
130     135     140

```

WO 02/20569

PCT/US01/28013

46

Phe Leu Gly Leu Glu Ser Leu Glu Tyr Leu Gln Ala Asp Tyr Asn Val
 145 150 155 160
 Ile Lys Arg Ile Glu Ser Gly Ala Phe Arg Asn Leu Ser Lys Leu Arg
 165 170 175
 Val Leu Ile Leu Asn Asp Asn Leu Ile Pro Met Leu Pro Thr Asn Leu
 180 185 190
 Phe Lys Ala Val Ser Leu Thr His Leu Asp Leu Arg Gly Asn Arg Leu
 195 200 205
 Lys Val Leu Phe Tyr Arg Gly Met Leu Asp His Ile Gly Arg Ser Leu
 210 215 220
 Met Glu Leu Gln Leu Glu Asn Pro Trp Asn Cys Thr Cys Glu Ile
 225 230 235 240
 Val Gln Leu Lys Ser Trp Leu Glu Arg Ile Pro Tyr Thr Ala Leu Val
 245 250 255
 Gly Asp Ile Thr Cys Glu Thr Pro Phe His Phe His Gly Lys Asp Leu
 260 265 270
 Arg Glu Ile Arg Lys Thr Glu Leu Cys Pro Leu Leu Ser Asp Ser Glu
 275 280 285
 Val Glu Ala Ser Leu Gly Ile Pro His Ser Ser Ser Lys Glu Asn
 290 295 300
 Ala Trp Pro Thr Lys Pro Ser Ser Met Leu Ser Ser Val His Phe Thr
 305 310 315 320
 Ala Ser Ser Val Glu Tyr Lys Ser Ser Asn Lys Gln Pro Lys Pro Thr
 325 330 335
 Lys Gln Pro Arg Thr Pro Arg Pro Pro Ser Thr Ser Gln Ala Leu Tyr
 340 345 350
 Pro Gly Pro Asn Gln Pro Pro Ile Ala Pro Tyr Gln Thr Arg Pro Pro
 355 360 365
 Ile Pro Ile Ile Cys Pro Thr Gly Cys Thr Cys Asn Leu His Ile Asn
 370 375 380

WO 02/20569

PCT/US01/28013

47

Asp Leu Gly Leu Thr Val Asn Cys Lys Glu Arg Gly Phe Asn Asn Ile
385 390 395 400

Ser Glu Leu Leu Pro Arg Pro Leu Asn Ala Lys Lys Leu Tyr Leu Ser
405 410 415

Ser Asn Leu Ile Gln Lys Ile Tyr Arg Ser Asp Phe Trp Asn Phe Ser
420 425 430

Ser Leu Asp Leu Leu His Leu Gly Asn Asn Arg Ile Ser Tyr Val Gln
435 440 445

Asp Gly Ala Phe Ile Asn Leu Pro Asn Leu Lys Ser Leu Phe Leu Asn
450 455 460

Gly Asn Asp Ile Glu Lys Leu Thr Pro Gly Met Phe Arg Gly Leu Gln
465 470 475 480

Ser Leu His Tyr Leu Tyr Phe Glu Phe Asn Val Ile Arg Glu Ile Gln
485 490 495

Pro Ala Ala Phe Ser Leu Met Pro Asn Leu Lys Leu Leu Phe Leu Asn
500 505 510

Asn Asn Leu Leu Arg Thr Leu Pro Thr Asp Ala Phe Ala Gly Thr Ser
515 520 525

Leu Ala Arg Leu Asn Leu Arg Lys Asn Tyr Phe Leu Tyr Leu Pro Val
530 535 540

Ala Gly Val Leu Glu His Leu Asn Ala Ile Val Gln Ile Asp Leu Asn
545 550 555 560

Glu Asn Pro Trp Asp Cys Thr Cys Asp Leu Val Pro Phe Lys Gln Trp
565 570 575

Ile Glu Thr Ile Ser Ser Val Ser Val Val Gly Asp Val Leu Cys Arg
580 585 590

Ser Pro Glu Asn Leu Thr His Arg Asp Val Arg Thr Ile Glu Leu Glu
595 600 605

Val Leu Cys Pro Glu Met Leu His Val Ala Pro Ala Gly Glu Ser Pro

WO 02/20569

PCT/US01/28013

48

610 615 620
 Ala Gln Pro Gly Asp Ser His Leu Ile Gly Ala Pro Thr Ser Ala Ser
 625 630 635 640
 Pro Tyr Glu Phe Ser Pro Pro Gly Gly Pro Val Pro Leu Ser Val Leu
 645 650 655
 Ile Leu Ser Leu Leu Val Leu Phe Phe Ser Ala Val Phe Val Ala Ala
 660 665 670
 Gly Leu Phe Ala Tyr Val Leu Arg Arg Arg Lys Lys Leu Pro Phe
 675 680 685
 Arg Ser Lys Arg Gln Glu Gly Val Asp Leu Thr Gly Ile Gln Met Gln
 690 695 700
 Cys His Arg Leu Phe Glu Asp Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 705 710 715 720
 Gly Gly Gly Arg Pro Thr Leu Ser Ser Pro Glu Lys Ala Pro Pro Val
 725 730 735
 Gly His Val Tyr Glu Tyr Ile Pro His Pro Val Thr Gln Met Cys Asn
 740 745 750
 Asn Pro Ile Tyr Lys Pro Arg Glu Glu Glu Glu Val Ala Val Ser Ser
 755 760 765
 Ala Gln Glu Ala Gly Ser Ala Glu Arg Gly Gly Pro Gly Thr Gln Pro
 770 775 780
 Pro Gly Met Gly Glu Ala Leu Leu Gly Ser Glu Gln Phe Ala Glu Thr
 785 790 795 800
 Pro Lys Glu Asn His Ser Asn Tyr Arg Thr Leu Leu Glu Lys Glu Lys
 805 810 815
 Glu Trp Ala Leu Ala Val Ser Ser Ser Gln Leu Asn Thr Ile Val Thr
 820 825 830
 Val Asn His His His Pro His His Pro Ala Val Gly Gly Val Ser Gly
 835 840 845

WO 02/20569

PCT/US01/28013

49

Val Val Gly Gly Thr Gly Gly Asp Leu Ala Gly Phe Arg His His Glu
850 855 860

Lys Asn Gly Gly Val Val Leu Phe Pro Pro Gly Gly Gly Cys Gly Ser
865 870 875 880

Gly Ser Met Leu Leu Asp Arg Glu Arg Pro Gln Pro Ala Pro Cys Thr
885 890 895

Val Gly Phe Val Asp Cys Leu Tyr Gly Thr Val Pro Lys Leu Lys Glu
900 905 910

Leu His Val His Pro Pro Gly Met Gln Tyr Pro Asp Leu Gln Gln Asp
915 920 925

Ala Arg Leu Lys Glu Thr Leu Leu Phe Ser Ala Glu Lys Gly Phe Thr
930 935 940

Asp His Gln Thr Gln Lys Ser Asp Tyr Leu Glu Leu Arg Ala Lys Leu
945 950 955 960

Gln Thr Lys Pro Asp Tyr Leu Glu Val Leu Glu Lys Thr Thr Tyr Arg
965 970 975

Phe

<210> 24

<211> 2631

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (118)..(2628)

<223>

<400> 24

atgatttaca tacaagtaat ttttcaagta atgaccattg aaaaaatggt ttctttttat 60

WO 02/20569

PCT/US01/28013

50

```

tttttagatt attttotttt attcagaagc atacagttgt ttgctgattg caagaag      117

atg ttt ctg tgg ctg ttt ctg att ttg tca gcc ctg att tct tgc aca      165
Met Phe Leu Trp Leu Phe Leu Ile Leu Ser Ala Leu Ile Ser Ser Thr
1      5      10      15

aat gca gat tct gac ata tgc gtg gaa att tgc aat gtg tgt tcc tgc      213
Asn Ala Asp Ser Asp Ile Ser Val Glu Ile Cys Asn Val Cys Ser Cys
20      25      30

gtg tca gtt gag aat gtg ctc tat gtc aac tgt gag aag gtt tca gtc      261
Val Ser Val Glu Asn Val Leu Tyr Val Asn Cys Glu Lys Val Ser Val
35      40      45

tac aga cca aat aat ctg aaa cca cct tgg tct aat ttt tat cac ctc      309
Tyr Arg Pro Asn Gln Leu Lys Pro Pro Trp Ser Asn Phe Tyr His Leu
50      55      60

aat ttc caa aat aat ttt tta aat att ctg tat cca aat aca ttc ttg      357
Asn Phe Gln Asn Asn Phe Leu Asn Ile Leu Tyr Pro Asn Thr Phe Leu
65      70      75      80

aat ttt tca cat gca gtc tcc ctg cat ctg ggg aat aat aaa ctg cag      405
Asn Phe Ser His Ala Val Ser Leu His Leu Gly Asn Asn Lys Leu Gln
85      90      95

aac att gag gga gga gcc ttt ctt ggg ctc agt gca tta aag cag ttg      453
Asn Ile Glu Gly Gly Ala Phe Leu Gly Leu Ser Ala Leu Lys Gln Leu
100      105      110

cac ttg aac aac aat gaa tta aag att ctc cga gct gac act ttc ctt      501
His Leu Asn Asn Asn Glu Leu Lys Ile Leu Arg Ala Asp Thr Phe Leu
115      120      125

ggc ata gag aac ttg gag tat ctc cag gct gac tac aat tta atc aag      549
Gly Ile Glu Asn Leu Glu Tyr Leu Gln Ala Asp Tyr Asn Leu Ile Lys
130      135      140

tat att gaa cga gga gcc ttc aat aag ctc cac aaa ctg aaa gtt ctc      597
Tyr Ile Glu Arg Gly Ala Phe Asn Lys Leu His Lys Leu Lys Val Leu
145      150      155      160

att ctt aat gac aat ctg att tca ttc ctt cct gat aat att ttc cga      645
Ile Leu Asn Asp Asn Leu Ile Ser Phe Leu Pro Asp Asn Ile Phe Arg
165      170      175

ttc gca tct ttg acc cat ctg gat ata cga ggg aac aga atc cag aag      693
Phe Ala Ser Leu Thr His Leu Asp Ile Arg Gly Asn Arg Ile Gln Lys
180      185      190

ctc cct tat atc ggg gtt ctg gaa cac att ggc cgt gtc gtt gaa ttg      741
Leu Pro Tyr Ile Gly Val Leu Glu His Ile Gly Arg Val Val Glu Leu
195      200      205

caa ctg gaa gat aac cct tgg aac tgt agc tgt gat tta ttg ccc tta      789
Gln Leu Glu Asp Asn Pro Trp Asn Cys Ser Cys Asp Leu Leu Pro Leu
210      215      220

aaa gct tgg ctg gag aac atg cca tat aac att tac ata gga gaa gct      837

```

PCT/US01/28013

lys	ala	trp	leu	glu	asn	met	pro	tyr	asn	ile	tyr	ile	gly	glu	ala	
225					230				235						240	
act	tgt	gaa	act	ccc	agc	gat	tta	tat	gga	agg	ctt	tta	aaa	gaa	acc	885
ile	cys	glu	thr	pro	ser	asp	leu	tyr	gly	arg	leu	leu	lys	glu	thr	
				245					250						255	
aac	aaa	caa	gag	cta	tgt	ccc	atg	ggc	acc	ggc	agt	gat	ttt	gac	gtg	933
asn	lys	gln	gln	leu	cys	pro	met	gly	thr	gly	ser	asp	phe	asp	val	
				260				265					270			
cgc	atc	ctg	cct	cca	tct	cag	ctg	gaa	aat	ggc	tac	acc	act	ccc	aat	981
arg	ile	leu	pro	pro	ser	ser	gln	leu	glu	asn	gly	tyr	thr	thr	pro	asn
				275				280					285			
ggt	cac	act	acc	caa	aca	tct	tta	cac	aga	tta	gta	act	aaa	cca	cca	1029
gly	his	thr	thr	gln	thr	ser	leu	his	arg	leu	val	thr	lys	pro	pro	
				290				295				300				
aaa	aca	aca	aat	cct	tcc	aag	act	tct	gga	atc	gtt	gca	ggc	aaa	gcc	1077
lys	thr	thr	asn	pro	ser	lys	ile	ser	gly	ile	val	ala	gly	lys	ala	
				310					315						320	
ctc	tcc	aac	cgc	aat	ctc	agt	cag	att	gtg	tct	tac	caa	aca	agg	gtg	1125
leu	ser	asn	arg	asn	leu	ser	gln	ile	val	ser	tyr	gln	thr	arg	val	
				325					330						335	
cct	cct	cta	aca	cct	tgc	ccg	gca	cct	tgc	ttc	tgc	aaa	aca	cac	cct	1173
pro	pro	leu	thr	pro	cys	pro	ala	pro	cys	phe	cys	lys	thr	his	pro	
				340				345					350			
tca	gat	ttg	gga	cta	agt	gtg	aac	tgc	caa	gag	aaa	aat	ata	cag	tct	1221
ser	asp	leu	gly	leu	ser	val	asn	cys	gln	glu	lys	asn	ile	gln	ser	
				355				360					365			
atg	tct	gaa	ctg	ata	ccg	aaa	cct	tta	aat	gcg	aag	aag	ctg	cac	gtc	1269
met	ser	glu	leu	ile	pro	lys	pro	leu	asn	ala	lys	lys	leu	his	val	
				370				375					380			
aat	ggc	aat	agc	atc	aag	gat	gtg	gac	gta	tca	gac	ttc	act	gac	ttt	1317
asn	gly	asn	ser	ile	lys	asp	val	asp	val	ser	asp	phe	thr	asp	phe	
				385				390				395			400	
gaa	gga	ctg	gat	ttg	ctt	cat	tta	ggc	agc	aat	caa	att	aca	gtg	att	1365
glu	gly	leu	asp	leu	his	leu	leu	gly	ser	asn	gln	ile	thr	val	ile	
				405				410						415		
aag	gga	gac	gta	ttt	cac	aat	ctc	act	aat	tta	cgc	agg	cta	tat	ctc	1413
lys	gly	asp	val	phe	his	asn	leu	thr	asn	leu	arg	arg	leu	tyr	leu	
				420				425					430			
aat	ggc	aat	caa	att	gag	aga	ctc	tat	cct</							

WO 02/20569

PCT/US01/28013

52

tca gca ggc acc ttt gac tcc atg cca aat ttg cag tta ctg tac tta Ser Ala Gly Thr Phe Asp Ser Met Pro Asn Leu Gln Leu Leu Tyr Leu 465 470 475 480	1557
aac aat aat ctc cta aag agc ctg cct gtt tac atc ttt tcc gga gca Asn Asn Asn Leu Leu Lys Ser Leu Pro Val Tyr Ile Phe Ser Gly Ala 485 490 495	1605
ccc tta gct aga ctg aac ctg agg aac aac aaa ttc atg tac ctg cct Pro Leu Ala Arg Leu Asn Leu Arg Asn Asn Lys Phe Met Tyr Leu Pro 500 505 510	1653
gtc agt ggg gtc ctt gat cag ttg caa tct ctt aca cag att gac ttg Val Ser Gly Val Leu Asp Gln Leu Gln Ser Leu Thr Gln Ile Asp Leu 515 520 525	1701
gag ggc aac cca tgg gac tgt act tgt gac ttg gtg gca tta aag ctg Glu Gly Asn Pro Trp Asp Cys Thr Cys Asp Leu Val Ala Leu Lys Leu 530 535 540	1749
tgg gtg gag aag ttg agc gac ggg att gtt gtg aaa gaa ctg aaa tgt Trp Val Glu Lys Leu Ser Asp Gly Ile Val Val Lys Glu Leu Lys Cys 545 550 555 560	1797
gag acg cct gtt cag ttt gcc aac att gaa ctg aag tcc ctc aaa aat Glu Thr Pro Val Gln Phe Ala Asn Ile Glu Leu Lys Ser Leu Lys Asn 565 570 575	1845
gaa atc tta tgt ccc aaa ctt tta aat aag ccg tct gca cca ttc aca Glu Ile Leu Cys Pro Lys Leu Leu Asn Lys Pro Ser Ala Pro Phe Thr 580 585 590	1893
agc cct gca cct gcc att aca ttc acc act cct ttg ggt ccc att cga Ser Pro Ala Pro Ala Ile Thr Phe Thr Thr Pro Leu Gly Pro Ile Arg 595 600 605	1941
agt cct cct ggt ggg cca gtg cct ctg tct att tta atc tta agt atc Ser Pro Pro Gly Gly Pro Val Pro Leu Ser Ile Leu Ile Leu Ser Ile 610 615 620	1989
tta gtg gtc ctc att tta acg gtg ttt gtt gct ttt tgc ctt ctt gtt Leu Val Val Leu Ile Leu Thr Val Phe Val Ala Phe Cys Leu Leu Val 625 630 635 640	2037
ttt gtc ctg cga cgc aac aag aaa ccc aca gtg aag cac gaa ggc ctg Phe Val Leu Arg Arg Asn Lys Lys Pro Thr Val Lys His Glu Gly Leu 645 650 655	2085
ggg aat cct gac tgt gcc tcc atg cag ctg cag cta agg aag cat gac Gly Asn Pro Asp Cys Gly Ser Met Gln Leu Gln Leu Arg Lys His Asp 660 665 670	2133
cac aaa acc aat aaa aaa gat gga ctg agc aca gaa gct ttc att cca His Lys Thr Asn Lys Lys Asp Gly Leu Ser Thr Glu Ala Phe Ile Pro 675 680 685	2181
caa act ata gaa cag atg agc aag agc cac act tgt ggc ttg aaa gag Gln Thr Ile Glu Gln Met Ser Lys Ser His Thr Cys Gly Leu Lys Glu 690 695 700	2229

WO 02/20569

PCT/US01/28013

53

```

tca gaa act ggg ttc atg ttt tca gat cct cca gga cag aaa gtt gtt 2277
Ser Glu Thr Gly Phe Met Phe Ser Asp Pro Pro Gly Gln Lys Val Val
705          710          715          720

atg aga aat gtg gcc gac aag gag aaa gat tta tta cat gta gat acc 2325
Met Arg Asn Val Ala Asp Lys Glu Lys Asp Leu Leu His Val Asp Thr
725          730          735

agg aag aga ctg agc aca att gat gag ctg gat gaa tta ttc cct agc 2373
Arg Lys Arg Leu Ser Thr Ile Asp Glu Leu Asp Glu Leu Phe Pro Ser
740          745          750

agg gat tcc aat gtg ttt att cag aat ttt ctt gaa agc aaa aag gag 2421
Arg Asp Ser Asn Val Phe Ile Gln Asn Phe Leu Glu Ser Lys Lys Glu
755          760          765

tat aat agc ata ggt gtc agt ggc ttt gag atc cgc tat cca gaa aaa 2469
Tyr Asn Ser Ile Gly Val Ser Gly Phe Glu Ile Arg Tyr Pro Glu Lys
770          775          780

caa cca gac aaa aaa agt aag aag tca ctg ata ggt ggc aac cac agt 2517
Gln Pro Asp Lys Lys Ser Lys Lys Ser Leu Ile Gly Gly Asn His Ser
785          790          795          800

aaa att gtt gtg gaa caa agg aag agt gag tat ttt gaa ctg aag gcg 2565
Lys Ile Val Val Glu Gln Arg Lys Ser Glu Tyr Phe Glu Leu Lys Ala
805          810          815

aaa ctg cag agt tcc cct gac tac cta cag gtc ctt gag gag caa aca 2613
Lys Leu Gln Ser Ser Pro Asp Tyr Leu Gln Val Leu Glu Glu Gln Thr
820          825          830

gct ttg aac aag atc tag 2631
Ala Leu Asn Lys Ile
835

<210> 25
<211> 837
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 25
Met Phe Leu Trp Leu Phe Leu Ile Leu Ser Ala Leu Ile Ser Ser Thr
1          5          10          15

Asn Ala Asp Ser Asp Ile Ser Val Glu Ile Cys Asn Val Cys Ser Cys
20          25          30

Val Ser Val Glu Asn Val Leu Tyr Val Asn Cys Glu Lys Val Ser Val

```

WO 02/20569

PCT/US01/28013

54

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

WO 02/20569

PCT/US01/28013

55

Arg Ile Leu Pro Pro Ser Gln Leu Glu Asn Gly Tyr Thr Thr Pro Asn
 275 280 285
 Gly His Thr Thr Gln Thr Ser Leu His Arg Leu Val Thr Lys Pro Pro
 290 295 300
 Lys Thr Thr Asn Pro Ser Lys Ile Ser Gly Ile Val Ala Gly Lys Ala
 305 310 315 320
 Leu Ser Asn Arg Asn Leu Ser Gln Ile Val Ser Tyr Gln Thr Arg Val
 325 330 335
 Pro Pro Leu Thr Pro Cys Pro Ala Pro Cys Phe Cys Lys Thr His Pro
 340 345 350
 Ser Asp Leu Gly Leu Ser Val Asn Cys Gln Glu Lys Asn Ile Gln Ser
 355 360 365
 Met Ser Glu Leu Ile Pro Lys Pro Leu Asn Ala Lys Lys Leu His Val
 370 375 380
 Asn Gly Asn Ser Ile Lys Asp Val Asp Val Ser Asp Phe Thr Asp Phe
 385 390 395 400
 Glu Gly Leu Asp Leu Leu His Leu Gly Ser Asn Gln Ile Thr Val Ile
 405 410 415
 Lys Gly Asp Val Phe His Asn Leu Thr Asn Leu Arg Arg Leu Tyr Leu
 420 425 430
 Asn Gly Asn Gln Ile Glu Arg Leu Tyr Pro Glu Ile Phe Ser Gly Leu
 435 440 445
 His Asn Leu Gln Tyr Leu Tyr Leu Glu Tyr Asn Leu Ile Lys Glu Ile
 450 455 460
 Ser Ala Gly Thr Phe Asp Ser Met Pro Asn Leu Gln Leu Leu Tyr Leu
 465 470 475 480
 Asn Asn Asn Leu Leu Lys Ser Leu Pro Val Tyr Ile Phe Ser Gly Ala
 485 490 495
 Pro Leu Ala Arg Leu Asn Leu Arg Asn Asn Lys Phe Met Tyr Leu Pro
 500 505 510

WO 02/20569

PCT/US01/28013

56

Val Ser Gly Val Leu Asp Gln Leu Gln Ser Leu Thr Gln Ile Asp Leu
515 520 525

Glu Gly Asn Pro Trp Asp Cys Thr Cys Asp Leu Val Ala Leu Lys Leu
530 535 540

Trp Val Glu Lys Leu Ser Asp Gly Ile Val Val Lys Glu Leu Lys Cys
545 550 555 560

Glu Thr Pro Val Gln Phe Ala Asn Ile Glu Leu Lys Ser Leu Lys Asn
565 570 575

Glu Ile Leu Cys Pro Lys Leu Leu Asn Lys Pro Ser Ala Pro Phe Thr
580 585 590

Ser Pro Ala Pro Ala Ile Thr Phe Thr Thr Pro Leu Gly Pro Ile Arg
595 600 605

Ser Pro Pro Gly Gly Pro Val Pro Leu Ser Ile Leu Ile Leu Ser Ile
610 615 620

Leu Val Val Leu Ile Leu Thr Val Phe Val Ala Phe Cys Leu Leu Val
625 630 635 640

Phe Val Leu Arg Arg Asn Lys Lys Pro Thr Val Lys His Glu Gly Leu
645 650 655

Gly Asn Pro Asp Cys Gly Ser Met Gln Leu Gln Leu Arg Lys His Asp
660 665 670

His Lys Thr Asn Lys Lys Asp Gly Leu Ser Thr Glu Ala Phe Ile Pro
675 680 685

Gln Thr Ile Glu Gln Met Ser Lys Ser His Thr Cys Gly Leu Lys Glu
690 695 700

Ser Glu Thr Gly Phe Met Phe Ser Asp Pro Pro Gly Gln Lys Val Val
705 710 715 720

Met Arg Asn Val Ala Asp Lys Glu Lys Asp Leu Leu His Val Asp Thr
725 730 735

Arg Lys Arg Leu Ser Thr Ile Asp Glu Leu Asp Glu Leu Phe Pro Ser
740 745 750

WO 02/20569

PCT/US01/28013

57

Arg Asp Ser Asn Val Phe Ile Gln Asn Phe Leu Glu Ser Lys Lys Glu
755 760 765

Tyr Asn Ser Ile Gly Val Ser Gly Phe Glu Ile Arg Tyr Pro Glu Lys
770 775 780

Gln Pro Asp Lys Lys Ser Lys Lys Ser Leu Ile Gly Gly Asn His Ser
785 790 795 800

Lys Ile Val Val Glu Gln Arg Lys Ser Glu Tyr Phe Glu Leu Lys Ala
805 810 815

Lys Leu Gln Ser Ser Pro Asp Tyr Leu Gln Val Leu Glu Glu Gln Thr
820 825 830

Ala Leu Asn Lys Ile
835

<210> 26

<211> 1694

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 26
tcactctatg aacagcacat ggtgagcccc atggttcattg tctatagaag tccatccttt 60
ggtccaaagc atctggaaga ggaagaagag aggaatgaga aagaagggaag tgatgcaaaa 120
catctccaaa gaagtctttt ggaacaggaa aatcattcac cactcacagg gtcaaataag 180
aaatacaaaa ccacgaacca atcaacagaa tttttatcct tccaagatgc cagctcattg 240
tacagaaaaca ttttagaaaa agaaaggga cttcagcaac tgggaatcac agaataccta 300
aggaaaaaca ttgctcagct ccagcctgat atggaggcac attatcctgg agcccacgaa 360
gagctgaagt taatggaac attaatgtac tcacgtccaa ggaaggattt agtgggaacag 420
acaaaaaatg agtattttga acttaagct aatttacatg ctgaacctga ctatttagaa 480
gtcctggagc agcaaacata gatggagagt ttgagggtt tcgcagaaat gctgtgattc 540
tgttttaagt coataccttg taaataagtg cottacgtga gtgtgtcatc aatcagaacc 600
taagcacagc agtaaaactat ggggaaaaaa aaagaagaag aaagaaaact cagggatcac 660

WO 02/20569

PCT/US01/28013

58

```

tgggagaagc catggcatta tcttcaggca atttagctctg tcccaataa aataaatcct 720
tgcattgtaaa tcattcaagg gttatagtaa tatttcatat actgaaaagt gtctcatagg 780
agtcctcttg cacatctaaa aaggctgaac atttaagtat cccgcaattt tcttgaattg 840
ctttccctat agattaatta caattggatt tcatacttta aaaaccatac ttgtatatgt 900
agttataata tgtaaggaat acattgttta taaccagtat gtacttcaa aatgtgtatt 960
gtcaaacata cctaacttct ttgcaataaa tgcaaaagaa actggaactt gacaattata 1020
aatagtaata gtgaagaaaa aatagaaagg ttgcaattat ataggccatg ggtggctcaa 1080
aactttgaac atttgagctt aaacaaatgc cactctcatg cattctaat taaaagttta 1140
aatgattaa tagttcaggt ggaagaaata agcatacttt ttgggttttc tacacatttt 1200
gtgtagacaa ttttaattgc agtgctgctg tgaactaaag tatgtcattt atgctcaag 1260
tttaattctt cttcttggga tttttaaaa atgctactga gattctgctg taaatagac 1320
tagagaatat attgggtttg ctttatttca taggcttaat tctttgtaa tctgaatgac 1380
cataatagaa atacatttct tgtggcaagt aattcacagt tgtaagtaa ataggaaaa 1440
ttattttatt tttattgatg tacattgata gatgccataa atcagtagca aaaggcaact 1500
ctaaaggtaa gtggtttaag ttgcctcaag agagggacaa tgtagcttta tttacaaga 1560
aggcatagtt agatttctat gaaatattta ttctgtacag ttttatatag ttttggttca 1620
caaaagtaat tattcttggg tgcccttcaa gaaaattaaa aatactactc actacaataa 1680
aactaaaatg aaaa 1694

```

<210> 27

<211> 841

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 27

```

Met Lys Leu Trp Ile His Leu Phe Tyr Ser Ser Leu Leu Ala Cys Ile
1           5           10           15

```

```

Ser Leu His Ser Gln Thr Pro Val Leu Ser Ser Arg Gly Ser Cys Asp
20           25           30

```

```

Ser Leu Cys Asn Cys Glu Glu Lys Asp Gly Thr Met Leu Ile Asn Cys
35           40           45

```

WO 02/20569

PCT/US01/28013

59

Glu Ala Lys Gly Ile Lys Met Val Ser Glu Ile Ser Val Pro Pro Ser
 50 55 60

Arg Pro Phe Gln Leu Ser Leu Leu Asn Asn Gly Leu Thr Met Leu His
 65 70 75 80

Thr Asn Asp Phe Ser Gly Leu Thr Asn Ala Ile Ser Ile His Leu Gly
 85 90 95

Phe Asn Asn Ile Ala Asp Ile Glu Ile Gly Ala Phe Asn Gly Leu Gly
 100 105 110

Leu Leu Lys Gln Leu His Ile Asn His Asn Ser Leu Glu Ile Leu Lys
 115 120 125

Glu Asp Thr Phe His Gly Leu Glu Asn Leu Glu Phe Leu Gln Ala Asp
 130 135 140

Asn Asn Phe Ile Thr Val Ile Glu Pro Ser Ala Phe Ser Lys Leu Asn
 145 150 155 160

Arg Leu Lys Val Leu Ile Leu Asn Asp Asn Ala Ile Glu Ser Leu Pro
 165 170 175

Pro Asn Ile Phe Arg Phe Val Pro Leu Thr His Leu Asp Leu Arg Gly
 180 185 190

Asn Gln Leu Gln Thr Leu Pro Tyr Val Gly Phe Leu Glu His Ile Gly
 195 200 205

Arg Ile Leu Asp Leu Gln Leu Glu Asp Asn Lys Trp Ala Cys Asn Cys
 210 215 220

Asp Leu Leu Gln Leu Lys Thr Trp Leu Glu Asn Met Pro Pro Gln Ser
 225 230 235 240

Ile Ile Gly Asp Val Val Cys Asn Ser Pro Pro Phe Phe Lys Gly Ser
 245 250 255

Ile Leu Ser Arg Leu Lys Lys Glu Ser Ile Cys Pro Thr Pro Pro Val
 260 265 270

Tyr Glu Glu His Glu Asp Pro Ser Gly Ser Leu His Leu Ala Ala Thr

WO 02/20569

PCT/US01/28013

60

275 280 285
 Ser Ser Ile Asn Asp Ser Arg Met Ser Thr Lys Thr Thr Ser Ile Leu
 290 295 300
 Lys Leu Pro Thr Lys Ala Pro Gly Leu Ile Pro Tyr Ile Thr Lys Pro
 305 310 315 320
 Ser Thr Gln Leu Pro Gly Pro Tyr Cys Pro Ile Pro Cys Asn Cys Lys
 325 330 335
 Val Leu Ser Pro Ser Gly Leu Leu Ile His Cys Gln Glu Arg Asn Ile
 340 345 350
 Glu Ser Leu Ser Asp Leu Arg Pro Pro Pro Gln Asn Pro Arg Lys Leu
 355 360 365
 Ile Leu Ala Gly Asn Ile Ile His Ser Leu Met Lys Ser Asp Leu Val
 370 375 380
 Glu Tyr Phe Thr Leu Glu Met Leu His Leu Gly Asn Asn Arg Ile Glu
 385 390 395 400
 Val Leu Glu Glu Gly Ser Phe Met Asn Leu Thr Arg Leu Gln Lys Leu
 405 410 415
 Tyr Leu Asn Gly Asn His Leu Thr Lys Leu Ser Lys Gly Met Phe Leu
 420 425 430
 Gly Leu His Asn Leu Glu Tyr Leu Tyr Leu Glu Tyr Asn Ala Ile Lys
 435 440 445
 Glu Ile Leu Pro Gly Thr Phe Asn Pro Met Pro Lys Leu Lys Val Leu
 450 455 460
 Tyr Leu Asn Asn Asn Leu Leu Gln Val Leu Pro Pro His Ile Phe Ser
 465 470 475 480
 Gly Val Pro Leu Thr Lys Val Asn Leu Lys Thr Asn Gln Phe Thr His
 485 490 495
 Leu Pro Val Ser Asn Ile Leu Asp Asp Leu Asp Leu Leu Thr Gln Ile
 500 505 510

WO 02/20569

PCT/US01/28013

61

Asp Leu Glu Asp Asn Pro Trp Asp Cys Ser Cys Asp Leu Val Gly Leu
 515 520 525
 Gln Gln Trp Ile Gln Lys Leu Ser Lys Asn Thr Val Thr Asp Asp Ile
 530 535 540
 Leu Cys Thr Ser Pro Gly His Leu Asp Lys Lys Glu Leu Lys Ala Leu
 545 550 555 560
 Asn Ser Glu Ile Leu Cys Pro Gly Leu Val Asn Asn Pro Ser Met Pro
 565 570 575
 Thr Gln Thr Ser Tyr Leu Met Val Thr Thr Pro Ala Thr Thr Thr Asn
 580 585 590
 Thr Ala Asp Thr Ile Leu Arg Ser Leu Thr Asp Ala Val Pro Leu Ser
 595 600 605
 Val Leu Ile Leu Gly Leu Leu Ile Met Phe Ile Thr Ile Val Phe Cys
 610 615 620
 Ala Ala Gly Ile Val Val Leu Val Leu His Arg Arg Arg Arg Tyr Lys
 625 630 635 640
 Lys Lys Gln Val Asp Glu Gln Met Arg Asp Asn Ser Pro Val His Leu
 645 650 655
 Gln Tyr Ser Met Tyr Gly His Lys Thr Thr His His Thr Thr Glu Arg
 660 665 670
 Pro Ser Ala Ser Leu Tyr Glu Gln His Met Val Ser Pro Met Val His
 675 680 685
 Val Tyr Arg Ser Pro Ser Phe Gly Pro Lys His Leu Glu Glu Glu Glu
 690 695 700
 Glu Arg Asn Glu Lys Glu Gly Ser Asp Ala Lys His Leu Gln Arg Ser
 705 710 715 720
 Leu Leu Glu Gln Glu Asn His Ser Pro Leu Thr Gly Ser Asn Met Lys
 725 730 735
 Tyr Lys Thr Thr Asn Gln Ser Thr Glu Phe Leu Ser Phe Gln Asp Ala
 740 745 750

WO 02/20569

PCT/US01/28013

62

Ser Ser Leu Tyr Arg Asn Ile Leu Glu Lys Glu Arg Glu Leu Gln Gln
 755 760 765

Leu Gly Ile Thr Glu Tyr Leu Arg Lys Asn Ile Ala Gln Leu Gln Pro
 770 775 780

Asp Met Glu Ala His Tyr Pro Gly Ala His Glu Glu Leu Lys Leu Met
 785 790 795 800

Glu Thr Leu Met Tyr Ser Arg Pro Arg Lys Val Leu Val Glu Gln Thr
 805 810 815

Lys Asn Glu Tyr Phe Glu Leu Lys Ala Asn Leu His Ala Glu Pro Asp
 820 825 830

Tyr Leu Glu Val Leu Glu Gln Gln Thr
 835 840

<210> 28

<211> 639

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(636)

<223>

<400> 28
 atg gtt tta ccc tca tat tca aaa tca gag gga ggg tca tta ttg gat 48
 Met Val Leu Pro Ser Tyr Ser Lys Ser Glu Gly Gly Ser Leu Leu Asp
 1 5 10 15

atc tac tgt tta ctc acg tat tgg atg gag gtg gtg ccc acc ctc ttg 96
 Ile Tyr Cys Leu Leu Thr Tyr Trp Met Glu Val Val Pro Thr Leu Leu
 20 25 30

gca gag aca aag att cca gcc act gat gtc gct gat gcc agc ctg aat 144
 Ala Glu Thr Lys Ile Pro Ala Thr Asp Val Ala Asp Ala Ser Leu Asn
 35 40 45

gaa tgt tcc agt acc gaa agg aaa caa gac gta gtg ttg ctg ttc gtg 192

WO 02/20569

PCT/US01/28013

63

Glu Cys Ser Ser Thr Glu Arg Lys Gln Asp Val Val Leu Leu Phe Val
 50 55 60
 acc ttg tcc cac aca cag cca cct ctg ttt cac ctg cct tat gtc cag 240
 Thr Leu Ser His Thr Gln Pro Pro Leu Phe His Leu Pro Tyr Val Gln
 65 70 75 80
 aaa ccc tta atc tct aat gtg gag cag ctg atc ctg ggg atc ccg ggc 288
 Lys Pro Leu Ile Ser Asn Val Glu Gln Leu Ile Leu Gly Ile Pro Gly
 85 90 95
 cag aat cgc cgg gag ata ggc cat ggc cag gat atc ttt cca gca gag 336
 Gln Asn Arg Arg Glu Ile Gly His Gly Gln Asp Ile Phe Pro Ala Glu
 100 105 110
 aag ctc tgc cat ctg cag gat cgc aag gtg aac ctt cac aga gct gcc 384
 Lys Leu Cys His Leu Gln Asp Arg Lys Val Asn Leu His Arg Ala Ala
 115 120 125
 tgg ggc gag tgt att gtt gca ccc aag act ctc agc ttc tct tac tgt 432
 Trp Gly Glu Cys Ile Val Ala Pro Lys Thr Leu Ser Phe Ser Tyr Cys
 130 135 140
 cag ggg acc tgc ccg gcc ctc aac agt gag ctc cgt cat tcc agc ttt 480
 Gln Gly Thr Cys Pro Ala Leu Asn Ser Glu Leu Arg His Ser Ser Phe
 145 150 155 160
 gag tgc tat aag agg gca gta cct acc tgt ccc tgg ctc ttc cag acc 528
 Glu Cys Tyr Lys Arg Ala Val Pro Thr Cys Pro Trp Leu Phe Gln Thr
 165 170 175
 tgc cgt ccc acc atg gtc aga ctc ttc tcc ctg atg gtc cag gat gac 576
 Cys Arg Pro Thr Met Val Arg Leu Phe Ser Leu Met Val Gln Asp Asp
 180 185 190
 gaa cac aag atg agt gtg cac tat gtg aac act tcc ttg gtg gag aag 624
 Glu His Lys Met Ser Val His Tyr Val Asn Thr Ser Leu Val Glu Lys
 195 200 205
 tgt ggc tgc tct tga 639
 Cys Gly Cys Ser
 210
 <210> 29
 <211> 212
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 29
 Met Val Leu Pro Ser Tyr Ser Lys Ser Glu Gly Gly Ser Leu Leu Asp
 1 5 10 15

WO 02/20569

PCT/US01/28013

64

Ile Tyr Cys Leu Leu Thr Tyr Trp Met Glu Val Val Pro Thr Leu Leu
 20 25 30
 Ala Glu Thr Lys Ile Pro Ala Thr Asp Val Ala Asp Ala Ser Leu Asn
 35 40 45
 Glu Cys Ser Ser Thr Glu Arg Lys Gln Asp Val Val Leu Leu Phe Val
 50 55 60
 Thr Leu Ser His Thr Gln Pro Pro Leu Phe His Leu Pro Tyr Val Gln
 65 70 75 80
 Lys Pro Leu Ile Ser Asn Val Glu Gln Leu Ile Leu Gly Ile Pro Gly
 85 90 95
 Gln Asn Arg Arg Glu Ile Gly His Gly Gln Asp Ile Phe Pro Ala Glu
 100 105 110
 Lys Leu Cys His Leu Gln Asp Arg Lys Val Asn Leu His Arg Ala Ala
 115 120 125
 Trp Gly Glu Cys Ile Val Ala Pro Lys Thr Leu Ser Phe Ser Tyr Cys
 130 135 140
 Gln Gly Thr Cys Pro Ala Leu Asn Ser Glu Leu Arg His Ser Ser Phe
 145 150 155 160
 Glu Cys Tyr Lys Arg Ala Val Pro Thr Cys Pro Trp Leu Phe Gln Thr
 165 170 175
 Cys Arg Pro Thr Met Val Arg Leu Phe Ser Leu Met Val Gln Asp Asp
 180 185 190
 Glu His Lys Met Ser Val His Tyr Val Asn Thr Ser Leu Val Glu Lys
 195 200 205
 Cys Gly Cys Ser
 210

<210> 30

<211> 1061

<212> DNA

WO 02/20569

PCT/US01/28013

65

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (204)..(860)

<223>

```

<400> 30
tggccaggcca gaggtctgtg gagtggagag gcgaggcctc acggtggaac tctcagatga 60
cagcatgcag gcaccaagag agtggacgca catacagaag acagccatgc actgagctgg 120
ggacatgcaa caataacagg tgagttccaa caaattgggt caaaaagagg ggggataaac 180
acgctggccc atgctgggca agc atg gca cca cct tcc agg cac tgt ctt ctt 233
          Met Ala Pro Pro Ser Arg His Cys Leu Leu
          1          5          10

ctg atc agc act ctg ggt gtc ttt gca ctt aac tgc ttc acc aaa ggt 281
Leu Ile Ser Thr Leu Gly Val Phe Ala Leu Asn Cys Phe Thr Lys Gly
          15          20          25

cag aag aac agc acg ctc atc ttc aca agg gaa aac acc att cgg aac 329
Gln Lys Asn Ser Thr Leu Ile Phe Thr Arg Glu Asn Thr Ile Arg Asn
          30          35          40

tgc agc tgt tct gcg gac atc cgg gat tgt gac tac agt ttg gcc aac 377
Cys Ser Cys Ser Ala Asp Ile Arg Asp Cys Asp Tyr Ser Leu Ala Asn
          45          50          55

ctg atg tgc aac tgt aaa acc gtc ctg ccc ctt gca gta gag cga acc 425
Leu Met Cys Asn Cys Lys Thr Val Leu Pro Leu Ala Val Glu Arg Thr
          60          65          70

agc tac aat ggc cat ctg acc atc tgg ttc acg gac aca tct gcg ctg 473
Ser Tyr Asn Gly His Leu Thr Ile Trp Phe Thr Asp Thr Ser Ala Leu
          75          80          85

ggc cac ctg ctg aac ttc acg ctg gtc caa gac ctg aag ctt tcc ctg 521
Gly His Leu Leu Asn Phe Thr Leu Val Gln Asp Leu Lys Leu Ser Leu
          95          100          105

tgc agc acc aac act ctc ccc act gaa tac ctg gct att tgt ggt ctg 569
Cys Ser Thr Asn Thr Leu Pro Thr Glu Tyr Leu Ala Ile Cys Gly Leu
          110          115          120

aag agg ctg cgc atc aac atg gag gcc aag cat ccc ttc cca gag cag 617
Lys Arg Leu Arg Ile Asn Met Glu Ala Lys His Pro Phe Pro Glu Gln
          125          130          135

agc tta ctc atc'cat agc ggt ggg gac agt gac tcc aga gag aag ccc 665
Ser Leu Leu Ile His Ser Gly Gly Asp Ser Asp Ser Arg Glu Lys Pro

```

WO 02/20569

PCT/US01/28013

66

```

140          145          150
atg tgg tta cac aaa ggc tgg cag cca tgt atg tat atc tca ttc tta 713
Met Trp Leu His Lys Gly Trp Gln Pro Cys Met Tyr Ile Ser Phe Leu
155          160          165          170
gat atg gct ctt ttc aac agg gac tca gcc tta aaa tca tat agt att 761
Asp Met Ala Leu Phe Asn Arg Asp Ser Ala Leu Lys Ser Tyr Ser Ile
175          180          185
gaa aac gtt acc agc att gcc aac aac ttt cct gac ttt tct tac ttt 809
Glu Asn Val Thr Ser Ile Ala Asn Asn Phe Pro Asp Phe Ser Tyr Phe
190          195          200
aga acc ttc cca atg cca agc aac aaa agc tat gtt gtc aca ttt att 857
Arg Thr Phe Pro Met Pro Ser Asn Lys Ser Tyr Val Val Thr Phe Ile
205          210          215
tac tagcataata actgtgtcca gctgcctgga actttggcaa atgatgaata 910
Tyr

atttgcagaa ggaatctgga aataaggccg tgagataggt atccctaccc acaactgtgc 970
ctctctccgc aggtctccatt tgcaacacag ccacacatac caataaccag ctctctgttc 1030
tgctctgtgc ccaactgcga gaacactttt g 1061

<210> 31
<211> 219
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 31
Met Ala Pro Pro Ser Arg His Cys Leu Leu Leu Ile Ser Thr Leu Gly
1          5          10          15
Val Phe Ala Leu Asn Cys Phe Thr Lys Gly Gln Lys Asn Ser Thr Leu
20          25          30
Ile Phe Thr Arg Glu Asn Thr Ile Arg Asn Cys Ser Cys Ser Ala Asp
35          40          45
Ile Arg Asp Cys Asp Tyr Ser Leu Ala Asn Leu Met Cys Asn Cys Lys
50          55          60
Thr Val Leu Pro Leu Ala Val Glu Arg Thr Ser Tyr Asn Gly His Leu
65          70          75          80

```

WO 02/20569

PCT/US01/28013

67

Thr Ile Trp Phe Thr Asp Thr Ser Ala Leu Gly His Leu Leu Asn Phe
85 90 95

Thr Leu Val Gln Asp Leu Lys Leu Ser Leu Cys Ser Thr Asn Thr Leu
100 105 110

Pro Thr Glu Tyr Leu Ala Ile Cys Gly Leu Lys Arg Leu Arg Ile Asn
115 120 125

Met Glu Ala Lys His Pro Phe Pro Glu Gln Ser Leu Leu Ile His Ser
130 135 140

Gly Gly Asp Ser Asp Ser Arg Glu Lys Pro Met Trp Leu His Lys Gly
145 150 155 160

Trp Gln Pro Cys Met Tyr Ile Ser Phe Leu Asp Met Ala Leu Phe Asn
165 170 175

Arg Asp Ser Ala Leu Lys Ser Tyr Ser Ile Glu Asn Val Thr Ser Ile
180 185 190

Ala Asn Asn Phe Pro Asp Phe Ser Tyr Phe Arg Thr Phe Pro Met Pro
195 200 205

Ser Asn Lys Ser Tyr Val Val Thr Phe Ile Tyr
210 215

<210> 32

<211> 921

<212> DNA

<213> Mus musculus

<220>

<221> CDS

<222> (255)..(890)

<223>

<400> 32

WO 02/20569

PCT/US01/28013

68

```

accagtgggtg acctcatgat ctccctgtca gttctgcctg tgaagggtcc caccatctct 60
aacatcacca cactggagcc tcagcttctg agacaggaac tcttacagat gagccacaga 120
ctagagcaag tttatgcgca ccacgggagc acatgctatc agtgctggcg gagagtttgg 180
gggtaaggag gtgacctaga atggactggc tcatgaggga gaaacaggaa cacaccagtc 240
catgctggac aaga atg aca tca cct tcc agc ttc tgc ctc ctt ctg ctc 290
          Met Thr Ser Pro Ser Ser Phe Cys Leu Leu Leu Leu
          1          5          10

caa gcg cta ggc atc gtt gcc ctt ggc cac ttc aca aaa gct cag aac 338
Gln Ala Leu Gly Ile Val Ala Leu Gly His Phe Thr Lys Ala Gln Asn
          15          20          25

aac aca ctg att ttc aca aaa gga aat acc att cgc aac tgc agc tgc 386
Asn Thr Leu Ile Phe Thr Lys Gly Asn Thr Ile Arg Asn Cys Ser Cys
          30          35          40

cca gta gac atc agg gac tgt gac tac agt ttg gct aac ttg ata tgc 434
Pro Val Asp Ile Arg Asp Cys Asp Tyr Ser Leu Ala Asn Leu Ile Cys
          45          50          55          60

agc tgt aag tct atc ctg cct tct gcc atg gag caa acc agc tat cat 482
Ser Cys Lys Ser Ile Leu Pro Ser Ala Met Glu Gln Thr Ser Tyr His
          65          70          75

ggc cat ctg acc atc tgg ttc aca gat ata tcc aca ttg ggc cac gtg 530
Gly His Leu Thr Ile Trp Phe Thr Asp Ile Ser Thr Leu Gly His Val
          80          85          90

ctg aag ttc act ctg gtc caa gac ttg aag ctt tcc cta tgt ggt tcc 578
Leu Lys Phe Thr Leu Val Gln Asp Leu Lys Leu Ser Leu Cys Gly Ser
          95          100          105

agc acc ttc ccc acc aag tac ctg gct atc tgt ggg ctg cag agg ctt 626
Ser Thr Phe Pro Thr Lys Tyr Leu Ala Ile Cys Gly Leu Gln Arg Leu
          110          115          120

cgc atc cat act aag gcc agg cat ccc tcc cgg ggg cag agt ttg ctc 674
Arg Ile His Thr Lys Ala Arg His Pro Ser Arg Gly Gln Ser Leu Leu
          125          130          135          140

atc cac agc aga agg gaa ggc agt tcc ttg tac aaa ggc tgg caa aca 722
Ile His Ser Arg Arg Glu Gly Ser Ser Leu Tyr Lys Gly Trp Gln Thr
          145          150          155

tgt atg ttc atc tca ttc tta gat gtg gct ctt ttc aac ggg gac tca 770
Cys Met Phe Ile Ser Phe Leu Asp Val Ala Leu Phe Asn Gly Asp Ser
          160          165          170

tct tta aag tca tac agt att gac aac att tct agc ctc gcc agt gac 818
Ser Leu Lys Ser Tyr Ser Ile Asp Asn Ile Ser Ser Leu Ala Ser Asp
          175          180          185

ttt cct gac ttt tct tac ttt aaa acg tcc cca atg cca agc aac aga 866
Phe Pro Asp Phe Ser Tyr Phe Lys Thr Ser Pro Met Pro Ser Asn Arg
          190          195          200

```

WO 02/20569

PCT/US01/28013

69

```

agc tat gtt gtc aca gtt att tac tagcaccctg tgccctcca ccaggaactc 920
Ser Tyr Val Val Thr Val Ile Tyr
205 210

t 921

<210> 33
<211> 212
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 33
Met Thr Ser Pro Ser Ser Phe Cys Leu Leu Leu Leu Gln Ala Leu Gly
1 5 10 15
Ile Val Ala Leu Gly His Phe Thr Lys Ala Gln Asn Asn Thr Leu Ile
20 25 30
Phe Thr Lys Gly Asn Thr Ile Arg Asn Cys Ser Cys Pro Val Asp Ile
35 40 45
Arg Asp Cys Asp Tyr Ser Leu Ala Asn Leu Ile Cys Ser Cys Lys Ser
50 55 60
Ile Leu Pro Ser Ala Met Glu Gln Thr Ser Tyr His Gly His Leu Thr
65 70 75 80
Ile Trp Phe Thr Asp Ile Ser Thr Leu Gly His Val Leu Lys Phe Thr
85 90 95
Leu Val Gln Asp Leu Lys Leu Ser Leu Cys Gly Ser Ser Thr Phe Pro
100 105 110
Thr Lys Tyr Leu Ala Ile Cys Gly Leu Gln Arg Leu Arg Ile His Thr
115 120 125
Lys Ala Arg His Pro Ser Arg Gly Gln Ser Leu Leu Ile His Ser Arg
130 135 140
Arg Glu Gly Ser Ser Leu Tyr Lys Gly Trp Gln Thr Cys Met Phe Ile
145 150 155 160

```

WO 02/20569

PCT/US01/28013

70

Ser Phe Leu Asp Val Ala Leu Phe Asn Gly Asp Ser Ser Leu Lys Ser
 165 170 175
 Tyr Ser Ile Asp Asn Ile Ser Ser Leu Ala Ser Asp Phe Pro Asp Phe
 180 185 190
 Ser Tyr Phe Lys Thr Ser Pro Met Pro Ser Asn Arg Ser Tyr Val Val
 195 200 205
 Thr Val Ile Tyr
 210
 <210> 34
 <211> 693
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(690)
 <223>
 <400> 34
 atg gcc tct ctt ggc ctc caa ctt gtg ggc tac atc cta ggc ctt ctg 48
 Met Ala Ser Leu Gly Leu Gln Leu Val Gly Tyr Ile Leu Gly Leu Leu
 1 5 10 15
 ggg ctt ttg ggc aca ctg gtt gcc atg ctg ctc ccc agc tgg aaa aca 96
 Gly Leu Leu Gly Thr Leu Val Ala Met Leu Leu Pro Ser Trp Lys Thr
 20 25 30
 agt tct tat gtc ggt gcc agc att gtg aca gca gtt ggc ttc tcc aag 144
 Ser Ser Tyr Val Gly Ala Ser Ile Val Thr Ala Val Gly Phe Ser Lys
 35 40 45
 ggc ctc tgg atg gaa tgt gcc aca cac agc aca ggc atc acc cag tgt 192
 Gly Leu Trp Met Glu Cys Ala Thr His Ser Thr Gly Ile Thr Gln Cys
 50 55 60
 gac atc tat agc acc ctt ctg ggc ctg ccc gct gac atc cag ggt gcc 240
 Asp Ile Tyr Ser Thr Leu Leu Gly Leu Pro Ala Asp Ile Gln Gly Ala
 65 70 75 80
 cag gcc atg atg gtg aca tcc agt gca atc tcc tcc ctg gcc tgc att 288

WO 02/20569

PCT/US01/28013

71

Gln Ala Met Met Val Thr Ser Ser Ala Ile Ser Ser Leu Ala Cys Ile
85 90 95
atc tct gtg gtg ggc atg aga tgc aca gtc ttc tgc cag gaa tcc cga 336
Ile Ser Val Val Gly Met Arg Cys Thr Val Phe Cys Gln Glu Ser Arg
100 105 110
gcc aaa gac aga gtg gcg gta gca ggt gga gtc ttt ttc atc ctt gga 384
Ala Lys Asp Arg Val Ala Val Ala Gly Gly Val Phe Phe Ile Leu Gly
115 120 125
ggc ctc ctg gga ttc att cct gtt gcc tgg aat ctt cat ggg atc cta 432
Gly Leu Leu Gly Phe Ile Pro Val Ala Trp Asn Leu His Gly Ile Leu
130 135 140
cgg gac ttc tac tca cca ctg gtg cct gac agc atg aaa ttt gag att 480
Arg Asp Phe Tyr Ser Pro Leu Val Pro Asp Ser Met Lys Phe Glu Ile
145 150 155 160
gga gag gct ctt tac ttg ggc att att tct tcc ctg ttc tcc ctg ata 528
Gly Glu Ala Leu Tyr Leu Gly Ile Ile Ser Ser Leu Phe Ser Leu Ile
165 170 175
gct gga atc atc ctc tgc ttt tcc tgc tca tcc cag aga aat cgc tcc 576
Ala Gly Ile Ile Leu Cys Phe Ser Cys Ser Ser Gln Arg Asn Arg Ser
180 185 190
aac tac tac gat gcc tac caa gcc caa cct ctt gcc aca agg agc tct 624
Asn Tyr Tyr Asp Ala Tyr Gln Ala Gln Pro Leu Ala Thr Arg Ser Ser
195 200 205
cca agg gct ggt caa cct ccc aaa gtc aag agt gag ttc aat tcc tac 672
Pro Arg Ala Gly Gln Pro Pro Lys Val Lys Ser Glu Phe Asn Ser Tyr
210 215 220
agc ctg aca ggg tat gtg tga 693
Ser Leu Thr Gly Tyr Val
225 230

<210> 35

<211> 230

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 35

Met Ala Ser Leu Gly Leu Gln Leu Val Gly Tyr Ile Leu Gly Leu Leu
1 5 10 15
Gly Leu Leu Gly Thr Leu Val Ala Met Leu Leu Pro Ser Trp Lys Thr
20 25 30

WO 02/20569

PCT/US01/28013

72

Ser Ser Tyr Val Gly Ala Ser Ile Val Thr Ala Val Gly Phe Ser Lys
 35 40 45
 Gly Leu Trp Met Glu Cys Ala Thr His Ser Thr Gly Ile Thr Gln Cys
 50 55 60
 Asp Ile Tyr Ser Thr Leu Leu Gly Leu Pro Ala Asp Ile Gln Gly Ala
 65 70 75 80
 Gln Ala Met Met Val Thr Ser Ser Ala Ile Ser Ser Leu Ala Cys Ile
 85 90 95
 Ile Ser Val Val Gly Met Arg Cys Thr Val Phe Cys Gln Glu Ser Arg
 100 105 110
 Ala Lys Asp Arg Val Ala Val Ala Gly Gly Val Phe Phe Ile Leu Gly
 115 120 125
 Gly Leu Leu Gly Phe Ile Pro Val Ala Trp Asn Leu His Gly Ile Leu
 130 135 140
 Arg Asp Phe Tyr Ser Pro Leu Val Pro Asp Ser Met Lys Phe Glu Ile
 145 150 155 160
 Gly Glu Ala Leu Tyr Leu Gly Ile Ile Ser Ser Leu Phe Ser Leu Ile
 165 170 175
 Ala Gly Ile Ile Leu Cys Phe Ser Cys Ser Ser Gln Arg Asn Arg Ser
 180 185 190
 Asn Tyr Tyr Asp Ala Tyr Gln Ala Gln Pro Leu Ala Thr Arg Ser Ser
 195 200 205
 Pro Arg Ala Gly Gln Pro Pro Lys Val Lys Ser Glu Phe Asn Ser Tyr
 210 215 220
 Ser Leu Thr Gly Tyr Val
 225 230

<210> 36

<211> 1002

<212> DNA

WO 02/20569

PCT/US01/28013

73

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature.

<222> (998)..(998)

<223> unknown amino

```
<400> 36
tgggttcoga gttcattact acaggaaaaa ctgttctctt ctgtggcaca gagaaccctg 60
cttcaaaagca gaagtagcag ttccggagtc cagctggcta aaactcatcc cagaggataa 120
tggcaaccca tgccctagaa atcgctgggc tgtttcttgg tgggtgttga atgggtggga 180
cagtggtgtg cactgtcatg cctcagtga gagtgtcggc cttcattgaa aacaacatcg 240
tggtttttga aaacttctgg gaaggactgt ggaatgaattg cgtgaggcag gctaacaatca 300
ggatgcagtg caaaatctat gattccctgc tggctcttcc tccggaccta caggoagcca 360
gaggactgat gtgtgctgct tccgtgatgt ccttcttggc ttcatgatg gccatccttg 420
gcatgaaatg caccaggtgc acgggggaca atgagaaggt gaaagctcac attctgctga 480
cggctggaat caatctcatc atcacgggca tgggtggggc caaccctgtg aacctggttt 540
ccaatgccat catcagagat ttttttacc caatagtga tgttgcccaa aaactgagc 600
ttggagaagc tctctactta ggaaggacca cggcactggt gctsatgtt ggaggagctc 660
tgttctgctg cgttttttgy tgcaacgaaa agagcagtag ctacagatac tcgatacctt 720
cccatcgcac aacccaaaaa agttatcaca ccggaagaa gtcacgagc gtctactcca 780
gaagtcagta tgtgtagttg tgtatgttt tttaacttta ctataaagcc atgcaaatga 840
caaaaatcta tattacttcc tcaaatgga ccccaagaa actttgattt actgttctta 900
actgccta attaattaca ggaactgtgc atcagctatt tatgattcta taagctatct 960
cagcagaatg agatattaaa tccaatgctt tgattgttct ag 1002
```

<210> 37

<211> 225

<212> PRT

<213> Homo sapiens

WO 02/20569

PCT/US01/28013

74

<400> 37

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

WO 02/20569

PCT/US01/28013

75

Val
225

<210> 38

<211> 833

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (159)..(830)

<223>

```

<400> 38
ccaagttcag tcacagctac tgatttggac taaaacgtta tgggcagcag ccaaggagaa 60
catcatcaaa gacttctcta gactcaaaag gcttccacgt tctacatctt gagcatcttc 120
taccactccg aattgaacca gtcttcaaag taaaggca atg gca ttt tat ccc ttg 176
                                     Met Ala Phe Tyr Pro Leu
                                     1 5
caa att gct ggg ctg gtt ctt ggg ttc ctt ggc atg gtg ggg act ctt 224
Gln Ile Ala Gly Leu Val Leu Gly Phe Leu Gly Met Val Gly Thr Leu
10 15 20
gcc aca acc ctt ctg cct cag tgg aga gta tca gct ttt gtt ggc agc 272
Ala Thr Thr Leu Leu Pro Gln Trp Arg Val Ser Ala Phe Val Gly Ser
25 30 35
aac att att gtc ttt gag agg ctc tgg gaa ggg ctc tgg atg aat tgc 320
Asn Ile Ile Val Phe Glu Arg Leu Trp Glu Gly Leu Trp Met Asn Cys
40 45 50
atc cga caa gcc agg gtc cgg ttg caa tgc aag ttc tat agc tcc ttg 368
Ile Arg Gln Ala Arg Val Arg Leu Gln Cys Lys Phe Tyr Ser Ser Leu
55 60 65 70
ttg gct ctc cag cct gcc ctg gaa aca gcc cgg gcc ctc atg tgt gtg 416
Leu Ala Leu Pro Pro Ala Leu Glu Thr Ala Arg Ala Leu Met Cys Val
75 80 85
gct gtt gct ctc tcc ttg atc gcc ctg ctt att ggc atc tgt ggc atg 464
Ala Val Ala Leu Ser Leu Ile Ala Leu Leu Ile Gly Ile Cys Gly Met
90 95 100
aag cag gtc cag tgc aca ggc tct aac gag agg gcc aaa gca tac ctt 512

```

WO 02/20569

PCT/US01/28013

76

Lys Gln Val Gln Cys Thr Gly Ser Asn Glu Arg Ala Lys Ala Tyr Leu
 105 110 115
 ctg gga act tca gga gtc ctc ttc atc ctg acg ggt atc ttc gtt ctg 560
 Leu Gly Thr Ser Gly Val Leu Phe Ile Leu Thr Gly Ile Phe Val Leu
 120 125 130
 att ccg gtg agc tgg aca gcc aat ata atc atc aga gat ttc tac aac 608
 Ile Pro Val Ser Trp Thr Ala Asn Ile Ile Ile Arg Asp Phe Tyr Asn
 135 140 145 150
 cca gcc atc cac ata ggt cag aaa cga gag ctg gga gca gca ctt ttc 656
 Pro Ala Ile His Ile Gly Gln Lys Arg Glu Leu Gly Ala Ala Leu Phe
 155 160 165
 ctt ggc tgg gca agc gct gct gtc ctc ttc att gga ggg ggt ctg ctt 704
 Leu Gly Trp Ala Ser Ala Ala Val Leu Phe Ile Gly Gly Gly Leu Leu
 170 175 180
 tgt gga ttt tgc tgc tgc aac aga aag aag caa ggg tac aga tat cca 752
 Cys Gly Phe Cys Cys Asn Arg Lys Lys Gln Gly Tyr Arg Tyr Pro
 185 190 195
 gtg cct ggc tac cgt gtg cca cac aca gat aag cga aga aat acg aca 800
 Val Pro Gly Tyr Arg Val Pro His Thr Asp Lys Arg Arg Asn Thr Thr
 200 205 210
 atg ctt agt aag acc tcc acc agt tat gtc taa 833
 Met Leu Ser Lys Thr Ser Thr Ser Tyr Val
 215 220

<210> 39

<211> 224

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 39

Met Ala Phe Tyr Pro Leu Gln Ile Ala Gly Leu Val Leu Gly Phe Leu
 1 5 10 15
 Gly Met Val Gly Thr Leu Ala Thr Thr Leu Leu Pro Gln Trp Arg Val
 20 25 30
 Ser Ala Phe Val Gly Ser Asn Ile Ile Val Phe Glu Arg Leu Trp Glu
 35 40 45
 Gly Leu Trp Met Asn Cys Ile Arg Gln Ala Arg Val Arg Leu Gln Cys
 50 55 60

WO 02/20569

PCT/US01/28013

77

Lys Phe Tyr Ser Ser Leu Leu Ala Leu Pro Pro Ala Leu Glu Thr Ala
65 70 75 80

Arg Ala Leu Met Cys Val Ala Val Ala Leu Ser Leu Ile Ala Leu Leu
85 90 95

Ile Gly Ile Cys Gly Met Lys Gln Val Gln Cys Thr Gly Ser Asn Glu
100 105 110

Arg Ala Lys Ala Tyr Leu Leu Gly Thr Ser Gly Val Leu Phe Ile Leu
115 120 125

Thr Gly Ile Phe Val Leu Ile Pro Val Ser Trp Thr Ala Asn Ile Ile
130 135 140

Ile Arg Asp Phe Tyr Asn Pro Ala Ile His Ile Gly Gln Lys Arg Glu
145 150 155 160

Leu Gly Ala Ala Leu Phe Leu Gly Trp Ala Ser Ala Ala Val Leu Phe
165 170 175

Ile Gly Gly Gly Leu Leu Cys Gly Phe Cys Cys Cys Asn Arg Lys Lys
180 185 190

Gln Gly Tyr Arg Tyr Pro Val Pro Gly Tyr Arg Val Pro His Thr Asp
195 200 205

Lys Arg Arg Asn Thr Thr Met Leu Ser Lys Thr Ser Thr Ser Tyr Val
210 215 220

<210> 40

<211> 393

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(390)

<223>

WO 02/20569

PCT/US01/28013

78

```

<400> 40
atg gcc gtg act gcc tgt cag gcc ttg ggg ttc gtg gtt tca ctg att      48
Met Ala Val Thr Ala Cys Gln Gly Leu Gly Phe Val Val Ser Leu Ile
1          5          10          15

ggg att gcg ggc atc att gct gcc acc tgc atg gcc cag tgg agc acc      96
Gly Ile Ala Gly Ile Ile Ala Ala Thr Cys Met Ala Gln Trp Ser Thr
          20          25          30

caa gac ttg tac aac aac ccc gta aca gct gtt ttc aac tac cag ggg      144
Gln Asp Leu Tyr Asn Asn Pro Val Thr Ala Val Phe Asn Tyr Gln Gly
          35          40          45

ctg tgg cgc tcc tgt gtc cga gag agc tct ggc ttc acc gag tgc cgg      192
Leu Trp Arg Ser Cys Val Arg Glu Ser Ser Gly Phe Thr Glu Cys Arg
          50          55          60

ggc tac ttc acc ctg ctg ggg ctg cca ggt aag ggc cag gtg tct ggc      240
Gly Tyr Phe Thr Leu Leu Gly Leu Pro Gly Lys Gly Gln Val Ser Gly
          65          70          75          80

tgg ctg gag gga gag att gga ggt gga gag gaa act gca ggc tct gtc      288
Trp Leu Glu Gly Glu Ile Gly Gly Gly Glu Glu Thr Ala Gly Ser Val
          85          90          95

tgg gca cca cga cag gga ctg ctg ggg agg gag gaa ctg cga ttc gtg      336
Trp Ala Pro Arg Gln Gly Leu Leu Gly Arg Glu Glu Leu Arg Phe Val
          100          105          110

ttt gac agg ggc aac agc cac ctg cac cag ggt gga ata gga gga cgg      384
Phe Asp Arg Gly Asn Ser His Leu His Gln Gly Gly Ile Gly Gly Arg
          115          120          125

gaa cct tag      393
Glu Pro
          130

<210> 41
<211> 130
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 41
Met Ala Val Thr Ala Cys Gln Gly Leu Gly Phe Val Val Ser Leu Ile
1          5          10          15

Gly Ile Ala Gly Ile Ile Ala Ala Thr Cys Met Ala Gln Trp Ser Thr
          20          25          30

```

WO 02/20569

PCT/US01/28013

79

Gln Asp Leu Tyr Asn Asn Pro Val Thr Ala Val Phe Asn Tyr Gln Gly
35 40 45

Leu Trp Arg Ser Cys Val Arg Glu Ser Ser Gly Phe Thr Glu Cys Arg
50 55 60

Gly Tyr Phe Thr Leu Leu Gly Leu Pro Gly Lys Gly Gln Val Ser Gly
65 70 75 80

Trp Leu Glu Gly Glu Ile Gly Gly Gly Glu Glu Thr Ala Gly Ser Val
85 90 95

Trp Ala Pro Arg Gln Gly Leu Leu Gly Arg Glu Glu Leu Arg Phe Val
100 105 110

Phe Asp Arg Gly Asn Ser His Leu His Gln Gly Gly Ile Gly Gly Arg
115 120 125

Glu Pro
130

<210> 42

<211> 2247

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<222> (742)..(742)

<223> unknown amino

<220>

<221> misc_feature

<222> (747)..(747)

<223> unknown amino

WO 02/20569

PCT/US01/28013

80

<220>
<221> misc_feature
<222> (793)..(793)
<223> unknown amino

<220>
<221> misc_feature
<222> (814)..(814)
<223> unknown amino

<220>
<221> misc_feature
<222> (828)..(828)
<223> unknown amino

<220>
<221> misc_feature
<222> (850)..(850)
<223> unknown amino

<220>
<221> misc_feature
<222> (906)..(906)
<223> unknown amino

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(2244)
<223>

WO 02/20569

PCT/US01/28013

81

```

<400> 42
atg gag gca aat cag tgc ccc ctg gtt gtg gaa cca tct tac cca gac 48
Met Glu Ala Asn Gln Cys Pro Leu Val Val Glu Pro Ser Tyr Pro Asp
1 5 10 15

ctg gtc atc aat gta gga gaa gtg act ctt gga gaa gaa aac aga aaa 96
Leu Val Ile Asn Val Gly Glu Val Thr Leu Gly Glu Glu Asn Arg Lys
20 25 30

aag ctg cag aaa att cag aga gac caa gag aag gag aga gtt atg cgg 144
Lys Leu Gln Lys Ile Gln Arg Asp Gln Glu Lys Glu Arg Val Met Arg
35 40 45

gct gca tgt gct tta tta aac tca gga gga gga gtg att cga atg gcc 192
Ala Ala Cys Ala Leu Leu Asn Ser Gly Gly Gly Val Ile Arg Met Ala
50 55 60

aag aag gtt gag cat ccc gtg gag atg gga ctg gat tta gaa cag tct 240
Lys Lys Val Glu His Pro Val Glu Met Gly Leu Asp Leu Glu Gln Ser
65 70 75 80

ttg aga gag ctt att cag tct tca gat ctg cag gct ttc ttt gag acc 288
Leu Arg Glu Leu Ile Gln Ser Ser Asp Leu Gln Ala Phe Phe Glu Thr
85 90 95

aag caa caa gga agg tgt ttt tac att ttt gtt aaa tct tgg agc agt 336
Lys Gln Gln Gly Arg Cys Phe Tyr Ile Phe Val Lys Ser Trp Ser Ser
100 105 110

ggc cct ttc cct gaa gat cgc tct gtc aag ccc cgc ett tgc agc ctc 384
Gly Pro Phe Pro Glu Asp Arg Ser Val Lys Pro Arg Leu Cys Ser Leu
115 120 125

agt tct tca tta tac cgt aga tct gag acc tct gtg cgt tcc atg gac 432
Ser Ser Ser Leu Tyr Arg Arg Ser Glu Thr Ser Val Arg Ser Met Asp
130 135 140

tca aga gag gca ttc tgt ttc ctg aag acc aaa agg aag cca aaa atc 480
Ser Arg Glu Ala Phe Cys Phe Leu Lys Thr Lys Arg Lys Pro Lys Ile
145 150 155 160

ttg gaa gaa gga cct ttt cac aaa att cac aag ggt gta tac caa gag 528
Leu Glu Glu Gly Pro Phe His Lys Ile His Lys Gly Val Tyr Gln Glu
165 170 175

ctc cct aac tcg gat cct gct gac cca aac tcg gat cct gct gac cta 576
Ala Pro Asn Ser Asp Pro Ala Asp Pro Asn Ser Asp Pro Ala Asp Leu
180 185 190

att ttc csa aaa gac tat ctt gaa tat ggt gaa atc ctg cct ttt cct 624
Ile Phe Gln Lys Asp Tyr Leu Glu Tyr Gly Glu Ile Leu Pro Phe Pro
195 200 205

gag tct cag tta gta gag ttt aaa cag ttc tct aca aaa cac ttc caa 672
Glu Ser Gln Leu Val Glu Phe Lys Gln Phe Ser Thr Lys His Phe Gln
210 215 220

```

WO 02/20569

PCT/US01/28013

82

gaa tat gta aaa agg aca att cca gaa tac gtc cct gca ttt gca aac Glu Tyr Val Lys Arg Thr Ile Pro Glu Tyr Val Pro Ala Phe Ala Asn 225 230 235 240	720
act gga gga ggc tat ctt ttt ntt ggn gtg gat gat aag agt agg gaa Thr Gly Gly Gly Tyr Leu Phe Xaa Gly Val Asp Asp Lys Ser Arg Glu 245 250 255	768
gtc ctg gga tgt gca aaa gaa aat ntt gac cct gac tct ttg aga ngg Val Leu Gly Cys Ala Lys Glu Asn Xaa Asp Pro Asp Ser Leu Arg Xaa 260 265 270	816
aaa ata gaa can gcc ata tac aaa cta cct tgt ntt cat ttt tgc caa Lys Ile Glu Thr Ala Ile Tyr Lys Leu Pro Cys Xaa His Phe Cys Gln 275 280 285	864
ccc caa cgc ccg ata acc ttc aca ctc aaa att gtg gat gtn tta aaa Pro Gln Arg Pro Ile Thr Phe Thr Leu Lys Ile Val Asp Val Leu Lys 290 295 300	912
agg gga gag ctc tat ggc tat gct tgc atg atc aga gta aat ccc ttc Arg Gly Glu Leu Tyr Gly Tyr Ala Cys Met Ile Arg Val Asn Pro Phe 305 310 315 320	960
tgc tgt gca gtg ttc tca gaa gct ccc aat tca tgg ata gtg gag gac Cys Cys Ala Val Phe Ser Ser Glu Ala Pro Asn Ser Trp Ile Val Glu Asp 325 330 335	1008
aag tac gtc tgc agc ctg aca acc gag aaa tgg gta ggc atg atg aca Lys Tyr Val Cys Ser Leu Thr Thr Glu Lys Trp Val Gly Met Met Thr 340 345 350	1056
gac aca gat cca gat ctt cta cag ttg tct gaa gat ttt gaa tgt cag Asp Thr Asp Pro Asp Leu Leu Gln Leu Ser Glu Asp Phe Glu Cys Gln 355 360 365	1104
ctg agt cta tct agt ggg cct ccc ctt agc aga cca gtg tac tcc aag Leu Ser Leu Ser Ser Gly Pro Pro Leu Ser Arg Pro Val Tyr Ser Lys 370 375 380	1152
aaa ggc ctg gaa cat aaa aag gaa ctc cag caa ctt tta ttt tca gtc Lys Gly Leu Glu His Lys Lys Glu Leu Gln Gln Leu Leu Phe Ser Val 385 390 395 400	1200
cca cca gga tat ttg cga tat act cca gag tca ctc tgg agg gac ctg Pro Pro Gly Tyr Leu Arg Tyr Thr Pro Glu Ser Leu Trp Arg Asp Leu 405 410 415	1248
atc tca gag cac aga gga cta gag gag tta ata aat aag caa atg caa Ile Ser Glu His Arg Gly Leu Glu Glu Leu Ile Asn Lys Gln Met Gln 420 425 430	1296
cct ttc ttt cgg gga att gtg atc ctc tct aga agc tgg gct gtg gac Pro Phe Phe Arg Gly Ile Val Ile Leu Ser Arg Ser Trp Ala Val Asp 435 440 445	1344
ctg aac ttg cag gag aag cca gga gtc atc tgt gat gct ctg ctg ata Leu Asn Leu Gln Glu Lys Pro Gly Val Ile Cys Asp Ala Leu Leu Ile 450 455 460	1392

WO 02/20569

PCT/US01/28013

83

gca cag aac agc acc ccc att ctc tac acc att ctc agg gag cag gat Ala Gln Asn Ser Thr Pro Ile Leu Tyr Thr Ile Leu Arg Glu Gln Asp 465 470 475 480	1440
gca gag ggc cag gac tac tgc act cgc acc gcc ttt act ttg aag cag Ala Glu Gly Gln Asp Tyr Cys Thr Arg Thr Ala Phe Thr Leu Lys Gln 485 490 495	1488
aag cta gtg aac atg ggg ggc tac acc ggg aag gtg tgt gtc agg gcc Lys Leu Val Asn Met Gly Gly Tyr Thr Gly Lys Val Cys Val Arg Ala 500 505 510	1536
aag gtc ctc tgc ctg agt cct gag agc agc gca gag gcc ttg gag gct Lys Val Leu Cys Leu Ser Pro Glu Ser Ser Ala Glu Ala Leu Glu Ala 515 520 525	1584
gca gtg tct cag atg gat tac cct gcg tcc tat agc ctt gca ggc acc Ala Val Ser Pro Met Asp Tyr Pro Ala Ser Tyr Ser Leu Ala Gly Thr 530 535 540	1632
cag cac atg gaa gcc ctg ctg cag tcc ctc gtg att gtc tta ctc ggc Gln His Met Glu Ala Leu Leu Gln Ser Leu Val Ile Val Leu Leu Gly 545 550 555 560	1680
ttc agg tct ctc ttg agt gac cag ctc ggc tgt gag gtt tta aat ctg Phe Arg Ser Leu Leu Ser Asp Gln Leu Gly Cys Glu Val Leu Asn Leu 565 570 575	1728
ctc aca gcc cag cag tat gag ata ttc tcc aga agc ctc cgc aag aac Leu Thr Ala Gln Gln Tyr Glu Ile Phe Ser Arg Ser Leu Arg Lys Asn 580 585 590	1776
aga gag ttg ttt gtc cac ggc tta cct ggc tca ggg aag acc atc atg Arg Glu Leu Phe Val His Gly Leu Pro Gly Ser Gly Lys Thr Ile Met 595 600 605	1824
gcc atg aag atc atg gag aag atc agg aat gtg ttt cac tgt gag gca Ala Met Lys Ile Met Glu Lys Ile Arg Asn Val Phe His Cys Glu Ala 610 615 620	1872
cac aga att ctc tac gtt tgt gaa aac cag cct ctg agg aac ttt atc His Arg Ile Leu Tyr Val Cys Glu Asn Gln Pro Leu Arg Asn Phe Ile 625 630 635 640	1920
agt gat aga aat atc tgc cga gca gag acc cgg aaa act ttc cta aga Ser Asp Arg Asn Ile Cys Arg Ala Glu Thr Arg Lys Thr Phe Leu Arg 645 650 655	1968
gaa aac ttt gaa cac att caa cac atc gtc att gac gaa gct cag aat Glu Asn Phe Glu His Ile Gln His Ile Val Ile Asp Glu Ala Gln Asn 660 665 670	2016
ttc cgt act gaa gat ggg gac tgg tat ggg aag gca aaa agc atc act Phe Arg Thr Glu Asp Gly Asp Trp Tyr Gly Lys Ala Lys Ser Ile Thr 675 680 685	2064
cgg aga gca aag ggt ggc cca gga att ctc tgg atc ttt ctg gat tac Arg Arg Ala Lys Gly Gly Pro Gly Ile Leu Trp Ile Phe Leu Asp Tyr 690 695 700	2112

WO 02/20569

PCT/US01/28013

84

```

        690              695              700
ttt cag acc agc cac ttg gat tgc agt ggc ctc cct cct ctc tca gac 2160
Phe Gln Thr Ser His Leu Asp Cys Ser Gly Leu Pro Pro Leu Ser Asp
705              710              715              720
caa tat cca aga gaa gag ctc acc aga ata gtt cgc aat gca gat cca 2208
Gln Tyr Pro Arg Glu Glu Leu Thr Arg Ile Val Arg Asn Ala Asp Pro
725              730              735
ata gcc aag tac tta caa aaa gaa aat gca agt aat tag 2247
Ile Ala Lys Tyr Leu Gln Lys Glu Asn Ala Ser Asn
740              745

```

<210> 43

<211> 748

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<222> (248)..(248)

<223> The 'Xaa' at location 248 stands for Ile, Val, Leu, or Phe.

<220>

<221> misc_feature

<222> (265)..(265)

<223> The 'Xaa' at location 265 stands for Ile, Val, Leu, or Phe.

<220>

<221> misc_feature

<222> (272)..(272)

<223> The 'Xaa' at location 272 stands for Arg, Gly, or Trp.

<220>

<221> misc_feature

<222> (284)..(284)

<223> The 'Xaa' at location 284 stands for Ile, Val, Leu, or Phe.

<220>

WO 02/20569

PCT/US01/28013

85

<221> misc_feature

<222> (742)..(742)

<223> unknown amino

<220>

<221> misc_feature

<222> (747)..(747)

<223> unknown amino

<220>

<221> misc_feature

<222> (793)..(793)

<223> unknown amino

<220>

<221> misc_feature

<222> (814)..(814)

<223> unknown amino

<220>

<221> misc_feature

<222> (828)..(828)

<223> unknown amino

<220>

<221> misc_feature

<222> (850)..(850)

<223> unknown amino

<220>

<221> misc_feature

<222> (906)..(906)

<223> unknown amino

<400> 43

Met Glu Ala Asn Gln Cys Pro Leu Val Val Glu Pro Ser Tyr Pro Asp
1 5 10 15

WO 02/20569

PCT/US01/28013

86

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

WO 02/20569

PCT/US01/28013

87

Val Leu Gly Cys Ala Lys Glu Asn Xaa Asp Pro Asp Ser Leu Arg Xaa
260 265 270

Lys Ile Glu Thr Ala Ile Tyr Lys Leu Pro Cys Xaa His Phe Cys Gln
275 280 285

Pro Gln Arg Pro Ile Thr Phe Thr Leu Lys Ile Val Asp Val Leu Lys
290 295 300

Arg Gly Glu Leu Tyr Gly Tyr Ala Cys Met Ile Arg Val Asn Pro Phe
305 310 315 320

Cys Cys Ala Val Phe Ser Glu Ala Pro Asn Ser Trp Ile Val Glu Asp
325 330 335

Lys Tyr Val Cys Ser Leu Thr Thr Glu Lys Trp Val Gly Met Met Thr
340 345 350

Asp Thr Asp Pro Asp Leu Leu Gln Leu Ser Glu Asp Phe Glu Cys Gln
355 360 365

Leu Ser Leu Ser Ser Gly Pro Pro Leu Ser Arg Pro Val Tyr Ser Lys
370 375 380

Lys Gly Leu Glu His Lys Lys Glu Leu Gln Gln Leu Leu Phe Ser Val
385 390 395 400

Pro Pro Gly Tyr Leu Arg Tyr Thr Pro Glu Ser Leu Trp Arg Asp Leu
405 410 415

Ile Ser Glu His Arg Gly Leu Glu Glu Leu Ile Asn Lys Gln Met Gln
420 425 430

Pro Phe Phe Arg Gly Ile Val Ile Leu Ser Arg Ser Trp Ala Val Asp
435 440 445

Leu Asn Leu Gln Glu Lys Pro Gly Val Ile Cys Asp Ala Leu Leu Ile
450 455 460

Ala Gln Asn Ser Thr Pro Ile Leu Tyr Thr Ile Leu Arg Glu Gln Asp
465 470 475 480

Ala Glu Gly Gln Asp Tyr Cys Thr Arg Thr Ala Phe Thr Leu Lys Gln

WO 02/20569

PCT/US01/28013

88

485

490

495

Lys Leu Val Asn Met Gly Gly Tyr Thr Gly Lys Val Cys Val Arg Ala
 500 505 510
 Lys Val Leu Cys Leu Ser Pro Glu Ser Ser Ala Glu Ala Leu Glu Ala
 515 520 525
 Ala Val Ser Pro Met Asp Tyr Pro Ala Ser Tyr Ser Leu Ala Gly Thr
 530 535 540
 Gln His Met Glu Ala Leu Leu Gln Ser Leu Val Ile Val Leu Leu Gly
 545 550 555 560
 Phe Arg Ser Leu Leu Ser Asp Gln Leu Gly Cys Glu Val Leu Asn Leu
 565 570 575
 Leu Thr Ala Gln Gln Tyr Glu Ile Phe Ser Arg Ser Leu Arg Lys Asn
 580 585 590
 Arg Glu Leu Phe Val His Gly Leu Pro Gly Ser Gly Lys Thr Ile Met
 595 600 605
 Ala Met Lys Ile Met Glu Lys Ile Arg Asn Val Phe His Cys Glu Ala
 610 615 620
 His Arg Ile Leu Tyr Val Cys Glu Asn Gln Pro Leu Arg Asn Phe Ile
 625 630 635 640
 Ser Asp Arg Asn Ile Cys Arg Ala Glu Thr Arg Lys Thr Phe Leu Arg
 645 650 655
 Glu Asn Phe Glu His Ile Gln His Ile Val Ile Asp Glu Ala Gln Asn
 660 665 670
 Phe Arg Thr Glu Asp Gly Asp Trp Tyr Gly Lys Ala Lys Ser Ile Thr
 675 680 685
 Arg Arg Ala Lys Gly Gly Pro Gly Ile Leu Trp Ile Phe Leu Asp Tyr
 690 695 700
 Phe Gln Thr Ser His Leu Asp Cys Ser Gly Leu Pro Pro Leu Ser Asp
 705 710 715 720

WO 02/20569

PCT/US01/28013

89

Gln Tyr Pro Arg Glu Glu Leu Thr Arg Ile Val Arg Asn Ala Asp Pro
 725 730 735

Ile Ala Lys Tyr Leu Gln Lys Glu Asn Ala Ser Asn
 740 745

<210> 44

<211> 2676

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(2673)

<223>

<400> 44
 atg agt ctt agg att gat gtg gat aca aac ttt cct gag tgt gtt gta 48
 Met Ser Leu Arg Ile Asp Val Asp Thr Asn Phe Pro Glu Cys Val Val
 1 5 10 15
 gat gca gga aaa gtc acc ctt ggg act cag cag agg cag gag atg gac 96
 Asp Ala Gly Lys Val Thr Leu Gly Thr Gln Gln Arg Gln Glu Met Asp
 20 25 30
 cct cgc ctg cgg gag aaa cag aat gaa atc atc ctg cga gca gta tgt 144
 Pro Arg Leu Arg Glu Lys Gln Asn Glu Ile Ile Leu Arg Ala Val Cys
 35 40 45
 gct ctg ctg aat tct ggt ggg ggc ata atc aag gct gag att gag aac 192
 Ala Leu Leu Asn Ser Gly Gly Gly Ile Ile Lys Ala Glu Ile Glu Asn
 50 55 60
 aaa ggc tac aat tat gaa cgt cat gga gta gga ttg gat gtg cct cca 240
 Lys Gly Tyr Asn Tyr Glu Arg His Gly Val Gly Leu Asp Val Pro Pro
 65 70 75 80
 att ttc aga agc cat tta gat aag atg cag aag gaa aac cac ttt ttg 288
 Ile Phe Arg Ser His Leu Asp Lys Met Gln Lys Glu Asn His Phe Leu
 85 90 95
 att ttt gtg aaa tca tgg aac aca gag gct ggt gtg cca ctt gct acc 336
 Ile Phe Val Lys Ser Trp Asn Thr Glu Ala Gly Val Pro Leu Ala Thr
 100 105 110
 tta tgc tcc aat ttg tac cac aga gag aga aca tcc acc gat gtc atg 384
 Leu Cys Ser Asn Leu Tyr His Arg Glu Arg Thr Ser Thr Asp Val Met

WO 02/20569

PCT/US01/28013

90

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

WO 02/20569

PCT/US01/28013

91

Ser Ala Thr Pro Arg Ser Lys Pro Val Cys Ile His Lys Asn Ser Glu	
355 360 365	
tgt ctg aaa gag cag cag aaa cgc tac ttt cca gta ttt tca gac aga	1152
Cys Leu Lys Glu Gln Gln Lys Arg Tyr Phe Pro Val Phe Ser Asp Arg	
370 375 380	
gtg gta tat act cca gaa agc ctc tac aag gaa ctc ttc tca caa cat	1200
Val Val Tyr Thr Pro Glu Ser Leu Tyr Lys Glu Leu Phe Ser Gln His	
385 390 395 400	
aaa gga ctc aga gac tta ata aat aca gaa atg cgc cct ttc tct caa	1248
Lys Gly Leu Arg Asp Leu Ile Asn Thr Glu Met Arg Pro Phe Ser Gln	
405 410 415	
gga ata ttg att ttt tct caa agc tgg gct gtg gat tta ggt ctg caa	1296
Gly Ile Leu Ile Phe Ser Gln Ser Trp Ala Val Asp Leu Gly Leu Gln	
420 425 430	
gag aag cag gga gtc atc tgt gat gct ctt cta att tcc cag aac aac	1344
Glu Lys Gln Gly Val Ile Cys Asp Ala Leu Leu Ile Ser Gln Asn Asn	
435 440 445	
acc cct att ctc tac acc atc ttc agc aag tgg gat gcg ggg tgc aag	1392
Thr Pro Ile Leu Tyr Thr Ile Phe Ser Lys Trp Asp Ala Gly Cys Lys	
450 455 460	
ggc tat tct atg ata gtt gcc tat tct ttg aag cag aag ctg gtg aac	1440
Gly Tyr Ser Met Ile Val Ala Tyr Ser Leu Lys Gln Lys Leu Val Asn	
465 470 475 480	
aaa ggc ggc tac act ggg agg tta tgc atc acc ccc ttg gtc tgt gtg	1488
Lys Gly Gly Tyr Thr Gly Arg Leu Cys Ile Thr Pro Leu Val Cys Val	
485 490 495	
ctg aat tct gat aga aaa gca cag agc gtt tac agt tct tat tta caa	1536
Leu Asn Ser Asp Arg Lys Ala Gln Ser Val Tyr Ser Ser Tyr Leu Gln	
500 505 510	
att tac cct gaa tcc tat aac ttc atg acc ccc cag cac atg gaa gcc	1584
Ile Tyr Pro Glu Ser Tyr Asn Phe Met Thr Pro Gln His Met Glu Ala	
515 520 525	
ctg tta cag tcc ctc gtg ata gtc ttg ctt ggg ttc aaa tcc ttc tta	1632
Leu Leu Gln Ser Leu Val Ile Val Leu Leu Gly Phe Lys Ser Phe Leu	
530 535 540	
agt gaa gag ctg ggc tct gag gtt ttg aac cta ctg aca aat aaa cag	1680
Ser Glu Glu Leu Gly Ser Glu Val Leu Asn Leu Leu Thr Asn Lys Gln	
545 550 555 560	
tat gag ttg ctt tca aag aac ctt cgc aag acc aga gag ttg ttt gtt	1728
Tyr Glu Leu Leu Ser Lys Asn Leu Arg Lys Thr Arg Glu Leu Phe Val	
565 570 575	
cat ggc tta cct gga tca ggg aag act atc ttg gct ctt agg atc atg	1776
His Gly Leu Pro Glu Ser Gly Lys Thr Ile Leu Ala Leu Arg Ile Met	
580 585 590	

WO 02/20569

PCT/US01/28013

92

gag aag atc agg aat gtg ttt cac tgt gaa ccg gct aac att ctc tac Glu Lys Ile Arg Asn Val Phe His Cys Glu Pro Ala Asn Ile Leu Tyr 595 600 605	1824
atc tgt gaa aac cag ccc ctg aag aag ttg gtg agt ttc agc aag aaa Ile Cys Glu Asn Gln Pro Leu Lys Lys Leu Val Ser Phe Ser Lys Lys 610 615 620	1872
aac atc tgc cag cca gtg acc cgg aaa acc ttc atg aaa aac aac ttt Asn Ile Cys Gln Pro Val Thr Arg Lys Thr Met Lys Asn Asn Phe 625 630 635 640	1920
gaa cac atc cag cac att atc att gat gac gct cag aat ttc cgt act Glu His Ile Gln His Ile Ile Ile Asp Asp Ala Gln Asn Phe Arg Thr 645 650 655	1968
gaa gat ggg gac tgg tat ggg aaa gca aag ttc atc act cga cag caa Glu Asp Gly Asp Trp Tyr Gly Lys Ala Lys Phe Ile Thr Arg Gln Gln 660 665 670	2016
agg gat ggc cca gga gtt ctc tgg atc ttt ctg gac tac ttt cag acc Arg Asp Gly Pro Gly Val Leu Trp Ile Phe Leu Asp Tyr Phe Gln Thr 675 680 685	2064
tat cac ttg agt tgc agt ggc ctc ccc cct ccc tca gac cag tat cca Tyr His Leu Ser Cys Ser Gly Leu Pro Pro Pro Ser Asp Gln Tyr Pro 690 695 700	2112
aga gaa gag atc aac aga gtg gtc cgc aat gca ggt cca ata gct aat Arg Glu Glu Ile Asn Arg Val Val Arg Asn Ala Gly Pro Ile Ala Asn 705 710 715 720	2160
tac cta caa caa gta atg cag gaa gcc cga caa aat cct cca cct aac Tyr Leu Gln Gln Val Met Gln Glu Ala Arg Gln Asn Pro Pro Pro Asn 725 730 735	2208
ctc ccc cct ggg tcc ctg gtg atg ctc tat gaa cct aaa tgg gct caa Leu Pro Pro Gly Ser Leu Val Met Leu Tyr Glu Pro Lys Trp Ala Gln 740 745 750	2256
ggt gtc cca ggc aac tta gag att att gaa gac ttg aac ttg gag gag Gly Val Pro Gly Asn Leu Glu Ile Ile Glu Asp Leu Asn Leu Glu Glu 755 760 765	2304
ata ctg atc tat gta gcg aat aaa tgc cgt ttt ctc ttg cgg aat ggt Ile Leu Ile Tyr Val Ala Asn Lys Cys Arg Phe Leu Leu Arg Asn Gly 770 775 780	2352
tat tct ccg aag gat att gct gtg ctt ttc acc aaa gca agt gaa gtg Tyr Ser Pro Lys Asp Ile Ala Val Leu Phe Thr Lys Ala Ser Glu Val 785 790 795 800	2400
gaa aaa tat aaa gac agg ctt cta aca gca atg agg aag aga aaa ctg Glu Lys Tyr Lys Asp Arg Leu Leu Thr Ala Met Arg Lys Arg Lys Leu 805 810 815	2448
tct cag ctc cat gag gag tct gat ctg tta cta cag atc ggt gat gcg Ser Gln Leu His Glu Glu Ser Asp Leu Leu Leu Gln Ile Gly Asp Ala 820 825 830	2496

WO 02/20569

PCT/US01/28013

93

```

tcg gat gtt cta acc gat cac att gtg ttg gac agt gtc tgt cga ttt      2544
Ser Asp Val Leu Thr Asp His Ile Val Leu Asp Ser Val Cys Arg Phe
      835                      840                      845

tca ggc ctg gaa aga aat atc gtg ttt gga atc aat cca gga gta gcc      2592
Ser Gly Leu Glu Arg Asn Ile Val Phe Gly Ile Asn Pro Gly Val Ala
      850                      855                      860

cca ccg gct ggg gcc tac aat ctt ctg ctc tgt ttg gct tct agg gca      2640
Pro Pro Ala Gly Ala Tyr Asn Leu Leu Leu Cys Leu Ala Ser Arg Ala
      865                      870                      875                      880

aaa aga cat ctg tat att ctg aag gct tct gtg tga                      2676
Lys Arg His Leu Tyr Ile Leu Lys Ala Ser Val
      885                      890

```

<210> 45

<211> 891

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 45

```

Met Ser Leu Arg Ile Asp Val Asp Thr Asn Phe Pro Glu Cys Val Val
1          5          10          15

Asp Ala Gly Lys Val Thr Leu Gly Thr Gln Gln Arg Gln Glu Met Asp
20          25          30

Pro Arg Leu Arg Glu Lys Gln Asn Glu Ile Ile Leu Arg Ala Val Cys
35          40          45

Ala Leu Leu Asn Ser Gly Gly Gly Ile Ile Lys Ala Glu Ile Glu Asn
50          55          60

Lys Gly Tyr Asn Tyr Glu Arg His Gly Val Gly Leu Asp Val Pro Pro
65          70          75          80

Ile Phe Arg Ser His Leu Asp Lys Met Gln Lys Glu Asn His Phe Leu
85          90          95

Ile Phe Val Lys Ser Trp Asn Thr Glu Ala Gly Val Pro Leu Ala Thr
100         105         110

Leu Cys Ser Asn Leu Tyr His Arg Glu Arg Thr Ser Thr Asp Val Met

```

WO 02/20569

PCT/US01/28013

94

115 120 125
 Asp Ser Gln Glu Ala Leu Ala Phe Leu Lys Cys Arg Thr Gln Thr Pro
 130 135 140
 Thr Asn Ile Asn Val Ser Asn Ser Leu Gly Pro Gln Ala Ala Gln Gly
 145 150 155 160
 Ser Val Gln Tyr Glu Gly Asn Ile Asn Val Ser Ala Ala Leu Phe
 165 170 175
 Asp Arg Lys Arg Leu Gln Tyr Leu Glu Lys Leu Asn Leu Pro Glu Ser
 180 185 190
 Thr His Val Glu Phe Val Met Phe Ser Thr Asp Val Ser His Cys Val
 195 200 205
 Lys Asp Arg Leu Pro Lys Cys Val Ser Ala Phe Ala Asn Thr Glu Gly
 210 215 220
 Gly Tyr Val Phe Phe Gly Val His Asp Glu Thr Cys Gln Val Ile Gly
 225 230 235 240
 Cys Glu Lys Glu Lys Ile Asp Leu Thr Ser Leu Arg Ala Ser Ile Asp
 245 250 255
 Gly Cys Ile Lys Lys Leu Pro Val His His Phe Cys Thr Gln Arg Pro
 260 265 270
 Glu Ile Lys Tyr Val Leu Asn Phe Leu Glu Val His Asp Lys Gly Ala
 275 280 285
 Leu Arg Gly Tyr Val Cys Ala Ile Lys Val Glu Lys Phe Cys Cys Ala
 290 295 300
 Val Phe Ala Lys Val Pro Ser Ser Trp Gln Val Lys Asp Asn Arg Val
 305 310 315 320
 Arg Gln Leu Pro Thr Arg Glu Trp Thr Ala Trp Met Met Glu Ala Asp
 325 330 335
 Pro Asp Leu Ser Arg Cys Pro Glu Met Val Leu Gln Leu Ser Leu Ser
 340 345 350

WO 02/20569

PCT/US01/28013

95

Ser Ala Thr Pro Arg Ser Lys Pro Val Cys Ile His Lys Asn Ser Glu
355 360 365

Cys Leu Lys Glu Gln Gln Lys Arg Tyr Phe Pro Val Phe Ser Asp Arg
370 375 380

Val Val Tyr Thr Pro Glu Ser Leu Tyr Lys Glu Leu Phe Ser Gln His
385 390 395 400

Lys Gly Leu Arg Asp Leu Ile Asn Thr Glu Met Arg Pro Phe Ser Gln
405 410 415

Gly Ile Leu Ile Phe Ser Gln Ser Trp Ala Val Asp Leu Gly Leu Gln
420 425 430

Glu Lys Gln Gly Val Ile Cys Asp Ala Leu Leu Ile Ser Gln Asn Asn
435 440 445

Thr Pro Ile Leu Tyr Thr Ile Phe Ser Lys Trp Asp Ala Gly Cys Lys
450 455 460

Gly Tyr Ser Met Ile Val Ala Tyr Ser Leu Lys Gln Lys Leu Val Asn
465 470 475 480

Lys Gly Gly Tyr Thr Gly Arg Leu Cys Ile Thr Pro Leu Val Cys Val
485 490 495

Leu Asn Ser Asp Arg Lys Ala Gln Ser Val Tyr Ser Ser Tyr Leu Gln
500 505 510

Ile Tyr Pro Glu Ser Tyr Asn Phe Met Thr Pro Gln His Met Glu Ala
515 520 525

Leu Leu Gln Ser Leu Val Ile Val Leu Leu Gly Phe Lys Ser Phe Leu
530 535 540

Ser Glu Glu Leu Gly Ser Glu Val Leu Asn Leu Leu Thr Asn Lys Gln
545 550 555 560

Tyr Glu Leu Leu Ser Lys Asn Leu Arg Lys Thr Arg Glu Leu Phe Val
565 570 575

His Gly Leu Pro Gly Ser Gly Lys Thr Ile Leu Ala Leu Arg Ile Met
580 585 590

WO 02/20569

PCT/US01/28013

96

Glu Lys Ile Arg Asn Val Phe His Cys Glu Pro Ala Asn Ile Leu Tyr
 595 600 605
 Ile Cys Glu Asn Gln Pro Leu Lys Lys Leu Val Ser Phe Ser Lys Lys
 610 615 620
 Asn Ile Cys Gln Pro Val Thr Arg Lys Thr Phe Met Lys Asn Asn Phe
 625 630 635 640
 Glu His Ile Gln His Ile Ile Ile Asp Asp Ala Gln Asn Phe Arg Thr
 645 650 655
 Glu Asp Gly Asp Trp Tyr Gly Lys Ala Lys Phe Ile Thr Arg Gln Gln
 660 665 670
 Arg Asp Gly Pro Gly Val Leu Trp Ile Phe Leu Asp Tyr Phe Gln Thr
 675 680 685
 Tyr His Leu Ser Cys Ser Gly Leu Pro Pro Pro Ser Asp Gln Tyr Pro
 690 695 700
 Arg Glu Glu Ile Asn Arg Val Val Arg Asn Ala Gly Pro Ile Ala Asn
 705 710 715 720
 Tyr Leu Gln Gln Val Met Gln Glu Ala Arg Gln Asn Pro Pro Pro Asn
 725 730 735
 Leu Pro Pro Gly Ser Leu Val Met Leu Tyr Glu Pro Lys Trp Ala Gln
 740 745 750
 Gly Val Pro Gly Asn Leu Glu Ile Ile Glu Asp Leu Asn Leu Glu Glu
 755 760 765
 Ile Leu Ile Tyr Val Ala Asn Lys Cys Arg Phe Leu Leu Arg Asn Gly
 770 775 780
 Tyr Ser Pro Lys Asp Ile Ala Val Leu Phe Thr Lys Ala Ser Glu Val
 785 790 795 800
 Glu Lys Tyr Lys Asp Arg Leu Leu Thr Ala Met Arg Lys Arg Lys Leu
 805 810 815
 Ser Gln Leu His Glu Glu Ser Asp Leu Leu Leu Gln Ile Gly Asp Ala
 820 825 830

WO 02/20569

PCT/US01/28013

97

Ser Asp Val Leu Thr Asp His Ile Val Leu Asp Ser Val Cys Arg Phe
835 840 845

Ser Gly Leu Glu Arg Asn Ile Val Phe Gly Ile Asn Pro Gly Val Ala
850 855 860

Pro Pro Ala Gly Ala Tyr Asn Leu Leu Leu Cys Leu Ala Ser Arg Ala
865 870 875 880

Lys Arg His Leu Tyr Ile Leu Lys Ala Ser Val
885 890

<210> 46

<211> 1737

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1734)

<223>

<400> 46
atg aac atc agt gtt gat ttg gaa acg aat tat gcc gag ttg gtt cta 48
Met Asn Ile Ser Val Asp Leu Glu Thr Asn Tyr Ala Glu Leu Val Leu
1 5 10 15
gat gtg gga aga gtc act ctt gga gag aac agt agg aaa aaa atg aag 96
Asp Val Gly Arg Val Thr Leu Gly Glu Asn Ser Arg Lys Lys Met Lys
20 25 30
gat tgt aaa ctg aga aaa aag cag aat gaa agg gtc tca cga gct atg 144
Asp Cys Lys Leu Arg Lys Lys Gln Asn Glu Arg Val Ser Arg Ala Met
35 40 45
tgt gct ctg ctg aat tct gga ggg gga gtg atc aag gct gaa att gag 192
Cys Ala Leu Leu Asn Ser Gly Gly Gly Val Ile Lys Ala Glu Ile Glu
50 55 60
aat gaa gac tat agt tat aca aaa gat gga ata gga cta gat ttg gaa 240
Asn Glu Asp Tyr Ser Tyr Thr Lys Asp Gly Ile Gly Leu Asp Leu Glu
65 70 75 80

WO 02/20569

PCT/US01/28013

98

aat tct ttt agt aac att ctg tta ttt gtt cct gag tac tta gac ttc	288
Asn Ser Phe Ser Asn Ile Leu Leu Phe Val Pro Glu Tyr Leu Asp Phe	
85 90 95	
atg cag aat ggt aac tac ttt ctg att ttt gtg aag tca tgg agc ttg	336
Met Gln Asn Gly Asn Tyr Phe Leu Ile Phe Val Lys Ser Trp Ser Leu	
100 105 110	
aac acc tct ggt ctg cgg att acc acc ttg agc tcc aat ttg tac aaa	384
Asn Thr Ser Gly Leu Arg Ile Thr Thr Leu Ser Ser Asn Leu Tyr Lys	
115 120 125	
aga gat ata aca tct gca aaa gtc atg aat gcc act gct gca ctg gag	432
Arg Asp Ile Thr Ser Ala Lys Val Met Asn Ala Thr Ala Ala Leu Glu	
130 135 140	
ttc ctc aaa gac atg aaa aag act aga ggg aga ttg tat tta aga cca	480
Phe Leu Lys Asp Met Lys Lys Thr Arg Gly Arg Leu Tyr Leu Arg Pro	
145 150 155 160	
gaa ttg ctg gca aag agg ccc tgt gtt gat ata caa gaa gaa aat aac	528
Glu Leu Leu Ala Lys Arg Pro Cys Val Asp Ile Gln Glu Glu Asn Asn	
165 170 175	
atg aag gcc ttg gcc ggg gtt ttt ttt gat aga aca gaa ctt gat cgg	576
Met Lys Ala Leu Ala Gly Val Phe Phe Asp Arg Thr Glu Leu Asp Arg	
180 185 190	
aaa gaa aaa ttg acc ttt act gaa tcc aca cat gtt gaa att aaa aac	624
Lys Glu Lys Leu Thr Phe Thr Glu Ser Thr His Val Glu Ile Lys Asn	
195 200 205	
ttc tcg aca gaa aag ttg tta caa cga att aaa gag att ctc cct caa	672
Phe Ser Thr Glu Lys Leu Leu Gln Arg Ile Lys Glu Ile Leu Pro Gln	
210 215 220	
tat gtt tct gca ttt gca aat act gat gga gga tat ttg ttc att ggt	720
Tyr Val Ser Ala Phe Ala Asn Thr Asp Gly Gly Tyr Leu Phe Ile Gly	
225 230 235 240	
tta aat gaa gat aaa gaa ata att ggc ttt aaa gca gag atg agt gac	768
Leu Asn Glu Asp Lys Glu Ile Ile Gly Phe Lys Ala Glu Met Ser Asp	
245 250 255	
ctc gat gac tta gaa aga gaa atc gaa aag tcc att agg aag atg cct	816
Leu Asp Asp Leu Glu Arg Glu Ile Glu Lys Ser Ile Arg Lys Met Pro	
260 265 270	
gtg cat cac ttc tgt atg gag aag aag aag ata aat tat tca tgc aaa	864
Val His His Phe Cys Met Glu Lys Lys Lys Ile Asn Tyr Ser Cys Lys	
275 280 285	
ttc ctt gga gta tat gat aaa gga agt ctt tgt gga tat gtc tgt gca	912
Phe Leu Gly Val Tyr Asp Lys Gly Ser Leu Cys Gly Tyr Val Cys Ala	
290 295 300	
ctc aga gtg gag cgc ttc tgc tgt gca gtg ttt gct aaa gag cct gat	960
Leu Arg Val Glu Arg Phe Cys Cys Ala Val Phe Ala Lys Glu Pro Asp	
305 310 315 320	

WO 02/20569

PCT/US01/28013

99

tcc tgg cat gtg aaa gat aac cgt gtg atg cag ttg acc agg aag gaa	1008
Ser Trp His Val Lys Asp Asn Arg Val Met Gln Leu Thr Arg Lys Glu	
325 330 335	
tgg atc cag ttc atg gtg gag gct gaa cca aaa ttt tcc agt tca tat	1056
Trp Ile Gln Phe Met Val Glu Ala Glu Pro Lys Phe Ser Ser Ser Tyr	
340 345 350	
gaa gag gtg atc tct caa ata aat acg tca tta cct gct ccc cac agt	1104
Glu Glu Val Ile Ser Gln Ile Asn Thr Ser Leu Pro Ala Pro His Ser	
355 360 365	
tgg cct ctt ttg gaa tgg caa cgg cag aga cat cac tgt cca ggg cta	1152
Trp Pro Leu Leu Glu Trp Gln Arg Gln Arg His His Cys Pro Gly Leu	
370 375 380	
tca gga agg ata acg tat act cca gaa aac ctt tgc aga aaa ctg ttc	1200
Ser Gly Arg Ile Thr Tyr Thr Pro Glu Asn Leu Cys Arg Lys Leu Phe	
385 390 395 400	
tta caa cat gaa gga ctt aag caa tta ata tgt gaa gaa atg gac tct	1248
Leu Gln His Glu Gly Leu Lys Gln Leu Ile Cys Glu Glu Met Asp Ser	
405 410 415	
gtc aga aag ggc tca ctg atc ttc tct agg agc tgg tct gtg gat ctg	1296
Val Pro Lys Gly Ser Leu Ile Phe Ser Arg Ser Trp Ser Val Asp Leu	
420 425 430	
ggc ttg caa gag aac cac aaa gtc ctc tgt gat gct ctt ctg att tcc	1344
Gly Leu Gln Glu Asn His Lys Val Leu Cys Asp Ala Leu Leu Ile Ser	
435 440 445	
cag gac agt cct cca gtc cta tac acc ttc cac atg gta cag gat gag	1392
Gln Asp Ser Pro Pro Val Leu Tyr Thr Phe His Met Val Gln Asp Glu	
450 455 460	
gag ttt aaa ggc tat tct aca caa act gcc cta acc tta aag cag aag	1440
Glu Phe Lys Gly Tyr Ser Thr Gln Thr Ala Leu Thr Leu Lys Gln Lys	
465 470 475 480	
ctg gca aaa att ggt ggt tac act aaa aaa gtg tgt gtc atg aca aag	1488
Leu Ala Lys Ile Gly Gly Tyr Thr Lys Lys Val Cys Val Met Thr Lys	
485 490 495	
atc ttc tac ttg agc cct gaa ggc atg aca agc tgc cag tat gat tta	1536
Ile Phe Tyr Leu Ser Pro Glu Gly Met Thr Ser Cys Gln Tyr Asp Leu	
500 505 510	
agg tcg caa gta att tac cct gaa tcc tac tat ttt aca aga agg aaa	1584
Arg Ser Gln Val Ile Tyr Pro Glu Ser Tyr Tyr Phe Thr Arg Arg Lys	
515 520 525	
tac ttg ctg aaa gcc ctt ttt aaa gcc tta aag aga ctc aag tct ctg	1632
Tyr Leu Leu Lys Ala Leu Phe Lys Ala Leu Lys Arg Leu Lys Ser Leu	
530 535 540	
aga gac cag ttt tcc ttt gca gaa aat cta tac cag ata atc ggt ata	1680
Arg Asp Gln Phe Ser Phe Ala Glu Asn Leu Tyr Gln Ile Ile Gly Ile	

PCT/US01/28013

545					550					555					560	
gat	tgc	ttt	cag	aag	aat	gat	aaa	aag	atg	ttt	aaa	tct	tgt	cga	agg	1728
Asp	Cys	Phe	Gln	Lys	Asn	Asp	Lys	Lys	Met	Phe	Lys	Ser	Cys	Arg	Arg	
			565						570					575		
ctc	acc	tga														1737
Leu	Thr															
<210> 47																
<211> 578																
<212> PRT																
<213> Homo sapiens																
<400> 47																
Met	Asn	Ile	Ser	Val	Asp	Leu	Glu	Thr	Asn	Tyr	Ala	Glu	Leu	Val	Leu	
1			5					10						15		
Asp	Val	Gly	Arg	Val	Thr	Leu	Gly	Glu	Asn	Ser	Arg	Lys	Lys	Met	Lys	
			20					25					30			
Asp	Cys	Lys	Leu	Arg	Lys	Lys	Gln	Asn	Glu	Arg	Val	Ser	Arg	Ala	Met	
			35				40					45				
Cys	Ala	Leu	Leu	Asn	Ser	Gly	Gly	Gly	Val	Ile	Lys	Ala	Glu	Ile	Glu	
		50				55				60						
Asn	Glu	Asp	Tyr	Ser	Tyr	Thr	Lys	Asp	Gly	Ile	Gly	Leu	Asp	Leu	Glu	
65					70				75					80		
Asn	Ser	Phe	Ser	Asn	Ile	Leu	Leu	Phe	Val	Pro	Glu	Tyr	Leu	Asp	Phe	
				85				90						95		
Met	Gln	Asn	Gly	Asn	Tyr	Phe	Leu	Ile	Phe	Val	Lys	Ser	Trp	Ser	Leu	
			100					105					110			
Asn	Thr	Ser	Gly	Leu	Arg	Ile	Thr	Thr	Leu	Ser	Ser	Asn	Leu	Tyr	Lys	
			115				120						125			
Arg	Asp	Ile	Thr	Ser	Ala	Lys	Val	Met	Asn	Ala	Thr	Ala	Ala	Leu	Glu	
	130					135					140					

WO 02/20569

PCT/US01/28013

101

Phe Leu Lys Asp Met Lys Lys Thr Arg Gly Arg Leu Tyr Leu Arg Pro
145 150 155 160

Glu Leu Leu Ala Lys Arg Pro Cys Val Asp Ile Gln Glu Glu Asn Asn
165 170 175

Met Lys Ala Leu Ala Gly Val Phe Phe Asp Arg Thr Glu Leu Asp Arg
180 185 190

Lys Glu Lys Leu Thr Phe Thr Glu Ser Thr His Val Glu Ile Lys Asn
195 200 205

Phe Ser Thr Glu Lys Leu Leu Gln Arg Ile Lys Glu Ile Leu Pro Gln
210 215 220

Tyr Val Ser Ala Phe Ala Asn Thr Asp Gly Gly Tyr Leu Phe Ile Gly
225 230 235 240

Leu Asn Glu Asp Lys Glu Ile Ile Gly Phe Lys Ala Glu Met Ser Asp
245 250 255

Leu Asp Asp Leu Glu Arg Glu Ile Glu Lys Ser Ile Arg Lys Met Pro
260 265 270

Val His His Phe Cys Met Glu Lys Lys Lys Ile Asn Tyr Ser Cys Lys
275 280 285

Phe Leu Gly Val Tyr Asp Lys Gly Ser Leu Cys Gly Tyr Val Cys Ala
290 295 300

Leu Arg Val Glu Arg Phe Cys Cys Ala Val Phe Ala Lys Glu Pro Asp
305 310 315 320

Ser Trp His Val Lys Asp Asn Arg Val Met Gln Leu Thr Arg Lys Glu
325 330 335

Trp Ile Gln Phe Met Val Glu Ala Glu Pro Lys Phe Ser Ser Ser Tyr
340 345 350

Glu Glu Val Ile Ser Gln Ile Asn Thr Ser Leu Pro Ala Pro His Ser
355 360 365

Trp Pro Leu Leu Glu Trp Gln Arg Gln Arg His His Cys Pro Gly Leu
370 375 380

WO 02/20569

PCT/US01/28013

102

Ser Gly Arg Ile Thr Tyr Thr Pro Glu Asn Leu Cys Arg Lys Leu Phe
 385 390 395 400

Leu Gln His Glu Gly Leu Lys Gln Leu Ile Cys Glu Glu Met Asp Ser
 405 410 415

Val Arg Lys Gly Ser Leu Ile Phe Ser Arg Ser Trp Ser Val Asp Leu
 420 425 430

Gly Leu Gln Glu Asn His Lys Val Leu Cys Asp Ala Leu Ile Ser
 435 440 445

Gln Asp Ser Pro Pro Val Leu Tyr Thr Phe His Met Val Gln Asp Glu
 450 455 460

Glu Phe Lys Gly Tyr Ser Thr Gln Thr Ala Leu Thr Leu Lys Gln Lys
 465 470 475 480

Leu Ala Lys Ile Gly Gly Tyr Thr Lys Lys Val Cys Val Met Thr Lys
 485 490 495

Ile Phe Tyr Leu Ser Pro Glu Gly Met Thr Ser Cys Gln Tyr Asp Leu
 500 505 510

Arg Ser Gln Val Ile Tyr Pro Glu Ser Tyr Tyr Phe Thr Arg Arg Lys
 515 520 525

Tyr Leu Leu Lys Ala Leu Phe Lys Ala Leu Lys Arg Leu Lys Ser Leu
 530 535 540

Arg Asp Gln Phe Ser Phe Ala Glu Asn Leu Tyr Gln Ile Ile Gly Ile
 545 550 555 560

Asp Cys Phe Gln Lys Asn Asp Lys Lys Met Phe Lys Ser Cys Arg Arg
 565 570 575

Leu Thr

<210> 48

<211> 2694

<212> DNA

WO 02/20569

PCT/US01/28013

103

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(2691)

<223>

```

<400> 48
atg gag gca aat cac tgc tcc ctg ggt gtg tat cca tct tac cca gac      48
Met Glu Ala Asn His Cys Ser Leu Gly Val Tyr Pro Ser Tyr Pro Asp
1      5      10      15

ctg gtc atc gat gtc gga gaa gtg act ctg gga gaa gaa aac aga aaa      96
Leu Val Ile Asp Val Gly Glu Val Thr Leu Gly Glu Glu Asn Arg Lys
20      25      30

aag cta cag aaa act cag aga gac caa gag agg gcg aga gtt ata cgg      144
Lys Leu Gln Lys Thr Gln Arg Asp Gln Glu Arg Ala Arg Val Ile Arg
35      40      45

gcc gcg tgt gct tta tta aac tca gga gga gga gtg att cag atg gaa      192
Ala Ala Cys Ala Leu Leu Asn Ser Gly Gly Gly Val Ile Gln Met Glu
50      55      60

atg gcc aac agg gat gag cgt ccc aca gag atg gga ctg gat tta gaa      240
Met Ala Asn Arg Asp Glu Arg Pro Thr Glu Met Gly Leu Asp Leu Glu
65      70      75      80

gaa tcc ttg aga aag ctt att cag tat cca tat ttg cag gct ttc ttt      288
Glu Ser Leu Arg Lys Leu Ile Gln Tyr Pro Tyr Leu Gln Ala Phe Phe
85      90      95

gag act aag caa cac gga agg tgt ttt tat att ttt gtt aaa tct tgg      336
Glu Thr Lys Gln His Gly Arg Cys Phe Tyr Ile Phe Val Lys Ser Trp
100     105     110

agt ggt gat cct ttc ctt aaa gat ggt tct ttc aat tcc cgc att tgc      384
Ser Gly Asp Pro Phe Leu Lys Asp Gly Ser Phe Asn Ser Arg Ile Cys
115     120     125

agc ctt agt tct tca tta tac tgt aga tct ggc acc tct gtg ctt cac      432
Ser Leu Ser Ser Ser Leu Tyr Cys Arg Ser Gly Thr Ser Val Leu His
130     135     140

atg aat tca aga cag gca ttc gat ttc ctg aag acc aag gaa aga cag      480
Met Asn Ser Arg Gln Ala Phe Asp Phe Leu Lys Thr Lys Glu Arg Gln
145     150     155     160

tcc aaa tat aat ctg att aat gaa ggg tct cca cct agt aaa att atg      528
Ser Lys Tyr Asn Leu Ile Asn Glu Gly Ser Pro Pro Ser Lys Ile Met
165     170     175

```

WO 02/20569

PCT/US01/28013

104

```

aaa gct gta tac cag aac ata tct gag tca aat cct gca tat gaa gtt      576
Lys Ala Val Tyr Gln Asn Ile Ser Glu Ser Asn Pro Ala Tyr Glu Val
180                               185                               190

ttc caa act gac act att gaa tat ggt gaa atc cta tct ttt cct gag      624
Phe Gln Thr Asp Thr Ile Glu Tyr Gly Glu Ile Leu Ser Phe Pro Glu
195                               200                               205

tct cca tcc ata gag ttt aaa cag ttc tct aca aaa cat atc caa caa      672
Ser Pro Ser Ile Glu Phe Lys Gln Phe Ser Thr Lys His Ile Gln Gln
210                               215                               220

tat gta gaa aat ata att cca gag tac atc tct gca ttt gca aac act      720
Tyr Val Glu Asn Ile Ile Pro Glu Tyr Ile Ser Ala Phe Ala Asn Thr
225                               230                               235                               240

gag gga ggc tat ctt ttt att gga gtg gat gat aag agt agg aaa gtc      768
Glu Gly Gly Tyr Leu Phe Ile Gly Val Asp Lys Ser Arg Lys Val
245                               250                               255

ctg gga tgt gcc aaa gaa cag gtt gac cct gac tct ttg aaa aat gta      816
Leu Gly Cys Ala Lys Glu Gln Val Asp Pro Asp Ser Leu Lys Asn Val
260                               265                               270

att gca aga gca att tct aag ttg ccc att gtt cat ttt tgc tct tca      864
Ile Ala Arg Ala Ile Ser Lys Leu Pro Ile Val His Phe Cys Ser Ser
275                               280                               285

aaa cct cgg gta gag tac agc acc aaa atc gta gaa gtg ttt tgt ggg      912
Lys Pro Arg Val Glu Tyr Ser Thr Lys Ile Val Glu Val Phe Cys Gly
290                               295                               300

aaa gag ttg tat ggc tat ctc tgt gtg att aaa gtg aag gca ttc tgt      960
Lys Glu Leu Tyr Gly Tyr Leu Cys Val Ile Lys Val Lys Ala Phe Cys
305                               310                               315                               320

tgt gtg gtg ttc tgc gaa gct ccc aag tca tgg atg gtg agg gag aag      1008
Cys Val Val Phe Ser Glu Ala Pro Lys Ser Trp Met Val Arg Glu Lys
325                               330                               335

tac atc cgc ccc ttg aca act gag gaa tgg gta gag aaa atg atg gac      1056
Tyr Ile Arg Pro Leu Thr Thr Glu Glu Trp Val Glu Lys Met Met Asp
340                               345                               350

gca gat cca gag ttt cct cca gac ttt gct gag gcc ttt gag tct cag      1104
Ala Asp Pro Glu Phe Pro Pro Asp Phe Ala Glu Ala Phe Glu Ser Gln
355                               360                               365

ttg agt cta tct gac agt cct tca ctt tgc aga cca gtg tat tct aag      1152
Leu Ser Leu Ser Asp Ser Pro Ser Leu Cys Arg Pro Val Tyr Ser Lys
370                               375                               380

aaa ggt ctg gaa cac aaa gct gat cta caa caa cat tta ttt cca gtt      1200
Lys Gly Leu Glu His Lys Ala Asp Leu Gln Gln His Leu Phe Pro Val
385                               390                               395                               400

cca cca gga cat ttg gaa tgt act cca gag tcc ctc tgg aag gag ctg      1248
Pro Pro Gly His Leu Glu Cys Thr Pro Glu Ser Leu Trp Lys Glu Leu
405                               410                               415

```

WO 02/20569

PCT/US01/28013

105

tct tta cag cat gaa gga cta aag gag tta ata cac aag caa atg cga Ser Leu Gln His Glu Gly Leu Lys Glu Leu Ile His Lys Gln Met Arg 420 425 430	1296
cct ttc tcc cag gga att gtg atc ctc tct aga agc tgg gct gtg gac Pro Phe Ser Gln Gly Ile Val Ile Leu Ser Arg Ser Trp Ala Val Asp 435 440 445	1344
ctg aac ttg cag gag aag cca gga gtc atc tgt gat gct ctg ctg ata Leu Asn Leu Gln Glu Lys Pro Gly Val Ile Cys Asp Ala Leu Leu Ile 450 455 460	1392
gca cag aac agc acc ccc att ctc tac acc att ctc agg gag cag gat Ala Gln Asn Ser Thr Pro Ile Leu Tyr Thr Ile Leu Arg Glu Gln Asp 465 470 475 480	1440
gca gag ggc cag gac tac tgc act cgc acc gcc ttt act ttg aag cag Ala Glu Gly Gln Asp Tyr Cys Thr Arg Thr Ala Phe Thr Leu Lys Gln 485 490 495	1488
aag cta gtg aac atg ggg ggc tac acc ggg aag gtg tgt gtc agg gcc Lys Leu Val Asn Met Gly Gly Tyr Thr Gly Lys Val Cys Val Arg Ala 500 505 510	1536
aag gtc ctc tgc ctg agt cct gag agc agc gca gag gcc ttg gag gct Lys Val Leu Cys Leu Ser Pro Glu Ser Ser Ala Glu Ala Leu Glu Ala 515 520 525	1584
gca gtg tct ccg atg gat tac cct gcg tcc tat agc ctt gca ggc acc Ala Val Ser Pro Met Asp Tyr Pro Ala Ser Tyr Ser Leu Ala Gly Thr 530 535 540	1632
cag cac atg gaa gcc ctg ctg cag tcc ctc gtg att gtc tta ctc ggc Gln His Met Glu Ala Leu Leu Gln Ser Leu Val Ile Val Leu Leu Gly 545 550 555 560	1680
ttc agg tct ctc ttg agt gac cag ctc ggc tgt gag gtt tta aat ctg Phe Arg Ser Leu Leu Ser Asp Gln Leu Gly Cys Glu Val Leu Asn Leu 565 570 575	1728
ctc aca gcc cag cag tat gag ata ttc tcc aga agc ctc cgc aag aac Leu Thr Ala Gln Gln Tyr Glu Ile Phe Ser Arg Ser Leu Arg Lys Asn 580 585 590	1776
aga gag ttg ttt gtc cac ggc tta cct ggc tca ggg aag acc atc atg Arg Glu Leu Phe Val His Gly Leu Pro Gly Ser Gly Lys Thr Ile Met 595 600 605	1824
gcc atg aag atc atg gag aag atc agg aat gtg ttt cac tgt gag gca Ala Met Lys Ile Met Glu Lys Ile Arg Asn Val Phe His Cys Glu Ala 610 615 620	1872
cac aga att ctc tac gtt tgt gaa aac cag cct ctg agg aac ttt atc His Arg Ile Leu Tyr Val Cys Glu Asn Gln Pro Leu Arg Asn Phe Ile 625 630 635 640	1920
agt gat aga aat atc tgc cga gca gag acc cgg gaa act ttc cta aga Ser Asp Arg Asn Ile Cys Arg Ala Glu Thr Arg Glu Thr Phe Leu Arg 645 650 655 660	1968

WO 02/20569

PCT/US01/28013

106

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

WO 02/20569

PCT/US01/28013

107

Ile Leu Ile Cys Leu Ala Ser Arg Ala Lys Gln His Leu Tyr Ile Phe
 885 890 895

ctg tga
 Leu

2694

<210> 49

<211> 897

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 49

Met Glu Ala Asn His Cys Ser Leu Gly Val Tyr Pro Ser Tyr Pro Asp
 1 5 10 15

Leu Val Ile Asp Val Gly Glu Val Thr Leu Gly Glu Glu Asn Arg Lys
 20 25 30

Lys Leu Gln Lys Thr Gln Arg Asp Gln Glu Arg Ala Arg Val Ile Arg
 35 40 45

Ala Ala Cys Ala Leu Leu Asn Ser Gly Gly Gly Val Ile Gln Met Glu
 50 55 60

Met Ala Asn Arg Asp Glu Arg Pro Thr Glu Met Gly Leu Asp Leu Glu
 65 70 75 80

Glu Ser Leu Arg Lys Leu Ile Gln Tyr Pro Tyr Leu Gln Ala Phe Phe
 85 90 95

Glu Thr Lys Gln His Gly Arg Cys Phe Tyr Ile Phe Val Lys Ser Trp
 100 105 110

Ser Gly Asp Pro Phe Leu Lys Asp Gly Ser Phe Asn Ser Arg Ile Cys
 115 120 125

Ser Leu Ser Ser Ser Leu Tyr Cys Arg Ser Gly Thr Ser Val Leu His
 130 135 140

Met Asn Ser Arg Gln Ala Phe Asp Phe Leu Lys Thr Lys Glu Arg Gln
 145 150 155 160

WO 02/20569

PCT/US01/28013

108

Ser Lys Tyr Asn Leu Ile Asn Glu Gly Ser Pro Pro Ser Lys Ile Met
165 170 175

Lys Ala Val Tyr Gln Asn Ile Ser Glu Ser Asn Pro Ala Tyr Glu Val
180 185 190

Phe Gln Thr Asp Thr Ile Glu Tyr Gly Glu Ile Leu Ser Phe Pro Glu
195 200 205

Ser Pro Ser Ile Glu Phe Lys Gln Phe Ser Thr Lys His Ile Gln Gln
210 215 220

Tyr Val Glu Asn Ile Ile Pro Glu Tyr Ile Ser Ala Phe Ala Asn Thr
225 230 235 240

Glu Gly Gly Tyr Leu Phe Ile Gly Val Asp Lys Ser Arg Lys Val
245 250 255

Leu Gly Cys Ala Lys Glu Gln Val Asp Pro Asp Ser Leu Lys Asn Val
260 265 270

Ile Ala Arg Ala Ile Ser Lys Leu Pro Ile Val His Phe Cys Ser Ser
275 280 285

Lys Pro Arg Val Glu Tyr Ser Thr Lys Ile Val Glu Val Phe Cys Gly
290 295 300

Lys Glu Leu Tyr Gly Tyr Leu Cys Val Ile Lys Val Lys Ala Phe Cys
305 310 315 320

Cys Val Val Phe Ser Glu Ala Pro Lys Ser Trp Met Val Arg Glu Lys
325 330 335

Tyr Ile Arg Pro Leu Thr Thr Glu Glu Trp Val Glu Lys Met Met Asp
340 345 350

Ala Asp Pro Glu Phe Pro Pro Asp Phe Ala Glu Ala Phe Glu Ser Gln
355 360 365

Leu Ser Leu Ser Asp Ser Pro Ser Leu Cys Arg Pro Val Tyr Ser Lys
370 375 380

Lys Gly Leu Glu His Lys Ala Asp Leu Gln Gln His Leu Phe Pro Val
385 390 395 400

WO 02/20569

PCT/US01/28013

109

Pro Pro Gly His Leu Glu Cys Thr Pro Glu Ser Leu Trp Lys Glu Leu
405 410 415

Ser Leu Gln His Glu Gly Leu Lys Glu Leu Ile His Lys Gln Met Arg
420 425 430

Pro Phe Ser Gln Gly Ile Val Ile Leu Ser Arg Ser Trp Ala Val Asp
435 440 445

Leu Asn Leu Gln Glu Lys Pro Gly Val Ile Cys Asp Ala Leu Leu Ile
450 455 460

Ala Gln Asn Ser Thr Pro Ile Leu Tyr Thr Ile Leu Arg Glu Gln Asp
465 470 475 480

Ala Glu Gly Gln Asp Tyr Cys Thr Arg Thr Ala Phe Thr Leu Lys Gln
485 490 495

Lys Leu Val Asn Met Gly Gly Tyr Thr Gly Lys Val Cys Val Arg Ala
500 505 510

Lys Val Leu Cys Leu Ser Pro Glu Ser Ser Ala Glu Ala Leu Glu Ala
515 520 525

Ala Val Ser Pro Met Asp Tyr Pro Ala Ser Tyr Ser Leu Ala Gly Thr
530 535 540

Gln His Met Glu Ala Leu Leu Gln Ser Leu Val Ile Val Leu Leu Gly
545 550 555 560

Phe Arg Ser Leu Leu Ser Asp Gln Leu Gly Cys Glu Val Leu Asn Leu
565 570 575

Leu Thr Ala Gln Gln Tyr Glu Ile Phe Ser Arg Ser Leu Arg Lys Asn
580 585 590

Arg Glu Leu Phe Val His Gly Leu Pro Gly Ser Gly Lys Thr Ile Met
595 600 605

Ala Met Lys Ile Met Glu Lys Ile Arg Asn Val Phe His Cys Glu Ala
610 615 620

His Arg Ile Leu Tyr Val Cys Glu Asn Gln Pro Leu Arg Asn Phe Ile

WO 02/20569

PCT/US01/28013

110

625 630 635 640

Ser Asp Arg Asn Ile Cys Arg Ala Glu Thr Arg Glu Thr Phe Leu Arg
 645 650 655

Glu Lys Phe Glu His Ile Gln His Ile Val Ile Asp Glu Ala Gln Asn
 660 665 670

Phe Arg Thr Glu Asp Gly Asp Trp Tyr Arg Lys Ala Lys Thr Ile Thr
 675 680 685

Gln Arg Glu Lys Asp Cys Pro Gly Val Leu Trp Ile Phe Leu Asp Tyr
 690 695 700

Phe Gln Thr Ser His Leu Gly His Ser Gly Leu Pro Pro Leu Ser Ala
705 710 715 720

Gln Tyr Pro Arg Glu Glu Leu Thr Arg Val Val Arg Asn Ala Asp Glu
 725 730 735

Ile Ala Glu Tyr Ile Gln Gln Glu Met Gln Leu Ile Ile Glu Asn Pro
 740 745 750

Pro Ile Asn Ile Pro His Gly Tyr Leu Ala Ile Leu Ser Glu Ala Lys
 755 760 765

Trp Val Pro Gly Val Pro Gly Asn Thr Lys Ile Ile Lys Asn Phe Thr
770 775 780

Leu Glu Gln Ile Val Thr Tyr Val Ala Asp Thr Cys Arg Cys Phe Phe
785 790 795 800

Glu Arg Gly Tyr Ser Pro Lys Asp Val Ala Val Leu Val Ser Thr Val
 805 810 815

Thr Glu Val Glu Gln Tyr Gln Ser Lys Leu Leu Lys Ala Met Arg Lys
 820 825 830

Lys Met Val Val Gln Leu Ser Asp Ala Cys Asp Met Leu Gly Val His
835 840 845

Ile Val Leu Asp Ser Val Arg Arg Phe Ser Gly Leu Glu Arg Ser Ile
850 855 860

WO 02/20569

PCT/US01/28013

111

Val Phe Gly Ile His Pro Arg Thr Ala Asp Pro Ala Ile Leu Pro Asn
 865 870 875 880

Ile Leu Ile Cys Leu Ala Ser Arg Ala Lys Gln His Leu Tyr Ile Phe
 885 890 895

Leu

<210> 50

<211> 1074

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1071)

<223>

<400> 50
 atg gag agt ctc aag act gat act gaa atg ccg tat cct gag gta ata 48
 Met Glu Ser Leu Lys Thr Asp Thr Glu Met Pro Tyr Pro Glu Val Ile
 1 5 10 15
 gta gat gtg ggc aga gtg att ttt gga gaa gaa aac agg aag aag atg 96
 Val Asp Val Gly Arg Val Ile Phe Gly Glu Glu Asn Arg Lys Lys Met
 20 25 30
 acc aac agc tgt ttg aaa aga tct gag aat tct aga att atc cgg gct 144
 Thr Asn Ser Cys Leu Lys Arg Ser Glu Asn Ser Arg Ile Ile Arg Ala
 35 40 45
 ata tgt gca ctg tta aat tct gga ggt ggt gtg atc aaa gca gag att 192
 Ile Cys Ala Leu Leu Asn Ser Gly Gly Gly Val Ile Lys Ala Glu Ile
 50 55 60
 gat gat aaa acc tat agt tac caa tgc cat ggg ctg gga cag gat ttg 240
 Asp Asp Lys Thr Tyr Ser Tyr Gln Cys His Gly Leu Gly Gln Asp Leu
 65 70 75 80
 gaa act tct ttt caa aag ctc ctt cct tca ggt tca cag aaa tac ctt 288
 Glu Thr Ser Phe Gln Lys Leu Leu Pro Ser Gly Ser Gln Lys Tyr Leu
 85 90 95
 gac tac atg cag cag ggg cac aat ctc ctg att ttt gtg aag tca tgg 336
 Asp Tyr Met Gln Gln Gly His Asn Leu Leu Ile Phe Val Lys Ser Trp

WO 02/20569

PCT/US01/28013

112

100	105	110	
agc cca gat gtt ttc agc ctt cca cta agg att tgc agc ttg cgc tcc			384
Ser Pro Asp Val Phe Ser Leu Pro Leu Arg Ile Cys Ser Leu Arg Ser			
115	120	125	
aat ttg tat cgg aga gat gtg act tct gct atc aac ttg agt gct agc			432
Asn Leu Tyr Arg Arg Asp Val Thr Ser Ala Ile Asn Leu Ser Ala Ser			
130	135	140	
agt gcc ctg gag ctt ctc aga gag aag ggg ttt aga gcc caa aga gga			480
Ser Ala Leu Glu Leu Leu Arg Glu Lys Gly Phe Arg Ala Gln Arg Gly			
145	150	155	160
aga cca agg gtg aag aag ttg cat cct cag cag gtt ctc aat aga tgc			528
Arg Pro Arg Val Lys Lys Leu His Pro Gln Val Leu Asn Arg Cys			
165	170	175	
att cag gaa gag gaa gat atg agg ata ttg gcc tca gaa ttt ttt aaa			576
Ile Gln Glu Glu Glu Asp Met Arg Ile Leu Ala Ser Glu Phe Phe Lys			
180	185	190	
aag gac aaa ctc atg tat aag gag aaa ctc aac ttt act gag tca aca			624
Lys Asp Lys Leu Met Tyr Lys Glu Lys Leu Asn Phe Thr Glu Ser Thr			
195	200	205	
cat gtt gaa ttt aaa agg ttc acc acc aaa aaa gtc ata cct cgg att			672
His Val Glu Phe Lys Arg Phe Thr Thr Lys Lys Val Ile Pro Arg Ile			
210	215	220	
aag gaa atg ctg cct cat tat gtt tct gca ttt gcc aac act caa ggg			720
Lys Glu Met Leu Pro His Tyr Val Ser Ala Phe Ala Asn Thr Gln Gly			
225	230	235	240
gga tat gtc ctc att ggg gtg gat gat aag agc aaa gaa gtg gtt gga			768
Gly Tyr Val Leu Ile Gly Val Asp Asp Lys Ser Lys Glu Val Val Gly			
245	250	255	
tgt aag tgg gaa aaa gtg aat cct gac tta cta aaa aaa gaa atc gaa			816
Cys Lys Trp Glu Lys Val Asn Pro Asp Leu Leu Lys Lys Glu Ile Glu			
260	265	270	
aac tgc ata gaa aaa ttg cct aca ttc cac ttc tgc tgt gag aag cca			864
Asn Cys Ile Glu Lys Leu Pro Thr Phe His Phe Cys Cys Glu Lys Pro			
275	280	285	
aag gta aat ttc act aca aaa atc ctg aat gtg tac caa aaa gat gtc			912
Lys Val Asn Phe Thr Thr Lys Ile Leu Asn Val Tyr Gln Lys Asp Val			
290	295	300	
ctg gat ggt tat gtc tgt gtg att caa gtg gag ccc ttc tgt tgc gtg			960
Leu Asp Gly Tyr Val Cys Val Ile Gln Val Glu Pro Phe Cys Cys Val			
305	310	315	320
gtg ttt gca gag gcc cca gat tcc tgg atc atg aaa gac aat tct gtc			1008
Val Phe Ala Glu Ala Pro Asp Ser Trp Ile Met Lys Asp Asn Ser Val			
325	330	335	
aca cgg ctg aca gct gag cag tgg gtg gtc atg atg ctg gat act cag			1056

WO 02/20569

PCT/US01/28013

113

Thr Arg Leu Thr Ala Glu Gln Trp Val Val Met Met Leu Asp Thr Gln
 340 345 350

tca ggt aaa ggg aag tga 1074
 Ser Gly Lys Gly Lys
 355

<210> 51

<211> 357

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 51

Met Glu Ser Leu Lys Thr Asp Thr Glu Met Pro Tyr Pro Glu Val Ile
 1 5 10 15

Val Asp Val Gly Arg Val Ile Phe Gly Glu Glu Asn Arg Lys Lys Met
 20 25 30

Thr Asn Ser Cys Leu Lys Arg Ser Glu Asn Ser Arg Ile Ile Arg Ala
 35 40 45

Ile Cys Ala Leu Leu Asn Ser Gly Gly Gly Val Ile Lys Ala Glu Ile
 50 55 60

Asp Asp Lys Thr Tyr Ser Tyr Gln Cys His Gly Leu Gly Gln Asp Leu
 65 70 75 80

Glu Thr Ser Phe Gln Lys Leu Leu Pro Ser Gly Ser Gln Lys Tyr Leu
 85 90 95

Asp Tyr Met Gln Gln Gly His Asn Leu Leu Ile Phe Val Lys Ser Trp
 100 105 110

Ser Pro Asp Val Phe Ser Leu Pro Leu Arg Ile Cys Ser Leu Arg Ser
 115 120 125

Asn Leu Tyr Arg Arg Asp Val Thr Ser Ala Ile Asn Leu Ser Ala Ser
 130 135 140

Ser Ala Leu Glu Leu Leu Arg Glu Lys Gly Phe Arg Ala Gln Arg Gly
 145 150 155 160

WO 02/20569

PCT/US01/28013

114

Arg Pro Arg Val Lys Lys Leu His Pro Gln Gln Val Leu Asn Arg Cys
 165 170 175
 Ile Gln Glu Glu Glu Asp Met Arg Ile Leu Ala Ser Glu Phe Phe Lys
 180 185 190
 Lys Asp Lys Lys Leu Met Tyr Lys Glu Lys Leu Asn Phe Thr Glu Ser Thr
 195 200 205
 His Val Glu Phe Lys Arg Phe Thr Thr Lys Lys Val Ile Pro Arg Ile
 210 215 220
 Lys Glu Met Leu Pro His Tyr Val Ser Ala Phe Ala Asn Thr Gln Gly
 225 230 235 240
 Gly Tyr Val Leu Ile Gly Val Asp Asp Lys Ser Lys Glu Val Val Gly
 245 250 255
 Cys Lys Trp Glu Lys Val Asn Pro Asp Leu Leu Lys Lys Glu Ile Glu
 260 265 270
 Asn Cys Ile Glu Lys Leu Pro Thr Phe His Phe Cys Cys Glu Lys Pro
 275 280 285
 Lys Val Asn Phe Thr Thr Lys Ile Leu Asn Val Tyr Gln Lys Asp Val
 290 295 300
 Leu Asp Gly Tyr Val Cys Val Ile Gln Val Glu Pro Phe Cys Cys Val
 305 310 315 320
 Val Phe Ala Glu Ala Pro Asp Ser Trp Ile Met Lys Asp Asn Ser Val
 325 330 335
 Thr Arg Leu Thr Ala Glu Gln Trp Val Val Met Met Leu Asp Thr Gln
 340 345 350
 Ser Gly Lys Gly Lys
 355

<210> 52

<211> 807

<212> DNA

WO 02/20569

PCT/US01/28013

115

<213> Mus musculus

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(804)

<223>

```

<400> 52
atg ctg ttc gtc aag cag agt gac aag ggg atc aac agt aag agg agg 48
Met Leu Phe Val Lys Gln Ser Asp Lys Gly Ile Asn Ser Lys Arg Arg
1 5 10 15

agc aaa gcc agg agg ctg aag ctt ggc ctg cca gga ccc cca ggg cca 96
Ser Lys Ala Arg Arg Leu Lys Leu Gly Leu Pro Gly Pro Pro Gly Pro
20 25 30

cca ggt cct cag ggc ccc cca ggc ccc ttt atc cca tct gag gtt ctg 144
Pro Gly Pro Gln Gly Pro Pro Gly Pro Phe Ile Pro Ser Glu Val Leu
35 40 45

ctg aag gag ttc cag ctg ttg ctg aaa ggc gca gta cgg cag cga gag 192
Leu Lys Glu Phe Gln Leu Leu Lys Gly Ala Val Arg Gln Arg Glu
50 55 60

agc cat ctg gag cac tgc acc agg gat ctc act aca cca gcc tcg ggt 240
Ser His Leu Glu His Cys Thr Arg Asp Leu Thr Thr Pro Ala Ser Gly
65 70 75 80

agc cct tcc cgt gtc cca gcc gcc cag gag ctt gat agc cag gac cca 288
Ser Pro Ser Arg Val Pro Ala Ala Gln Glu Leu Asp Ser Gln Asp Pro
85 90 95

ggg gca ttg tta gct ctg ctg gct gcg acc ttg gcc cag ggc ccg cgg 336
Gly Ala Leu Leu Ala Leu Leu Ala Ala Thr Leu Ala Gln Gly Pro Arg
100 105 110

gca cca cgt gtg gag gcc gca ttc cac tgt cgc ttg cgc cgg gat gtg 384
Ala Pro Arg Val Glu Ala Ala Phe His Cys Arg Leu Arg Asp Val
115 120 125

cag gtg gat cgg cgt gcg ttg cac gag ctt ggg atc tac tac ctg ccc 432
Gln Val Asp Arg Arg Ala Leu His Glu Leu Gly Ile Tyr Tyr Leu Pro
130 135 140

gaa gtt gag gga gcc ttc cac cgg ggc cca ggc ttg aat ctg acc agc 480
Glu Val Glu Gly Ala Phe His Arg Gly Pro Gly Leu Asn Leu Thr Ser
145 150 155 160

ggc cag tac acc gca cct gtg gct ggc ttc tat gcg ctt gct gcc act 528
Gly Gln Tyr Thr Ala Pro Val Ala Gly Phe Tyr Ala Leu Ala Ala Thr
165 170 175

```

WO 02/20569

PCT/US01/28013

116

```

ctg cac gtg gca ctc acc gag cag cca aga aag gga cca aca cga ccc 576
Leu His Val Ala Leu Thr Glu Gln Pro Arg Lys Gly Pro Thr Arg Pro
      180      185      190

cgg gat cgt ctg cgc ctg ctg atc tgc atc cag tct ctc tgt cag cac 624
Arg Asp Arg Leu Arg Leu Leu Ile Cys Ile Gln Ser Leu Cys Gln His
      195      200      205

aat gcc tcc ctg gag act gtg atg ggg ctg gag aac agc agc gag ctc 672
Asn Ala Ser Leu Glu Thr Val Met Gly Leu Glu Asn Ser Ser Glu Leu
      210      215      220

ttc acc atc tca gta aat ggt gtc ctc tat cta cag gca gga cac tac 720
Phe Thr Ile Ser Val Asn Gly Val Leu Tyr Leu Gln Ala Gly His Tyr
      225      230      235      240

act tct gtc ttc ttg gac aat gcc agc ggc tcc tcc ctc acg gta cgc 768
Thr Ser Val Phe Leu Asp Asn Ala Ser Gly Ser Ser Leu Thr Val Arg
      245      250      255

agt ggc tct cac ttc agt gct atc ctc ctg ggc ctg tga 807
Ser Gly Ser His Phe Ser Ala Ile Leu Leu Gly Leu
      260      265

```

<210> 53

<211> 268

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 53

```

Met Leu Phe Val Lys Gln Ser Asp Lys Gly Ile Asn Ser Lys Arg Arg
1      5      10      15

Ser Lys Ala Arg Arg Leu Lys Leu Gly Leu Pro Gly Pro Pro Gly Pro
      20      25      30

Pro Gly Pro Gln Gly Pro Pro Gly Pro Phe Ile Pro Ser Glu Val Leu
      35      40      45

Leu Lys Glu Phe Gln Leu Leu Leu Lys Gly Ala Val Arg Gln Arg Glu
      50      55      60

Ser His Leu Glu His Cys Thr Arg Asp Leu Thr Thr Pro Ala Ser Gly
      65      70      75      80

Ser Pro Ser Arg Val Pro Ala Ala Gln Glu Leu Asp Ser Gln Asp Pro
      85      90      95

```

WO 02/20569

PCT/US01/28013

117

Gly Ala Leu Leu Ala Leu Leu Ala Ala Thr Leu Ala Gln Gly Pro Arg
100 105 110

Ala Pro Arg Val Glu Ala Ala Phe His Cys Arg Leu Arg Arg Asp Val
115 120 125

Gln Val Asp Arg Arg Ala Leu His Glu Leu Gly Ile Tyr Tyr Leu Pro
130 135 140

Glu Val Glu Gly Ala Phe His Arg Gly Pro Gly Leu Asn Leu Thr Ser
145 150 155 160

Gly Gln Tyr Thr Ala Pro Val Ala Gly Phe Tyr Ala Leu Ala Ala Thr
165 170 175

Leu His Val Ala Leu Thr Glu Gln Pro Arg Lys Gly Pro Thr Arg Pro
180 185 190

Arg Asp Arg Leu Arg Leu Leu Ile Cys Ile Gln Ser Leu Cys Gln His
195 200 205

Asn Ala Ser Leu Glu Thr Val Met Gly Leu Glu Asn Ser Ser Glu Leu
210 215 220

Phe Thr Ile Ser Val Asn Gly Val Leu Tyr Leu Gln Ala Gly His Tyr
225 230 235 240

Thr Ser Val Phe Leu Asp Asn Ala Ser Gly Ser Ser Leu Thr Val Arg
245 250 255

Ser Gly Ser His Phe Ser Ala Ile Leu Leu Gly Leu
260 265

【国際公開パンフレット（コレクトバージョン）】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
14 March 2002 (14.03.2002)

PCT

(10) International Publication Number
WO 02/020569 A3

- (51) International Patent Classification: C07K 4/12, 16/00, C12N 15/63, A61K 38/02
- (21) International Application Number: PCT/US01/28013
- (22) International Filing Date: 7 September 2001 (07.09.2001)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data: 60/231,267 8 September 2000 (08.09.2000) US
- (71) Applicant: SCHERING CORPORATION [US/US]; 2000 Galloping Hill Road, Kenilworth, NJ 07033-0530 (US).
- (72) Inventors: PARHAM, Christi, L.; 2385 30th Avenue, San Francisco, CA 94116 (US); GORMAN, Daniel, M.; 6371 Central Avenue, Newark, CA 94560 (US); KURATA, Hirokazu; 1091 Tanland Drive, #212, Palo Alto, CA 94303 (US); ARAI, Naoko; 648 Georgia Avenue, Palo Alto, CA 94306 (US); SANA, Theodore, R.; 1046 Pomeroy Avenue, Santa Clara, CA 95051 (US); MATTSON, Jeanine, D.; 559 Alvarado Street, San Francisco, CA 94114 (US); MURPHY, Erin, E.; 180 Emerson Street, Palo Alto, CA 94301 (US); SAVKOOR, Chetan; 4402 Silverberry Drive, San Jose, CA 95136-2415 (US); GREIN, Jeffery; 1083-A Alta Mira Drive, Santa Clara, CA 95051 (US); SMITH, Kathleen, M.; 275 Ventura #6, Palo Alto, CA 94304 (US); MCCLANAHAN, Terrell, K.; 1081 Westchester Drive, Sunnyvale, CA 94087 (US).
- (74) Agent: SCHRAM, David, B.; Schering Corporation, Patent Dept., K-6-1 1990, 2000 Galloping Hill Road, Kenilworth, NJ 07033-0530 (US).
- (81) Designated States (national): AT, AG, AL, AM, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GR, HU, IL, IN, IS, JP, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MX, MY, NZ, NO, PH, PL, PT, RO, RU, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UZ, VN, YU, ZA.
- (84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW); Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM); European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IT, LI, MC, NL, PT, SE, TR); OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- Declaration under Rule 4.17:
as to the applicant's entitlement to claim the priority of the earlier application (Rule 4.17(iii)) for all designations
- Published:
with international search report
- (88) Date of publication of the international search report: 23 January 2003
- For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.



WO 02/020569 A3

(54) Title: MAMMALIAN GENES; RELEVANT REAGENTS AND METHODS

(57) Abstract: Nucleic acids encoding mammalian, e.g., primate or rodent, genes, purified proteins and fragments thereof. Antibodies, both polyclonal and monoclonal, are also provided. Methods of using the compositions for both diagnostic and therapeutic utilities are provided.

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No. PCT/US 01/28013
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 C07K4/12 C07K16/00 C12N15/63 A61K38/02		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 C07K C12N A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)		
SEQUENCE SEARCH, EPO-Internal		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DATABASE SWALL 'Online! EBI, KAWAI J ET AL: "Functional annotation of a full-length mouse cDNA collection." Database accession no. Q9CQ18 XP002209003 abstract	1-20
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents: *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the international filing date *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) *O* document relating to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed *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 *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 *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 *Z* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
8 August 2002		11/09/2002
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5016 Patentplan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2000, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3216		Authorized officer
		Keller, Y

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

International Application No. PCT/US 01 28013

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box I.2

Claims Nos.: 1-20 partially

Present claims 1-20 relate to an extremely large number of possible compounds/products/apparatus/methods. In fact, the claims contain so many options, variables, possible permutations and provisos that a lack of clarity (and/or conciseness) within the meaning of Article 6 PCT arises to such an extent as to render a meaningful search of the claims impossible. Consequently, the search has been carried out for those parts of the application which do appear to be clear (and/or concise), namely a recombinant polypeptide comprising at least 3 non overlapping segments of at least 4 amino acids selected from SEQ ID No. 2, 9, 11, 13 or 53. That is the sole previously mentioned sequences in their entirety (not fragments thereof) have been searched. Indeed the polypeptides of e.g. claim 1 result from parts (4 aa or more) of each or the same sequences combined together (3 or more parts are combined). This results in an extremely large number of possible different polypeptides.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims, or parts of claims, relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT	International application No. PCT/US 01/28013
Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)	
This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:	
1. <input type="checkbox"/> Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:	
2. <input checked="" type="checkbox"/> Claims Nos.: 1-20 partially because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically: see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210	
3. <input type="checkbox"/> Claims Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).	
Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)	
This International Searching Authority found multiple inventions in this International application, as follows:	
1. <input type="checkbox"/> As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.	
2. <input type="checkbox"/> As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.	
3. <input type="checkbox"/> 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. <input type="checkbox"/> 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.:	
Remark on Protest	
<input type="checkbox"/> The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.	
<input type="checkbox"/> No protest accompanied the payment of additional search fees.	

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 43/00	C 0 7 K 14/47 Z N A	4 H 0 4 5
C 0 7 K 14/47	C 1 2 N 1/15	
C 1 2 N 1/15	C 1 2 N 1/19	
C 1 2 N 1/19	C 1 2 N 1/21	
C 1 2 N 1/21	C 1 2 P 21/02 A	
C 1 2 N 5/10	C 1 2 P 21/02 C	
C 1 2 P 21/02	C 1 2 N 5/00 A	
	A 6 1 K 37/02	

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,CH,CY,DE,DK,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE,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,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,ES,FI,GB,GD,GE,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KG,KR,KZ,LC,LK,LR,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MX,MZ,NO,NZ,PH,PL,PT,RO,RU,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TR,TT,TZ,UA,UZ,VN,YU,ZA

(74)代理人 100062409

弁理士 安村 高明

(74)代理人 100113413

弁理士 森下 夏樹

(72)発明者 パーム, クリスティー エル.

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 1 1 6, サン フランシスコ, 3 0 ティエイチ アベニュー 2 3 8 5

(72)発明者 ゴーマン, ダニエル エム.

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 5 6 0, ネットワーク, セントラル アベニュー 6 3 7 1

(72)発明者 クラタ, ヒロカズ

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 3 0 3, パロ アルト, ナンバー 2 1 2, タンランド ドライブ 1 0 9 1

(72)発明者 アライ, ナオコ

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 3 0 6, パロ アルト, ジョージア アベニュー 6 4 8

(72)発明者 サナ, セオドア アール.

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 5 0 5 1, サンタ クララ, ボメロイ アベニュー 1 0 4 6

(72)発明者 マットン, ジニー ディー.

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 1 1 4, サン フランシスコ, アルバード ストリート 5 5 9

(72)発明者 マーフィー, エリン イー.

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 3 0 1, パロ アルト, エマーソン ストリート 1 8 0

(72)発明者 サブコー, チェタン

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 5 1 3 6 - 2 4 1 5, サン ノゼ, シルバーベリー ドライブ 4 4 0 2

(72)発明者 グレイン, ジェフェリー

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 5 0 5 1, サンタ クララ, アルタ ミラ ドライブ 1 0 8 3 - エイ

(72)発明者 スミス, キャサリーン エム.

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 3 0 4 , パロ アルト , ベントゥーラ ナンバー 6
2 7 5

(72)発明者 マックラナハン , テリル ケイ .

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 7 , サニーベール , ウェストチェスター ドライ
ブ 1 0 8 1

F ターム(参考) 4B024 AA01 AA11 BA31 BA61 CA01 GA11 HA15
4B064 AG02 AG27 AG31 CA19 CC24 DA01 DA13
4B065 AA93Y AB01 AB10 AC14 BA02 CA24 CA44 CA46
4C084 AA02 AA03 AA07 BA01 BA08 BA22 BA23 CA18 MA52 MA55
MA59 MA60 NA14 ZB052 ZB212
4C085 AA02 AA13 AA19 BB11 BB41 CC21 GG01 GG08 GG10
4H045 AA10 AA11 BA10 CA40 DA14 DA22 DA76 DA86 EA20 EA50
FA74