

(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.C1. <sup>7</sup> |               | F 1               | テーマコード (参考) |           |
|---------------------------|---------------|-------------------|-------------|-----------|
| <b>C 1 2 N</b>            | <b>15/09</b>  | C 1 2 N 15/00     | A           | 4 B 0 2 4 |
| <b>A 6 1 K</b>            | <b>38/00</b>  | A 6 1 K 39/00     | H           | 4 B 0 6 4 |
| <b>A 6 1 K</b>            | <b>39/00</b>  | A 6 1 K 39/395    | D           | 4 B 0 6 5 |
| <b>A 6 1 K</b>            | <b>39/395</b> | A 6 1 P 37/02     |             | 4 C 0 8 4 |
| <b>A 6 1 P</b>            | <b>37/02</b>  | A 6 1 P 43/00     | 1 0 5       | 4 C 0 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<br>シェーリング コーポレイション<br>S c h e r i n g C o r p o r a t i o<br>n<br>アメリカ合衆国 ニュージャージー 07<br>033-0530, ケニルワース, ギ<br>ヤロッピング ヒル ロード 2000,<br>パテント デパートメント - ケイ-6<br>-1 1990<br>2000 G a l l o p i n g H i l<br>l R o a d , K e n i l w o r t h ,<br>N e w J e r s e y 0 7 0 3 3 - 0 5<br>3 0 , U . S . A |
| (86) (22) 出願日 | 平成13年9月7日(2001.9.7)         | (74) 代理人 | 100078282<br>弁理士 山本 秀策   |
| (85) 翻訳文提出日   | 平成15年3月6日(2003.3.6)         |          |  |
| (86) 國際出願番号   | PCT/US2001/028013           |          |  |
| (87) 國際公開番号   | W02002/020569               |          |  |
| (87) 國際公開日    | 平成14年3月14日(2002.3.14)       |          |  |
| (31) 優先権主張番号  | 60/231,267                  |          |  |
| (32) 優先日      | 平成12年9月8日(2000.9.8)         |          |  |
| (33) 優先権主張国   | 米国(US)                      |          |  |

(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、靈長類または齧齒類）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 ( 5685C6 ) ; 配列番号 35 、 37 、 39 または 41 クローディン ; 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 ) グリコシリ化されておらず；
- b ) 灵長類、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 ) 天然グリコシリ化を伴う少なくとも 30 kD 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 FLAG 、 His 6 または Ig 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
- ii ) 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；
  - ii ) 請求項 1 に記載の精製ポリペプチドに対して産生され；
  - iii ) 免疫選択され；
  - iv ) ポリクローナル抗体であり；
  - v ) 変性抗原と結合し；
  - vi ) 少なくとも 3 0  $\mu$ M の抗原に対する K d を示し；
  - vii ) 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；
  - viii ) 滅菌組成物中に存在し；または
  - ix ) 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。

**【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。

**【請求項 8】**

抗原：抗体複合体の產生方法であって、靈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：抗体複合体の產生方法であって、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】**

結合化合物の產生方法であって、以下：

- 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產生する工程；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
  - ii ) 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 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 ) ポリペプチドが靈長類に由来し、あるいは
- b ) 該核酸が：
- i ) 抗原性ポリペプチドをコードし；

10

20

30

40

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；

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。

10

### 【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；

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 ) 靈長類細胞；または

i ) ヒト細胞、

である、請求項 13 に記載の細胞。

20

### 【請求項 15】

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 ) 靈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。

30

### 【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

は

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。

40

### 【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 mM 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 5 5 かつ / または 1 5 0 mM 塩であり；あるいは
- b ) 前記ストレッチが少なくとも 7 5 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。

**【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 、 1 1 、 1 3 、 2 9 、 3 1 、 3 3 または 5 3 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生を調整する工程；
- b ) 前記細胞を、配列番号 9 、 1 1 、 1 3 、 2 9 、 3 1 または 3 3 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生を調整する工程；
- c ) 前記細胞を、配列番号 2 、 1 5 、 1 7 、 1 9 、 2 1 、 2 3 、 2 5 または 2 7 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 3 4 、 3 6 、 3 8 、 4 0 、 4 2 、 4 4 、 4 6 、 4 8 または 5 0 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。

**【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。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)。

**【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

10

20

30

40

50

相互作用に基づいていた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を中心に行なう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、健常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】

30

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特性をより詳細に特徴化し、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せることにより、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】

40

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变体の特徴化を促し、活性とレセプター構造を相關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】

50

新規のリガンドの同定は、有用である。リガンドの腫瘍壞死因子(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、例えば靈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(DIRS4)と呼ばれるサイトカインレセプター様分子構造; TNF<sub>X</sub>およびTNF<sub>y</sub>と呼ばれるTNF関連サイトカイン; TLR-L1、TLR-L2、TLR-L3、TLR-L4およびTLR-L5と呼ばれるToll様レセプター様分子; TGFXと呼ばれるTGFX関連分子; 5685C6と呼ばれる可溶性Th2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相關するものに関連した遺伝子の一群(本明細書中ではクローディンD2、D8、D17およびD7.2と呼ばれる); ならびにシュラーフエン(schlaufen)と呼ばれる(本明細書中ではシュラーフエン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相關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(DIRS4); 配列番号9、11、13または53(TNF<sub>X</sub>またはTNF<sub>y</sub>); 配列番号15、17、19、21、23、25または27(TLR-L1~TLR-L5); 配列番号29(TGFX); 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(シュラーフエン)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、グリコシリ化されていないか、靈長類、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、天然グリコシリ化を伴う少なくとも30kD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、His6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。

## 【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30μM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。

## 【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：抗体複合体の產生方法であって、適切な条件下で靈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：抗体複合体の產生方法であって、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。結合化合物の產生方法であって、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產生するか、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ーを選択することを包含する方法も提供される。

## 【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。

## 【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靈長類に由来するか、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、6kb未満、好ましくは3kb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。

## 【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、靈長類細胞、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、靈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】

10

20

30

40

50

37 で2M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500mM塩であるか、または55および/または150mM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】

20

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。

## 【0024】

30

(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(本明細書中では靈長類)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、特定的に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<sub>x</sub>およびTNF<sub>y</sub>; T<sub>o</sub>11様レセプター様分子TLR-L1、TLR-L2、TLR-L3、TLR-L4およびTLR-L5; TGF<sub>x</sub>; 5685C6; クローディン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、靈長類、例えばヒトcDNA配列ライブラリーから得られる。その他の靈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。

## 【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】

靈長類、例えばヒトDIRS4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DIRS4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变体が存在する。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、IL-10ファミリーのリガンド、例えばIL-10、AK155、IL-19、IL-20/MDA-7、AK155、IL-D110、IL-D210等のためのレセプターであり得る(例えばDerwent特許配列データベース参照)。  
10

【0027】

靈長類および齧歯類形態のTNFxならびに靈長類および齧歯類形態のTNFy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。靈長類TNFxに関する特徴としては、以下のものが挙げられる: cAMP PK部位約38、74、79、205; Cas Phos部位約41、61; Cyt\_c-Me部位約43; ヒストン-Me部位約35; ミリストイル部位約5、57、220、232N-GLYCOSYL部位約229; PHOS2部位約38~41、79~82、134~136; PKC\_ph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TNFx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: cAMP PK部位約34、93、132、229、248、263; Cas Phos部位約119、232、251; Cyt\_c-Me部位約26、90、172; ヒストン-Me部位約82; ミリストイル部位約278、290、303; N-GLYCOSYL: 3つの部位約39、287、297; PHOS2部位約26~29、34~37、90~92、93~96、138~140、192~194、248~251; ならびにPKC\_ph部位約43、51、80、81、152; TyKin部位約154。シグナル切断部位は、位置19~20間に予測された: AGA-GA。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。  
20  
30

【0028】

TLR-L1~TLR-L5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。TLR1に関するEST分布は、mRNA発現が脳組織に制限されることを示唆する。染色体Xq27.1~28コード領域は、単一エキソン上に存在する。靈長類TLR1(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: Tyr\_Kin部位約704(KLEGDPVAY); Tyr\_Kin部位約713(RNLQEFSY)、825(KPQSEPDY); N-GLYCOSYL部位約84(NYS)、219(NCT)、294(NPT)、366(NIS)、421(NLT)、583(NLS); 見込みのあるIa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TLR-L1(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TyKin部位。  
40

【0029】

靈長類TLR-L2(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(NYT)、217(NCS)、623(NST)、674(NQS); TyKin部位約889(RLREPVLY)、450(RLSPELFY)、917(KLNVEPDY); TyKin部位約889(RLREPVLY)、917(KLNVEPDY)。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。

【0030】

靈長類 T L R - L 3 (配列番号 2 3) は、以下の特徴を有する： S I G N A L 1 ~ 2 6 ; T R A N S 1 4 ~ 3 4 ; P f a m : L R R N T 4 3 ~ 7 3 ; P f a m : L R R 7 8 ~ 1 0 1 ; L R R \_ T Y P 1 0 0 ~ 1 2 3 ; P f a m : L R R 1 0 2 ~ 1 2 5 ; L R R \_ T Y P 1 2 4 ~ 1 4 7 ; P f a m : L R R 1 2 6 ~ 1 4 9 ; L R R \_ T Y P 1 4 8 ~ 1 7 1 ; P f a m : L R R 1 5 0 ~ 1 7 3 ; L R R \_ T Y P 1 7 2 ~ 1 9 5 ; L R R \_ P S 1 7 2 ~ 1 9 4 ; P f a m : L R R 1 7 4 ~ 1 9 7 ; L R R \_ T Y P 1 9 6 ~ 2 1 9 ; L R R C T 2 3 2 ~ 2 8 2 ; P f a m : L R R C T 2 3 2 ~ 2 8 2 ( S E G 3 3 1 ~ 3 4 9 または S E G 3 6 5 ~ 3 7 9 を伴う) ; P f a m : L R R N T 3 7 2 ~ 4 0 5 ; L R R N T 3 7 2 ~ 4 1 0 ; P f a m : L R R 4 0 9 ~ 4 3 2 ; L R R \_ T Y P 4 3 1 ~ 4 5 4 ; P f a m : L R R 4 3 3 ~ 4 5 6 ; L R R \_ P S 4 5 5 ~ 4 7 7 ; L R R \_ T Y P 4 5 5 ~ 4 7 8 10 ; P f a m : L R R 4 5 7 ~ 4 8 0 ; L R R \_ T Y P 4 7 9 ~ 5 0 2 ; P f a m : L R R 4 8 1 ~ 5 0 4 ( S E G 5 0 2 ~ 5 1 9 を伴う) ; L R R \_ T Y P 5 0 3 ~ 5 2 6 ; L R R \_ P S 5 0 3 ~ 5 2 5 ; P f a m : L R R 5 0 5 ~ 5 2 8 ; P f a m : L R R C T 5 6 2 ~ 6 1 2 ; L R R C T 5 6 2 ~ 6 1 2 ; T R A N S 6 5 3 ~ 6 7 3 ; S E G 6 5 3 ~ 6 7 6 ; S E G 7 1 2 ~ 7 2 3 ; S E G 7 6 0 ~ 7 7 6 ; S E G 8 3 1 ~ 8 5 5 。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。

## 【 0 0 3 1 】

靈長類 T L R - L 4 (配列番号 2 5) 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。ヒト染色体 X q 2 6 . 3 ~ 2 8 ; 予測特徴：例えば約 S I G N A L 1 ~ 1 8 ; S E G 2 2 ~ 3 8 ; P f a m : L R R 6 0 ~ 8 3 ; L R R \_ T Y P 8 2 ~ 1 0 5 ; P f a m : L R R 8 4 ~ 1 0 7 ; L R R \_ P S 1 0 6 ~ 1 2 8 ; L R R \_ T Y P 1 0 6 ~ 1 2 9 ; P f a m : L R R 1 0 8 ~ 1 3 1 ; L R R \_ T Y P 1 3 0 ~ 1 5 3 ; P f a m : L R R 1 3 2 ~ 1 5 5 ; L R R \_ S D 2 2 \_ 1 5 4 ~ 1 7 4 ; L R R \_ P S 1 5 4 ~ 1 7 6 ; L R R \_ T Y P 1 5 4 ~ 1 7 7 ; P f a m : L R R 1 5 6 ~ 1 7 8 ; L R R \_ S D 2 2 \_ 1 7 7 ~ 1 9 8 ; L R R \_ P S 1 7 7 ~ 1 9 8 ; L R R \_ T Y P 1 7 8 ~ 2 0 1 ; P f a m : L R R 1 7 9 ~ 2 0 0 ; P f a m : L R R C T 2 1 3 ~ 2 6 3 ; L R R C T 2 1 3 ~ 2 6 3 ; L R R N T 3 4 1 ~ 3 7 9 ; P f a m : L R R N T 3 4 1 ~ 3 7 4 ; P f a m : L R R 3 7 8 ~ 4 0 1 ; L R R \_ T Y P 4 0 0 ~ 4 2 3 ; L R R \_ S D 2 2 \_ 4 0 0 ~ 4 2 1 ; P f a m : L R R 4 0 2 ~ 4 2 5 ; L R R \_ T Y P 4 2 4 ~ 4 4 7 ; L R R \_ S D 2 2 \_ 4 2 4 ~ 4 5 0 ; L R R \_ P S 4 2 4 ~ 4 4 7 ; P f a m : L R R 4 2 6 ~ 4 4 9 ; L R R \_ T Y P 4 4 8 ~ 4 7 1 ; L R R \_ P S 4 4 8 ~ 4 7 0 ; P f a m : L R R 4 5 0 ~ 4 7 3 ; L R R \_ T Y P 4 7 2 ~ 4 9 5 ; L R R \_ P S 4 7 2 ~ 4 9 4 ; P f a m : L R R 4 7 4 ~ 4 9 7 ; S E G 4 7 4 ~ 4 8 8 ; L R R C T 5 3 1 ~ 5 8 1 ; P f a m : L R R C T 5 3 1 ~ 5 8 1 ; S E G 6 1 7 ~ 6 4 3 ; T R A N S 6 2 3 ~ 6 4 3 ; N - G L Y C O S Y L 部位約 8 1 (N F S )、2 1 6 (N C S )、3 0 8 (N P S )、3 2 5 (N L S )、4 2 3 (N L T )；染色体 X q 2 6 . 3 ~ 2 8 。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 I a 型膜タンパク質であると思われる。 30

## 【 0 0 3 2 】

靈長類 T L R - L 5 (配列番号 2 7) に関しては、全コード領域はヒト第 1 3 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 S I G N A L 1 ~ 2 0 ; P f a m : L R R 6 5 ~ 8 8 ; L R R \_ T Y P 8 7 ~ 1 1 0 ; P f a m : L R R 8 9 ~ 1 1 2 ; L R R \_ T Y P 1 1 1 ~ 1 3 4 ; P f a m : L R R 1 1 3 ~ 1 3 6 ; L R R \_ P S 1 3 5 ~ 1 5 7 ; L R R \_ S D 2 2 \_ 1 3 5 ~ 1 5 6 ; L R R \_ T Y P 1 3 5 ~ 1 5 8 ; P f a m : L R R 1 3 7 ~ 1 6 0 ; L R R \_ T Y P 1 5 9 ~ 1 8 2 ; L R R \_ S D 2 2 \_ 1 5 9 ~ 1 7 7 ; L R R \_ P S 1 5 9 ~ 1 8 1 ; P f a m : L R R 1 6 1 ~ 1 8 4 ; L R R \_ S D 2 2 \_ 1 8 2 ~ 2 0 3 ; L R R \_ T Y P 1 8 5 ~ 2 0 6 ; P f a m : L R R 1 8 5 ~ 2 0 5 ; L R R C T 2 1 8 ~ 2 6 8 ; P f a m : L R R C T 2 1 8 ~ 2 6 8 ; H y b r i d : L R R N T 3 2 8 ~ 3 6 4 ; P f a m : L R R N T 3 2 8 ~ 3 6 0 ; L R R \_ S D 2 2 \_ 3 8 6 ~ 4 0 7 ; P f a m : L R R 3 8 8 ~ 4 1 1 ; L R R \_ T Y P 3 8 9 ~ 4 0 9 ; L R R \_ P S 4 1 0 ~ 4 3 2 ; L R R \_ T Y P 4 1 0 ~ 4 3 3 ; L R R \_ S D 2 2 \_ 4 1 0 ~ 4 2 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 】

靈長類、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 。

## 【 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。靈長類クローンは、染色体 2 1 q 2 2 . 1 に位置づけられる。靈長類 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。

## 【 0 0 3 5 】

クローディン 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）。

## 【 0 0 3 6 】

シュラーフエン 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。

## 【 0 0 3 8 】

10

20

30

40

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 TN F x 、 TN F y 、 T L R - L 1 、 T L R - L 2 、 T L R - L 3 、 T L R - L 4 、 T L R - L 5 、 T G F x 、 5 6 8 5 C 6 、クローディン ( c l a u d i n ) D 2 、 D 8 、 D 1 7 、 D 7 . 2 ならびにシュラーフェン ( s c h l a f e n ) 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。

#### 【 0 0 3 9 】

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

#### 【 0 0 4 0 】

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

#### 【 0 0 4 1 】

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。

#### 【 0 0 4 2 】

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、 Need leham , 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 IntelliGe netics , 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。相同的アミノ酸配列は、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。代表的な相同的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。相同的なタンパク質またはペプチド、例えば対立遺伝子改变体は、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 10 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 Fact Book* 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。 20

#### 【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、あるいは適切なリ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）。 30

#### 【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 Biotech* 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觸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。 40 50

## 【0047】

(I I . 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、基本的な先天的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。

## 【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、クローン病と相關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。

## 【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。

## 【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。

## 【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

10

20

30

40

50

upp1.1) : 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 Fact Book 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。

#### 【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、DIRS4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意である（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。

#### 【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ки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またはクローナル化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。

#### 【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】

10

20

30

40

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、本発明はインピット操作を包含するが、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、あるコドンを、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を一緒に連結して、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单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）に関する意図される。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D I R S 4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 Immunology 50

monology Academic Press, San Diego, pp. 150  
 2 - 1504; Travis (1992) Science 256: 1392 - 1394;  
 Kuhn, et al. (1991) Science 254: 707 - 710; Capocchi (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. WO 96 / 29 411またはUSSN 08 / 406, 030を参照のこと)。

## 【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。

## 【0064】

ストリンジエントな条件は、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、有機溶媒および他のパラメーターのストリンジエントな組合せの条件である。ストリンジエントな温度条件は、通常は約30°Cを超える温度、さらに通常では約37°Cを超える、代表的には約45°Cを超える、さらに代表的には約55°Cを超える、好ましくは約65°Cを超える、より好ましくは約70°Cを超える温度を包含する。ストリンジエントな塩条件は、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20mM未満より低いことさえある。しかしながらパラメターの組合せは、任意の単一パラメターの測定よりもはるかに重要である（例えば、Wetmurr 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関与し得る。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。

#### 【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)もまた参考のこと)。

#### 【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。

#### 【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Dieffenbach and Dveksler (1995; eds.) PCR Primer: A Laboratory Manual Cold Spring Harbor Press, CSH, NYを参照のこと）。

#### 【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

10

20

30

40

50

である（例えば、Misquitta and Paterson(1999) Pro. 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、靈長類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Tol1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；Lodish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】

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。

#### 【 0 0 7 7 】

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、グリコシリ化改変体、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（C 3 ~ C 18 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。

#### 【 0 0 7 8 】

特に、例えばその合成およびプロセシング中の、またはさらなるプロセシング工程におけるポリペプチドのグリコシリ化パターンを改変することにより作製される、グリコシリ化変化が含まれる。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シングを提供する細胞由来のグリコシリ化酵素（例えば哺乳動物グリコシリ化酵素）にポリペプチドを曝露することによる。脱グリコシリ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）のバージョンも含まれる。

#### 【 0 0 7 9 】

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。

#### 【 0 0 8 0 】

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、D u l l 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-G ラクトシダーゼ、t r p E、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、G o d o w s k i ら（1988）S c i e n c e 241: 812 - 816 を参照のこと。

#### 【 0 0 8 1 】

B e a u c a g e およびC a r r u t h e r s ( 1 9 8 1 ) T e t r a . L e t t s . 22 : 1 8 5 9 - 1 8 6 2 により記載されたホスホラミダイト法は、適切な合成DNAフラグメントを產生する。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。

## 【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 10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 20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產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、Fab<sub>2</sub>、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、本発明の抗体を产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、またはそれに對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 40 50

する。

【0086】

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。

【0087】

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。

【0088】

(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。

【0089】

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。

【0090】

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。発現もたらす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、適切なリ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。

【0091】

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增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 10 参照のこと。

## 【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 をクローニングし、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、栄養培地内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。

## 【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、靈長類および齧歯類) 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 10 : 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。

## 【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、ポリアデ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)。

## 【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あれ、脊椎動物供給源からあれ、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)、ポリアデ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(Okayamal(1985)Mol. Cell Biol. 5:1136-1142を参照のこと)、pMCneo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。

## 【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

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ら (1989) Science 243: 1156-1159; Kaiserら (1987) Science 235: 312-317。

#### 【0100】

特定のまたは規定されたグリコシリ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リ化タンパク質に、例えば非グリコシリ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リ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リ化パターンは、原核生物細胞または他の細胞において達成可能である。

#### 【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。

#### 【0102】

配列が既知であるので、靈長類タンパク質、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リカルボジイミド (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。

#### 【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。

#### 【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

10

20

30

40

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、ペプチドを产生する。この固相アプローチは、Merrifield(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产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)。

【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。

【0108】

(V I . 抗体)

抗体は、種々の哺乳動物、例えば靈長類の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、產生され得るが、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。

【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产生され得る。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<sub>D</sub>で、より通常は少なくとも約300μMの、典型的には少なくとも約100μMの、より典型的には少なくとも約30μMの、好ましくは少なくとも約10μMの、より好ましくは少なくとも約3μMまたはそれより良好なK<sub>D</sub>で結合する。

【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、

10

20

30

40

50

產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も有用である。それらは、ウエスタンプ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 Immunochimistry, 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、靈長類、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; Godding (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、これは次に骨髄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单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】

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:

10

20

30

40

50

544 - 546 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3,817,837号、第3,850,752号、第3,939,350号、第3,996,345号、第4,277,437号、第4,275,149号および第4,366,241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产生され得る(Cabillly、米国特許第4,816,567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(Mendez, et al. (1997) Nature Genetics 15: 146-156 参照)。

10

20

30

## 【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(Sephadex)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。

20

## 【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產生される抗体はまた、抗イディオタイプ抗体を產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。

30

## 【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產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IFN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。

40

## 【0119】

イムノアッセイにおいて用いるための抗血清を產生するために、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產生され得る。適切な宿主、例えばBalb/cのようなマウスの同系株が、通常は標準アジュvant(例えば、フロイントのアジュvant)ならびに標準マウス免疫感作プロトコールを用いて、選択タンパク質で免疫感作される(Harlow and Lane(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。 $10^4$ 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Harlow and Lane(前出、p.570-575)を参照のこと)。

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。

20

#### 【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。

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產生は、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D I R S 4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D I R S 4、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D I R S 4の濃度を確定するための好ましいキットは、通常は、D I R S 4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）D I R S 4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D I R S 4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】

哺乳動物クローディン（c l a u d i n ）またはシュラーフエン（s c h l a f e n ）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（R I A）、酵素結合イムノソルベントアッセイ法（E L I S A）、酵素イムノアッセイ（E I A）、酵素増幅イムノアッセイ技法（E M I T）、基質標識蛍光イムノアッセイ（S L F I A）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Har low and Lane（1988）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 S H . およびColigan（ed. 1991 and periodic supplement）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 G r e e n e / W i l e y , N e w Y o r k 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有する。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<sup>1 2 5</sup>I、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。

### 【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 glycole）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、Rattl 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、参考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。

### 【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リ基の使用、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。

### 【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、ならびに配列の好みのサイズは、文献中に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べきであり、ポリヌクレオチドプローブは数キロベースまであり得る。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<sup>32</sup>P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

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】

##### (VIII. 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事体も同様に興味深いものである。クローディンおよびシ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され得る。これらの組合せは、滅菌性であり、例えば濾過されて、投薬バイアル中の凍結乾燥または安定化水性製剤中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

10

20

30

40

50

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、 $1 \text{ mM}$ より低い濃度、通常は約  $10 \mu\text{M}$ 未満の濃度、通常は約  $100 \text{nM}$ 未満、好ましくは約  $10 \text{ pM}$  (ピコモル) 未満、もっとも好ましくは約  $1 \text{ fM}$  (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

#### 【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) 投与に適したものと包含する。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.; Aviss, 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)。本発明の療法は、他の治療剤、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のアゴニストまたはアンタゴニストと組み合わせて、またはそれらと関連して用いられ得る。

20

#### 【0141】

30

##### (IX. スクリーニング)

DIRS4、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 40

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 (Pare, et al. (1989) Science 246: 243-247; およびOwicki, et al. (1990) Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 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)。<sup>1</sup>

<sup>2 5</sup>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<sup>++</sup>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<sup>++</sup>レベルを検出するために有用である。

## 【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または他のエピトープタグ等は、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)。

## 【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

10

20

30

40

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USSN08/110, 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DIRS4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(Altenschul, 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

10

20

30

40

50

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プする。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<sub>gt</sub>10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 Taq plus 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-ブロモデオキシリジンを培養(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、<sup>3</sup>Hを用いたニック・トランスレーションにより標識する。放射能標識プロープを、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】

核トラックエマルション (KODAK NTB<sub>2</sub>) 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2μgのポリ(A)<sup>+</sup>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、[-<sup>32</sup>P]dATPでプロープを放射能標識する。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Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>、7% SDS、0.5MのEDTA (pH 8.0) 中で65度で実施する。高ストリッジエンシー洗浄を、例えば2×SSC、0.1% SDSで40分間、最初に2回、65度で実行し、その後、続いて0.1×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 (5 μg) 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】

マウスマ RNA 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 (Mel114 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 (Mel114 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、10 μg/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、10 μg/ml ConA、15 時間刺激 (T208)；Mel114+ 脾臓からのネイティブ T 細胞、休止 (T209)；Mel114+ 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)；Mel114+ 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マイド濃化樹状細胞、休止 (D200)；骨髄からの樹状細胞、休止 (D201)；LPS で 4 時間活性化された单球細胞系 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

10

20

30

40

50

- IL - 10、0 . 5、1、3、6、12 時間プール (M 203) ; マクロファージ細胞系 J 774 + LPS + IL - 10、0 . 5、1、3、5、12 時間プール (M 204) ; 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; X 206) ; 線虫 (Nippostrongylus) 感染肺組織 (Coffman, et al. (1989) Science 245 : 308 - 310 参照; X 200) ; 全成人肺、正常 (O 200) ; 全肺、rag - 1 (Schwarz, et al. (1993) Immunodeficiency 4 : 249 - 252 参照; O 205) ; IL - 10 K . O . 脾臓 (Kuhn, et al. (1991) Cell 75 : 263 - 274 参照; X 201) ; 全成人脾臓、正常 (O 201) ; 全脾臓、rag - 1 (O 207) ; IL - 10 K . O . パイアース斑 (O 202) ; 全パイアース斑、正常 (O 210) ; IL - 10 K . O . 腸間膜リンパ節 (X 203) ; 全腸間膜リンパ節、正常 (O 211) ; IL - 10 K . O . 結腸 (X 203) ; 全結腸、正常 (O 212) ; NOD マウスすい臓 (Makino, et al. (1980) Jikken Dobutsu 29 : 1 - 13 参照; X 205) ; 全胸腺、rag - 1 (O 208) ; 全腎臓、rag - 1 (O 209) ; 全心臓、rag - 1 (O 202) ; 全脳、rag - 1 (O 203) ; 全精巣、rag - 1 (O 204) ; 全肝臓、rag - 1 (O 206) ; ラット正常関節組織 (O 300) ; ならびにラット関節炎関節組織 (X 300)。

## 【0162】

ヒト mRNA 単離のための試料を以下に挙げる：末梢血单核球細胞（単球、T 細胞、NK 細胞、顆粒球、B 細胞）、休止 (T 100) ; 末梢血单核球細胞、抗 CD3 で活性化、2、6、12 時間プール (T 100) ; T 細胞、TH0 クローン Mot 72、休止 (T 102) ; T 細胞、TH0 クローン Mot 72、抗 CD28 および抗 CD3 で活性化、3、6、12 時間プール (T 103) ; T 細胞、TH0 クローン Mot 72、特異的ペプチドでアネルギー処理、2、7、12 時間プール (T 104) ; T 細胞、TH1 クローン HY06、休止 (T 107) ; 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 (T 108) ; 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 (T 109) ; T 細胞、TH2 クローン HY935、休止 (T 110) ; 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 (T 111) ; T 細胞、抗 - CD28、IL - 4 および抗 IFN - においては CD4 + CD45 RO - T 細胞分極 27 日、TH2 分極、抗 CD3 および抗 CD28 で活性化、4 時間 (T 116) ; T 細胞腫瘍株 Jurkat および H ut 78、休止 (T 117) ; T 細胞クローン、プール AD130 . 2、Tc783 . 12、Tc783 . 13、Tc783 . 58、Tc782 . 69、休止 (T 118) ; T 細胞ランダム T 細胞クローン、休止 (T 119) ; 脾臓細胞、休止 (B 100) ; 脾臓細胞、抗 CD40 および IL - 4 で活性化 (B 101) ; B 細胞 EBV 株プール化 WT49、RSB、JY、CVIR、721 . 221、RM3、HSY、休止 (B 102) ; 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 (B 103) ; NK20 クローン、プール化、休止 (K 100) ; 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 (K 101) ; NKL クローン、LGL 白血病患者の末梢血由来、IL - 2 処理 (K 106) ; NK 細胞傷害性クローン 640 - A30 - 1、休止 (K 107) ; 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 (C 100) ; U937 前单球株、休止 (M 100) ; U937 前单球株、PMA およびイオノマイシンで活性化、1、6 時間プール (M 101) ; 溶離单球、LPS、IFN および抗 IL - 10 で活性化、1、2、6、12、24 時間プール (M 102) ; 溶離单球、LPS、IFN および IL - 10 で活性化、1、2、6、12、24 時間プール (M 103) ; 溶離单球、LPS、IFN および抗 IL - 10 で活性化、4、16 時間プール (M 106) ; 溶離单球、LPS、IFN および IL - 10 で活性化、4、16 時間プール (M 107) ; 溶離单球、LPS で活 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、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、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)；胆囊胎児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)。

## 【0163】

DIRS4に関しては、サザンプロット分析は、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；胆囊；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による靈長類(例えばヒト)のTNFx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TNFxに関する付加的TaqMan発現データを示す。

## 【0165】

## 【表1】

表1

| ライガラ'イ-         | Ct_gene          | ライガラ'イ- | 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   | 10      |
| 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   | 20      |
| 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ブル            | 38.21胎児脂肪組織      | 26.41   |         |
| NKブル活性化         | 37.54胎児卵巢        | 37.49   | 30      |
| 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   | 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<br>403242A                |        | 28. 32  |
| 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<br>(Ascaris lung)      |        | 28. 06  |
| 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<br>(Pneumocystis carinii) |        | 36. 88  |
| RA滑膜プール               | 28正常皮膚                                 |        | 24. 12  |
| 乾癬皮膚                  | 32. 37クローン病結腸<br>4003197A              |        | 30. 31  |
| 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<br>9609C144              |        | 27. 49  |
| 24時間肺回虫               | 26. 34A549未刺激                          |        | 28. 03  |
| 正常な肺プール               | 22. 21A549活性化                          |        | 24. 1   |
| Taq_control_genomic_1 |  |        |         |
|                       | 50Taq_control_水                        |        | 50      |

齧歯類（例えばマウス）のTNF $\alpha$ 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TNK KO脾臓、NZB/W脾臓、NZB/W腎臓、NZB/W脾臓、GF耳/皮膚；rag-1精巣、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 $\alpha$ に関する付加的TaqMan発現データを示す。

【0166】

（表2：）

【0167】

【表2】

10

20

30

40

| 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 精巢                  |        | 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   |
| フレT                 | 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    |
| McI 14+ 未処置T        | 28.16 Braf:ER (-) オリゴ dT        |        | 38.53   |
| McI 14+ TH1         | 29.2 TH1 3週 C57 Bl/6            |        | 23.12   |
| McI 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 脊髄 EAE モデル    |        | 22.87   |
| Rag-2 Hh- 結腸           | 29.2 TNF K.O. d17 脊髄 EAE モデル |        | 22.84   |
|                        |                              |        | 10      |
| Rag-2 Hh+ 結腸           | 27.1 TNF K.O. 脊髄             |        | 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. 脊髄                 |        | 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                        |        | 20      |

靈長類、例えばヒトの TNF $\gamma$ 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 TNF-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 $\gamma$ 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 γ△             | 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 胎児の精巢       |        | 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   | 10 |
| 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   | 20 |
| 肺 080698-2                  | 30.01   | hi dose IL-4肺         | 43.59   |    |

(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T                 | 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 Bl/6           |        | 26.78   |
| Mel 14+ 未処置 T       | 40 TH2 3週 C57 Bl/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 アスペルギルス肺                     |        | 39.26   |

| ライブラリー                        | Ct_gene                     | ライブラリー                      | Ct_gene |
|-------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|---------|
| <b>rag-1精巣</b>                |                             | <b>40 Nippo IL-4 K.O.</b> 肺 | 26.13   |
| インフルエンザ肺                      | 37.13 Nippo                 | 抗 IL-5 肺                    | 34.73   |
| <b>b</b> 共通肺 2ヶ月              | 39.33 w.t.                  | 胸腺                          | 40      |
| <b>IL-10 K.O. 胃</b>           | 27.3 w.t.                   | 胃                           | 30.14   |
| <b>IL-10 K.O. MLN aIL-12</b>  | 40 MM2/MM3                  | 休止 pME                      | 40      |
| <b>IL-10 K.O. MLN +IL-10</b>  | 37.97 MM2/MM3               | 活性化 pME                     | 40      |
| <b>Rag-2 Hh- 結腸</b>           | 26.95 Taq_control_water     |                             | 50      |
| <b>Rag-2 Hh+ 結腸</b>           | 22.94 Taq_control_genomic_1 |                             | 50      |
| <b>IL-7 K.O./Rag-2 Hh- 結腸</b> | 26.77 Taq_control_genomic_2 |                             | 50      |
| <b>IL-7 K.O./Rag-2 Hh+ 結腸</b> | 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 腎臓              | 40                          |                             |         |

靈長類、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】

靈長類、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】

靈長類、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、発現プロフィールを確証する。

#### 【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 Biology 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. Expt'l Med. 189 : 1783 - 1789 参照)。

## 【0175】

4つの新規のクローディン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リーザのパネル、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-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 = 53x、n = 9）。さらに、クローディン-D2は9/12の潰瘍性結腸炎試料（平均誘導 = 8.2x）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 = 29x）。

## 【0177】

クローディン-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130x、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-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-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 = 9x）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-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 = 13x）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-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 = 3.7x、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】

クローディンファミリー構造：クローディン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

10

20

30

40

50

ントは、約 G 17 - V 36 、 M 83 - C 104 、 V 117 - H 141 および L 164 - Q 188 に対応する。パラセリンはその N 末端で余分の 60 個のアミノ酸を有し、これは膜の細胞質側上に置かれる。

#### 【 0181 】

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。

#### 【 0182 】

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 1645577 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 Biology 147 : 891 - 903 参照）。

10

20

30

#### 【 0183 】

炎症性腸疾患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。

#### 【 0184 】

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髄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。

#### 【 0185 】

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。

#### 【 0186 】

シュラーフェン B : 748aa ; ORF 。定量的 PCR 分析は、 T 細胞、休止 DC 、 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。

40

#### 【 0187 】

シュラーフェン C : 891aa 、全 ORF 。定量的 PCR 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。

#### 【 0188 】

シュラーフェン D : 578aa 、全 ORF 。ヒトシュラーフェン D に関する定量的 PCR 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。

#### 【 0189 】

50

シュラーフエンE : 897aa、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】

シュラーフエンF : 358aa；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靈長類または齧歯類からの例えばDIRS4の種同等物を得る。一方では、密接に関連した種DNAプロープ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产生)

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50g/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DIRS4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(50mMトリスベース、pH8.0、10mMのEDTAおよび2mM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Sorval GS-3ローターで13,000rpm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、50mMトリスベースpH8.0中で平衡させたグルタチオン-SEPHAROSEカラム上に通す。DIRS4-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、50mMトリスベース中で平衡させたQ-SEPHAROSEカラム上に通す。DIRS4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アンチカラムと連続して、新たなQ-SEPHAROSEカラム上に再び通す。DIRS4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もよく発現され得る。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USSN60/027, 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)。

10

20

30

40

50

## 【0197】

その他の推定レセプターサブユニットを用いたD I R S 4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A K 1 5 5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2 9 3 T 細胞を、  
例えはN F \_ 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( 例えはHardie, et al . (eds. 1995) *The Protein Kinase Fact Book* v o l s . I and II , Academic Press , San Diego , C A ; 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( 例えはN elson and Martin (eds. 2000) *Cytokines in Pulmonary Disease* Dekker , NY ; Ganster 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】

## (VIII. タンパク質に特異的な抗体)

同系B a l b / c マウスを、組換え形態のタンパク質、例えば精製D I R S 4または安定的にトランスフェクトされたN I H - 3 T 3 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產生する。  
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、B a l b / 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、例えは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ELISAまたはその他のアッセイにより、DIRS4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DIRS4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Colligan(ed. 1991) Current Protocols in Immunology Wiley/Greene；ならびにHarlowおよびLane(1989) Antibodies: A Laboratory Manual Cold Spring Harbor Press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、あるいはパン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Wang, et al. (1993) Proc. Nat'l. Acad. Sci. 90: 4156-4160；Barry, et al. (1994) Bio Techniques 16: 616-619；およびXiang, et al. (1995) Immunity 2: 129-135を参照のこと）。

10  
20  
30

【0205】

さらに、DIRS4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】

(IX. 融合タンパク質の产生)

例えばDIRS4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、FLAGタグ）または2ハイブリッド系構築物と融合する（例えば、FieldsおよびSong(1989) Nature 340: 245-246を参照のこと）。

40

【0207】

エピトープタグを、抗FLAG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、DIRS4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(criticality)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、多数の異なる変形体を生成し、変形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、活性を変更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。

【0209】

あるいは、天然変形体の分析は、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、PCR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】

(XI. 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ほとんど同様に、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。McMahan, et al. (1991) EMBO J. 10: 2821-2832)もまた参考のこと)。10

#### 【0212】

例えば、0日目に、10ng/mlのフィブロネクチンを含有するPBS(1ml/チャンバー)を用いて、室温で30分間、2チャンバーペルマックス(permanox)スライドを予備被覆する。PBSで1回リーンスする。次に1.5mlの増殖培地中で2~3×10<sup>5</sup>細胞/チャンバーで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66μg/mlのDEAE-デキストラン、66\_Mのクロロキンおよび4μgのDNAの溶液0.5ml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で細胞をリーンスする。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 0.5mlを2.5分間添加する。DMEを除去し、DMEで1回洗浄する。1.5ml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。ハンクス緩衝化生理食塩溶液(HBSS)で2回、細胞をリーンスし、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。各チャンバーに関して、0.5mlインキュベーションを以下のように実施する。32\_1/mlの1M NaNO<sub>3</sub>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)/2.5ml HBSS/サポニンを用いる。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H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/5mlの蒸留水(Glass distilled water)を用いる。注意深くチャンバーを取りはずし、水中でスライドをすすぐ。数分間風乾して、次に1滴のCryostal 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。

#### 【0215】

プールの陽性染色を評価し、結合に関する単一遺伝子の単離のために連続的にサブクローニングする。40

10

20

30

40

50

**【 0 2 1 6 】**

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)。

**【 0 2 1 7 】**

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DIRS4 融合構築物の FLAG 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產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

**【 0 2 1 8 】**

哺乳動物 DIRS4 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 FLAG 抗体)は、適切なクローンの特異的標識を可能にする。

**【 0 2 1 9 】**

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考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。

**【 0 2 2 0 】**

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单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

**【 0 2 2 1 】****【表5】**

### 配列同定番号

SEQ ID NO: 1 は靈長類 DIRS4 ヌクレオチド配列である。

SEQ ID NO: 2 は靈長類 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 は靈長類 IFN $\alpha\beta$ 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 は靈長類 TNFx 核酸配列である。

SEQ ID NO: 9 は靈長類 TNFx ポリペプチド配列である。

SEQ ID NO: 10 は齧歯類 TNFx 核酸配列である。

SEQ ID NO: 11 は齧歯類 TNFx ポリペプチド配列である。

SEQ ID NO: 12 は靈長類 TNFy 核酸配列である。

SEQ ID NO: 13 は靈長類 TNFy ポリペプチド配列である。

SEQ ID NO: 14 は靈長類 TLR-L1 核酸配列である。

SEQ ID NO: 15 は靈長類 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 は靈長類 TLR-L2 核酸配列である。

SEQ ID NO: 19 は靈長類 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 は靈長類 TLR-L3 核酸配列である。

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

SEQ ID NO: 24 は靈長類 TLR-L4 核酸配列である。

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

SEQ ID NO: 26 は靈長類 TLR-L5 核酸配列である。

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

SEQ ID NO: 28 は靈長類 TGFx 核酸配列である。

SEQ ID NO: 29 は靈長類 TGFx ポリペプチド配列である。

10

20

30

40

SEQ ID NO: 30 は靈長類 5685C6 核酸配列である。

SEQ ID NO: 31 は靈長類 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 は靈長類 クローティン-D2 核酸配列である。

SEQ ID NO: 35 は靈長類 クローティン-D2 ポリペプチド配列である。

SEQ ID NO: 36 は靈長類 クローティン-D8 核酸配列である。

SEQ ID NO: 37 は靈長類 クローティン-D8 ポリペプチド配列である。

SEQ ID NO: 38 は靈長類 クローティン-D17 核酸配列である。

SEQ ID NO: 39 は靈長類 クローティン-D17 ポリペプチド配列である。

SEQ ID NO: 40 は靈長類 クローティン-D7.2 核酸配列である。

SEQ ID NO: 41 は靈長類 クローティン-D7.2 ポリペプチド配列である。

SEQ ID NO: 42 は靈長類 シュラーヘン B 核酸配列である。

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

SEQ ID NO: 44 は靈長類 シュラーヘン C 核酸配列である。

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

SEQ ID NO: 46 は靈長類 シュラーヘン D 核酸配列である。

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

SEQ ID NO: 48 は靈長類 シュラーヘン E 核酸配列である。

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

SEQ ID NO: 50 は靈長類 シュラーヘン F 核酸配列である。

SEQ ID NO: 51 は靈長類 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 TNFy 核酸配列である。

SEQ ID NO: 53 は齧歯類 TNFy ポリペプチド配列である。

10

20

30

40

50

### 【図面の簡単な説明】

#### 【図 1 A】

図 1 A は、関連 I FN 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 FN 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 FN 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 FN 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 FN 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 FN 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、TNF-x および TNF-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 は靈長類であり、 r は齧歯類である。

【 図 3 】

図 3 A ~ 図 3 F は、靈長類および齧歯類 T L R 様タンパク質配列のアライメントを示す

○

【 図 4 】

図 4 は、靈長類および齧歯類 5 6 8 5 C 6 ポリペプチド配列のアライメントを示す。

【 図 5 】

図 5 A および 5 B は、クローディン ( C l a u d i n ) 相同体 : D 2 ( 配列番号 3 4 ) 、 D 8 ( 配列番号 3 7 ) 、 D 1 7 ( 配列番号 3 9 ) 、 D 7 . 2 ( 配列番号 4 1 ) のアライメントを示す。

〔 四 6 〕

図 6 A ~ 6 F は、シュラーフェン (Schlafenz) 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) のアライメントを示す。

10

【 囮 1 A 】

【 図 1 B 】

|          |  |
|----------|--|
| 組織因子     | WKSSESSG--KKTAKTNTNEFLIDV--DKGENYCFSVQAVIP       |
| 1274993R | WKEGAGN----KVGSFPAPR--LGFLLHPFLRRFFSP            |
| hIFNabR  | KHKPEIK--GNMSGNTFYIIDK--LIPNTNYCVSVEYLHS         |
| CRF2-4   | WKNGTDE--KFQITPQYDFEVLRNLPEWTTYCQVRGFLP          |
| cytor x  | INNSLEKQVKVEGAGRHEAIE-LTPHSSYCVCAEAIYV           |
| cytor7   | LNTKSNR-TWSOCVTNTLHLVLTW--LEPNLTVCHVHESFVP       |
| 組織因子     | SRTVNKRSTDPS-VCECMGQEKG-----FREIFYII             |
| 1274993R | -----SOPAPALPQLEQVFVPHS-                         |
| hIFNabR  | D---EOAVIKS--PLKCTLLPPQGESESASAKIGGIITVFD        |
| CRF2-4   | DR--NKAGEWS--EPVCEQTTHDET-----VPSWMVAVIL         |
| cytor x  | ML--DRRSQRS--EERCVEIP-----GP                     |
| cytor7   | -PRRAQPS-EKQCARTLKDQSSFEFKAKIIFFWVLPIS           |
| 組織因子     | GAVAFVVIIILVIIILAISLHKCRKAG-----                 |
| 1274993R | -----LIALVLTSTIVTLKWIGYICLRLNSLPKVLNFHN--FLAW    |
| hIFNabR  | MASVFMVCLALLGCFSLLWCVYKKT-----KY                 |
| CRF2-4   | -----IT-VFLFSVMGYSIYRYIHVGEKHNPANLILLYGNEFDKR    |
| cytor x  |  |
| cytor7   |  |
| 組織因子     | -----  |
| 1274993R | -----PFPNLNPPLAEAMDMDVEVIYINRKKKWDYNYDDES--DSDTE |
| hIFNabR  | -----AFS-----                                    |
| CRF2-4   | -----  |
| cytor x  | -----  |
| cytor7   | -----FFVPAEKIVINFITLNISDDSKISHQDMSSLGKSSDVSSL    |
| 組織因子     | -----VGQSWK-----EN---                            |
| 1274993R | -----AAPRTSGGGYTMHGHTVRPLGQASATSTESQLIDPSEEEE    |
| hIFNabR  | --PR---NSLPQHHLKEFLGHPHNHNTLFFSFLSDEN--          |
| CRF2-4   | -----  |
| cytor x  | -----  |
| cytor7   | -----NDPQPSPGNLRPPQQEEEVKHLGYASHLMEIFCDSEENTEG   |

FIG. 1A

FIG.1B

## 【図1C】

|           |  |
|-----------|--|
| 組織因子      | -----SP-----                               |
| 1274993R  | PEEDYSSTEGRGGRRITFNVDLNSVFLRVLDDEDSDLEAP   |
| hIFNabR   | -----VFDK-----                             |
| CRF2-4    |  |
| cytor x   |  |
| cytor7    | SLOEEVSTQGTLLESQAALAVLGPOQLCYSYTPQLQQLDP   |
| 組織因子      | -----                                      |
| 1274993R  | PDLPEVDVLELPTMPKDSF-QQLELLSGPCERRKSPLOPDF  |
| hIFNabR   | -----D-----                                |
| CRF2-4    |  |
| cytor x   | TSLTQQESLSRTIIPDKTVIEYEDVRTTDICAGPEEQEL    |
| cytor7    |  |
| 組織因子      | LNVS-----                                  |
| 1274993R  | LMLSSHLEEMVDPEDPDNVOSNHLLASGEG-----TQ      |
| hIFNabR   | LSVIAEDSESG-KQNP-----G-----DS              |
| CRF2-4    |  |
| cytor x   | LAQEHTDSEEGPEEEPPSTTLVDWDPQTGRLCIPSILSSFDQ |
| cytor7    |  |
| 組織因子      | -----                                      |
| 1274993R  | PTFPSPSSEG-----LWSEDAPSQSDTSES             |
| hIFNabR   | CSLGTPPCGQG-----PQS-----                   |
| CRF2-4    |  |
| cytor x   | DSEGCEPSEGDGLEEGGLSRXLXEEPAPDRPGENETYLIM   |
| cytor7    |  |
| 組織因子      | -----                                      |
| 1274993R  | DVDLGDGYIMR---                             |
| hIFNabR   | -----                                      |
| CRF2-4 aa |  |
| cytor x   | QFMEEWGLYVQMN                              |
| cytor7    |  |

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 (74) Agent: SCHRAM, David, B.; Schering Corporation, Patent Dept., R-6-1 1990, 2000 Galloping Hill Road, Kenilworth, NJ 07033-0530 (US).

(21) International Application Number: PCT/US01/28013

(22) International Filing Date:  
7 September 2001 (07.09.2001)

(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, MZ, NO, NZ, PH, PL, PT, RO, RU, SE, SG, SI, SK, SL, TI, TM, TR, TT, TZ, UA, UZ, VN, YU, ZA.

(25) Filing Language: English  
(26) Publication Language: English(30) Priority Data:  
60/231,267 8 September 2000 (08.09.2000) US

(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, 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 4.16:  
— as to the applicant's entitlement to claim the priority of the earlier application (Rule 4.17(iii)) for all designationsPublished:  
— without international search report and to be republished upon receipt of that report

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 02/20569 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. Antibodies, both polyclonal and monoclonal, are also provided. Methods of using the compositions for both diagnostic and therapeutic utilities are provided.

## MAMMALIAN GENES; RELATED REAGENTS AND METHODS

## FIELD OF THE INVENTION

The present invention relates to compositions and methods for affecting mammalian 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 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.

20 For some time, it has been known that the mammalian immune response is based on a 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

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,  
15 sepsis, and cancer situations, is to inhibit the receptor signal transduction. In order to characterize 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.*

25 *Chem.* 267:22752-22758. Often, there are at least two critical subunits in the functional 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.

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.

20 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.

25 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

30 schlafen F (SEQ ID NO:51).

## 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 TNFx and TNFy; Toll-like receptor like molecules designated TLR-L1, TLR-L2, TLR-L3, TLR-L4, and TLR-L5; a TGF related molecule designated TGFX; 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 (TNFx or TNFy); SEQ ID NO: 15, 17, 19, 21, 23, 25, or 27 (TLR-L1 through TLR-L5); SEQ ID NO: 29 (TGFX); 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.

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 Kd to antigen of at least 30  $\mu$ 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

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

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 TNFx and TNFy; Toll like receptor like molecules TLR-L1, TLR-L2, TLR-L3, TLR-L4, and TLR-L5; TGFx; 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., 10 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 25 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 30 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.

- 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 TNFx and primate and rodent forms of TNFy. Features for primate TNFx include: cAMP PKsites 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-GLYCOSYLY 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 TNFx, 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;
- 5 Myristoly sites around 278, 290, 303; N-GLYCOSYLY: 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.
- 10 15 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 (RNHQEFSY), 825(KPQSEPDY); N-GLYCOSYLY 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.
- 20 25 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
- 30 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 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 (NPS), 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

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 (KLMETLMY).

5 Nucleotide and corresponding amino acid sequences for a primate, e.g., human, TGF $\alpha$  coding segment, are represented by SEQ ID NO:28 and 29, respectively. Human TGF $\alpha$  maps to chromosome 5 (clone CITB-H1\_2319M24). Predicted features (SEQ ID NO: 29) include: TGFB 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 15 polypeptide (SEQ ID NO:33) has the following features Predicted features: N-GLYCOSYL 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.

25 As used herein, the term DIRS4 shall be used to describe a protein comprising a 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 mucin 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

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 TNFx, TNFy, TLR-L1, TLR-L2, TLR-L3, TLR-L4, TLR-L5, TGFX, 5685C6, claudins D2, D8, D17, D7.2, and schlafens B, C, D, E, and
- 10 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.

- 15 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
- 20 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.,
- 25 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.

- 30 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.,

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 5 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 10 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 15 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, 20 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, 25 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 30 substrates.

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.

25 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 30 subunit will probably have a specific low affinity binding to the ligand.

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

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 polypeptides 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

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 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 activity.

15 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 under certain circumstances it may involve more classical animal breeding techniques.

20 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

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

(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 as 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, Kanchisa (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

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 5 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 10 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.

15 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, 20 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 25 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 30 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

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 5 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 10 secondary mRNA structure such as loops or hairpins.

10 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 15 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 20 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

25 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.

30 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

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

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 aroyl 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 of 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 25 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 30 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

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 herein by reference. Other gene fusion partners include glutathione-S-transferase (GST), bacterial  $\beta$ -galactosidase, trpE, Protein A,  $\beta$ -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 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 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 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.* 85:2149-2156; 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 variations in amino acid sequence or glycosylation. Such derivatives may involve covalent or aggregative association with chemical moieties. These derivatives generally fall into three

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 5 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 a cytokine receptor, antibodies, or other similar molecules. The ligand can also be labeled with a detectable group, for example radioiodinated by the chloramine T 10 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 15 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 20 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 25 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 30 often use antibodies or antigen binding segments of these antibodies, or fragments attached to

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 20 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 25 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 30 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

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.

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 10 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 15 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 20 recombination.

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 25 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. 1983) 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.

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, 5 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 10 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.

15 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 20 origin, e.g., human, primates, and rodents.

25 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); I<sub>PP</sub> 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 I<sub>PP</sub>-derived Promoters", in *Vectors: A Survey of Molecular Cloning Vectors and Their Uses*, (eds. Rodriguez and Denhardt), Butterworth, 30 Boston, Chapter 10, pp. 205-236, which is incorporated herein by reference.

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

10 dehydrogenase 2 promoter or metallothionein promoter. Suitable vectors include derivatives 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 Ylp-series), or mini-chromosomes (such as the YCp-series).

Higher eukaryotic tissue culture cells are normally the preferred host cells for 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

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 carbodiimidazole 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

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 resins, and the like.

10 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

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  $\mu$ M, typically at least about 100  $\mu$ M, more typically at least about 30  $\mu$ M, preferably at least about 10  $\mu$ M, and more preferably at least about 3  $\mu$ 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  
30      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 binding assays. They will also be useful in detecting or quantifying antigen. They may be

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, 5 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 10 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 15 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; 20 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 25 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 30 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

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; 10 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 15 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 20 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 25 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 30 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

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

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

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.

15      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.

20      Antibodies, including antigen binding fragments, specific for mammalian claudins or sclafens or a peptide fragment, or receptor fragments are useful in diagnostic applications to 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 25     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

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  $^{125}\text{I}$ , 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

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.

10 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

15 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 20 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  $^{32}\text{P}$ . However, other techniques may also be employed, 25 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 30 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

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  
5 (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.

10

### 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  
15 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  
20 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  
25 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  
30 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 5 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, 10 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 medicaments administered. 15 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 20 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 25 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  $\mu$ 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 30 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  
10 physiologically acceptable in the sense of being compatible with the other ingredients and not 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.  
15 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  
20 association with other therapeutic agents, e.g., agonists or antagonists of other cytokine receptor family members.

#### 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

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, Parcc, 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 <sup>125</sup>I-antibody, and a test sample whose binding affinity to the binding composition is being  
15 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<sup>++</sup>; 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<sup>++</sup> 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,

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

#### EXAMPLES

##### I. General Methods

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

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 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 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, 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 hybridization screening of λgt10 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 g/ml of medium), to ensure a posthybridization chromosomal banding of good quality.

A PCR fragment, amplified with the help of primers, is cloned into an appropriate vector. The vector is labeled by nick-translation with  $^3\text{H}$ . 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 NTB<sub>2</sub>), 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 approximately 2  $\mu\text{g}$  of poly(A)<sup>+</sup> RNA per lane, are purchased from Clontech (Palo Alto, CA). Probes are radiolabeled with [ $\alpha$ - $^{32}\text{P}$ ] dATP, e.g., using the Amersham Rediprime random primer labeling kit (RPN1633). Prehybridization and hybridizations are performed at 65° C in 0.5 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 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's 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

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  
10 (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  
15 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  
20 CDC35, resting for 3 weeks after last stimulation with antigen (T207); TH2 T cell clone  
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-JL-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);  
25 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 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);

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- $\gamma$ , 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);

elutriated monocytes, activated with LPS, IFN $\gamma$ , anti-IL-10 for 1, 2, 6, 12, 24 h pooled (M102); elutriated monocytes, activated with LPS, IFN $\gamma$ , IL-10 for 1, 2, 6, 12, 24 h pooled (M103); elutriated monocytes, activated with LPS, IFN $\gamma$ , anti-IL-10 for 4, 16 h pooled (M106); elutriated monocytes, activated with LPS, IFN $\gamma$ , 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 $\alpha$  12 days, resting (D101); DC 70% CD1a+, from CD34+ GM-CSF, TNF $\alpha$  12 days, activated with PMA and ionomycin for 1 hr (D102); DC 70% CD1a+, from CD34+ GM-CSF, TNF $\alpha$  12 days, activated with PMA and ionomycin for 6 hr (D103); DC 95% CD1a+, from CD34+ GM-CSF, TNF $\alpha$  12 days  
10 FACS sorted, activated with PMA and ionomycin for 1, 6 h pooled (D104); DC 95% CD14+, ex CD34+ GM-CSF, TNF $\alpha$  12 days FACS sorted, activated with PMA and ionomycin 1, 6 hr pooled (D105); DC CD1a+ CD86+, from CD34+ GM-CSF, TNF $\alpha$  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 $\alpha$ , 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

(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 $\alpha$  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 $\alpha$ .

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 inflammed tonsil      |         | 26.21   |
| U937 activated          | 26.21 TF1                   |         | 23.48   |
| C-                      | 27 MRC5                     |         | 33.99   |

| LIBRARY                      | Ct_gene                            | LIBRARY | Ct_gene |
|------------------------------|------------------------------------|---------|---------|
| C+                           | 23.13 CHA                          |         | 28.27   |
| mast cell pME                | 28.65 Taq_control_genomic_2        |         | 50      |
| TC1080 CD28- pMBT7           | 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 carmii 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, TNFx 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 TNFx.

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. Peyer's 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    |
| McL 14+ naive T        | 28.16 Braf:ER (-) oligo dT       |         | 38.53   |
| McL14+ TH1             | 29.2 TH1 3 week C57 Bl/6         |         | 23.12   |
| McL 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 (YIL) resting      |         | 27.99   |
| LPS spleen             | 24.04 b.m. DC (YIL) 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   |

| 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<br>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 $\gamma$  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 $\gamma$ .

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   |
| Tc 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   |

| 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 carni 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   |

Table 4 provides TaqMan expression data for rodent, e.g., mouse TNF $\gamma$ .

| 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 + TNFa                 |         | 40      |
| Nippo-infected lung    | 26.98 bEnd3 + TNFa              |         | 40      |
| IL-10 K.O. spleen      | 25.43 bEnd3 + TNFa + 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   |

| 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<br>model     |         | 40      |
| transfer model IBD        | 23.01 TNF K.O. d17 spinal cord<br>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.

5 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. Exptl Med.* 189:1783-1789.

TaqMan primers were designed for all four novel claudin transcripts. These primer 10 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 southerns, 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 20 and without steroid treatment (mean induction = 53x, n=9). In addition, claudin-D2 is also 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 southerns, 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

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, 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, 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

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.*

5 *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 10 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.

15 Expression of schlafgen 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 schlafgens participate in the regulation of the cell cycle. This family is characterized by two splice variants: a short and a 20 long form.

Schlafgen 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.

25 Schlafgen 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.

Schlafgen D: 578 aa, full ORF. The quantitative PCR data for human schlafgen 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 30 (fetal) and disease states (allergic, Ascaris and pneumocystis carni lungs, Crohn's colon, ulcerative colitis, and Psoriasis skin) compared to cell lines.

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  $\mu$ g/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 H<sub>2</sub>O, to lower the conductivity, and passed 30 back over a fresh Q-Sepharose column, alone or in succession with an immunoaffinity

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.

Cotransformation of the DIRS4 with putative other receptor subunits may be 15 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.

Biological assays for receptors will generally be directed to the ligand binding feature 25 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* 30:375-388; 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 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. 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.
- 15 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.
- 20 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
- 25 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)

Proc. Natl. 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.

15

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

30

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 x 10<sup>5</sup> 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 NaNO<sub>3</sub> 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

buffer plus 4 drops DAB plus 2 drops of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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.

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 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.

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.

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 that have been presented herein by way of example.

## 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 (TNFx or TNFy); SEQ ID NO: 15, 17, 19, 21, 23, 25, or 27 (TLR-L1 through TLR-L5); SEQ ID NO: 29 (TGF $\alpha$ ); SEQ ID NO: 31 or 33 (S685C6); SEQ ID NO: 35, 37, 39, or 41 (claudins); or SEQ ID NO: 43, 45, 47, 49, or 51 (schlafens).
- 10 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
  - 15 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;
  - 20 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;
  - 25 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.
- 30 4. A composition comprising:
  - a) a substantially pure polypeptide of Claim 1;

- 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;
- 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;
  - iv) is a polyclonal antibody;
  - v) binds to a denatured antigen;
  - vi) exhibits a Kd to antigen of at least 30  $\mu$ M;
  - vii) is attached to a solid substrate, including a bead or plastic membrane;
  - viii) is in a sterile composition; or
  - ix) is detectably labeled, including a radioactive or fluorescent label.

- 25 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.

20

25

30

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. 10. A method of producing a binding compound comprising:  
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  
c) selecting for a phage display library for those phage which bind to said polypeptide of Claim 1.

11. 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:  
i) an aqueous compound, including water, saline, and/or buffer; and/or  
ii) formulated for oral, rectal, nasal, topical, or parenteral administration.

12. 12. An isolated or recombinant nucleic acid encoding said polypeptide of Claim 1, wherein said:  
a) polypeptide is from a primate; or  
b) said nucleic acid:  
i) encodes an antigenic polypeptide;  
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;

- 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:

- 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.
- 5
17. The nucleic acid of Claim 16, wherein:
- a) said wash conditions are at 45° C and/or 500 mM salt; or
- 10 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.
- 15
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
- 20 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.
- 25
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;
- 30 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,

- 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.

## 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 $\alpha\beta$ R 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 TNFx nucleic acid sequence.  
SEQ ID NO: 9 is primate TNFx polypeptide sequence.  
SEQ ID NO: 10 is rodent TNFx nucleic acid sequence.  
SEQ ID NO: 11 is rodent TNFx polypeptide sequence.  
SEQ ID NO: 12 is primate TNFy nucleic acid sequence.  
15 SEQ ID NO: 13 is primate TNFy 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 TGFX nucleic acid sequence.  
SEQ ID NO: 29 is primate TGFX polypeptide sequence.

- 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.
- 10 SEQ ID NO: 38 is primate claudin-D17 nucleic acid sequence.  
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.
- 15 SEQ ID NO: 42 is primate schlafan B nucleic acid sequence.  
SEQ ID NO: 43 is primate schlafan B polypeptide sequence.
- 20 SEQ ID NO: 44 is primate schlafan C nucleic acid sequence.  
SEQ ID NO: 45 is primate schlafan C polypeptide sequence.  
SEQ ID NO: 46 is primate schlafan D nucleic acid sequence.  
SEQ ID NO: 47 is primate schlafan D polypeptide sequence.
- 25 SEQ ID NO: 48 is primate schlafan E nucleic acid sequence.  
SEQ ID NO: 49 is primate schlafan E polypeptide sequence.  
SEQ ID NO: 50 is primate schlafan F nucleic acid sequence.  
SEQ ID NO: 51 is primate schlafan F polypeptide sequence.
- 30 SEQ ID NO: 52 is rodent TNF $\gamma$  nucleic acid sequence.  
SEQ ID NO: 53 is rodent TNF $\gamma$  polypeptide sequence.

|  |  |
|--|--|
| TissueFactor<br>1274993R<br>hIFNabR<br>CRF2-4<br>cytor x<br>cytor7   | -METPAWPRVPRPETAVARTLLLLGWVFAQVAGASGTTN-T<br>-----MAGPERWGPLLCLLQAAPGRPR-L<br>MLLSQNAFIF--RSNLVLVMYISLUVFGISYDSPDYT---<br>-----MAWSLGSWLGGCLLVSALGMV---<br>--MMP-----KHCFLGLFLISFFLTGVAGTQSTHES---<br>-MRAPGRPAL--RPLPLPPLLLLAAAPWGRAVPCVSGGL                          |
| TissueFactor<br>1274993aaR<br>hIFNabR<br>CRF2-4<br>cytor x<br>cytor7 | VAAYNLTKSTNFKTIWEWPK---PVN-QVYTVQISTKS<br>APPQNVTLLSQNFNSVYLTLWLPGLGNPQD-VTYFVAYQSSP<br>DESCTFKISLRNFRSILSWE-IKNHSIVPTHTLYTIMS<br>PPPEVNVRMNSVNFKNIQWESPFAFKGN-LTFTAQYLSY-<br>LKPQRVQFQSRNFHNILQWQPGRALTGNSSVYFVQYKIYG<br>PKPANITFLSINMKNVLQWTPPEGLQGVKVTVYTVQYFIYG    |
| TissueFactor<br>1274993R<br>hIFNabR<br>CRF2-4<br>cytor x<br>cytor7   | --GDWKSK--CFYTTDTECDLTDEIVKDVQTYLARVFSY<br>TRRRWREVEECAGTKELLCSMMCLKKQDLYNKFKGRVRTV<br>KPEDLKVVKNANCANTTRSFCDLTDEW--RSTHEAYVTVLEG<br>--RIFQDK--CMNTTILTECDFSSL-SKYCDHTL--RVRAE<br>-QRQWKNKEDCWGTQELSCDLTSET-SDIQEPYYGRVRAA<br>-QKKWLNKSBCRNINRTYCDLSAET-SDYEHQYYAKVKAI |
| TissueFactor<br>1274993R<br>hIFNabR<br>CRF2-4<br>cytor x<br>cytor7   | PAGNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQ<br>SPSSKS-----PWVSESYLDYLFEVEPAPP-VLVLTQ<br>FSGNTT-----LFSCSHNFWLAIOMSFPEPP-EFEIVG<br>FADEHS-----DWVNIT-FCPVDDTIIGPP-GMQVEV<br>SAGSYS-----EWSMTPRFTPWWETKIDPP-VMNITQ<br>WGTKCS-----KWAESGRFYPFLETQIGPP-EVALTT                 |
| TissueFactor<br>1274993R<br>hIFNabR<br>CRF2-4<br>cytor x<br>cytor7   | VGTKVNVTVEDERTLVR-RNNTFLSLRDVFGKDLYTLYY<br>T-EEILSANATYQLPP-----CNPPLD---LKYEVAF<br>FTNHINVVVKFPSIVE---EELQFDLSIVIE-EQSEGIVK<br>LADSLHMRFLAPKIBN---EYETWTMKNVYN-SWTYNVQY<br>VNGSLLVILHAPNLPYRYQKEKNVSIEDYY--ELLYRVFI<br>DEKSISVVLTAPEKWKRNPEDLPVSMQQIYS-NLKYNVSV       |

FIG.1A

|              |  |
|--------------|--|
| TissueFactor | WKSSSSG-KKTAKTNTNEFLIDV--DKGENYCFCSVQAVIP  |
| 1274993R     | WKEGAGN-----KVGSSFPAPR--LGPLLHPFLLRFSP     |
| hIFNabR      | KHKPEIK---GNMSGNFTYIIDK-LIPNTNYCVSVYLEHS   |
| CRF2-4       | WKNNGTDE--KFQITPQYDFEVLRNLEPWTYYCVQVRGFLP  |
| cytor x      | INNSLEKEQKVYEGAHRAVEIEA-LTPHSSYCVVAEIYQP   |
| cytor7       | LNTKSNR-TWSQCVTNHTLVLTW-LEPNLYCVHVESFVP    |
| TissueFactor | SRTVNRKSTDs-PVECMLQEKGE-----FREIFYII       |
| 1274993R     | -----SQPAPAPLLQEVPPVHS-----                |
| hIFNabR      | D---EQAVIKS-PLKCTLPPGQESESAESAKIGGIITVF    |
| CRF2-4       | DR--NKAGEWS-EPVCEQTTHDET-----VPSWMVAIL     |
| cytor x      | ML--DRRSQRS-EERCVEIP-----                  |
| cytor7       | GP--PRRAQPS-EKQCARTLKQDSEFKAKIIFWYVLPIS    |
| TissueFactor | GAVAFVVIIILVIIILAISLHKCRKAG-----           |
| 1274993R     | -----                                      |
| hIFNabR      | LIALVLTSTIVTLKWIGYICLRLRNSLPKVLNFHN---FLAW |
| CRF2-4       | MASVFMVCLALLGCFSLLWCVYKKT-----KY           |
| cytor x      | -----                                      |
| cytor7       | IT-VFLFSVMGYSIYRYIHVGKEKHPANLILIYGNEFDKR   |
| TissueFactor | -----                                      |
| 1274993R     | -----                                      |
| hIFNabR      | PFPNLPPPLEAMDMVEVIYINRKKKVWDNYDDES-DSDTE   |
| CRF2-4       | AFS-----                                   |
| cytor x      | -----                                      |
| cytor7       | FFVPAEKIVINFITLNISDDSKISHQDMSLLGKSSDVSSL   |
| TissueFactor | -----VGQSWK-----EN---                      |
| 1274993R     | -----                                      |
| hIFNabR      | AAPRTSGGGYTMHGLTVRPLGQASATSTESQLIDPESEE    |
| CRF2-4       | --PR---NSLPQHLKEFLGHPHHNTLLFFSFPLSDEN---   |
| cytor x      | -----                                      |
| cytor7       | NDPQPSGNLRPPQEEEEEVKHLGYASHLMEIFCDSEENTEG  |

FIG.1B

WO 02/20569

3/19

PCT/US01/28013

|              |   |        |
|--------------|---|--------|
| TissueFactor | -----                                     | SP     |
| 1274993R     | -----                                     |        |
| hIFNabR      | PEEDYSSTEGSGGRITFNVDLNSVFLRVLDDEDSDDLEAP  |        |
| CRF2-4       | -----                                     | VFDK   |
| cytor x      | -----                                     |        |
| cytor7       | SLQEEVSTQGTLLESQAALAVLGPQLQSYTPQLQDLDP    |        |
| TissueFactor | -----                                     |        |
| 1274993R     | -----                                     |        |
| hIFNabR      | PDLPEVDVELPTMPKDSP-QQLELLSGPCERRKSPLQDPF  |        |
| CRF2-4       | -----                                     | D----- |
| cytor x      | -----                                     |        |
| cytor7       | TSLTQQESLSRTIPPDKTVIEYEYDVRTTDICAGPEEQEL  |        |
| TissueFactor | LNVS-----                                 |        |
| 1274993R     | -----                                     |        |
| hIFNabR      | LMLSSHLEEMVDPEDPDNVQSNHLLASGEG-----TQ     |        |
| CRF2-4       | LSVIAEDSESG-KQNP-----G-----DS             |        |
| cytor x      | -----                                     |        |
| cytor7       | LAQEHTDSEEGPEEERPSTTLVDWDPQTGRLCIPSLSSFDQ |        |
| TissueFactor | -----                                     |        |
| 1274993R     | -----                                     |        |
| hIFNabR      | PTFPSPSSEG-----LWSEDAFPSDQSDTSES          |        |
| CRF2-4       | CSLGTPPGQG-----PQS-----                   |        |
| cytor x      | -----                                     |        |
| cytor7       | DSEGCEPSEGDSLGEEGLLSRLXEEPAPDRPPGENETYLM  |        |
| TissueFactor | -----                                     |        |
| 1274993R     | -----                                     |        |
| hIFNabR      | DVDLGDGYIMR---                            |        |
| CRF2-4 aa    | -----                                     |        |
| cytor x      | -----                                     |        |
| cytor7       | QFMEEWGLYVQMEN                            |        |

FIG.1C

|        |     |   |          |   |
|--------|-----|---|----------|---|
| pTNE-x | 1   |   | AGREGEE- | 7 |
| rTNE-x | 1   | MWAWGWAIAAALLM!QTAQAGARQELKKSRQFARVDSNPNTTSNREGFPG    | 50       | 0 |
| pTNE-y | 1   |   |          |   |
| pTNE-x | 8   | ---PSOASGPFEFSDAHM!WLNFYRPPDGALKRKCGSRDKKPR--DLFG     | 51       |   |
| rTNE-x | 51  | SVRKPEASGPPELSDAHM!WLNFYRPPDGALKRKCGSRDKKSRG!SLPG     | 100      | 0 |
| pTNE-y | 1   |   |          |   |
| pTNE-x | 52  | PPGPPG-----AEVTAETLHEFQEELLKEATERFSGGLDPLPQG          | 92       |   |
| rTNE-x | 101 | PPGPPGPPGPPGSPGVGTVPEAL!QEFQEELLKEATELLRFSGLDPDTLIPQE | 150      | 0 |
| pTNE-y | 1   |   |          |   |
| pTNE-x | 93  | RGLRLVGEFAFHCRLGPRVDRKRTLVLHFOAPAQGAFLRGSGLSLAS       | 142      |   |
| rTNE-x | 151 | PSQRIVVTEAFYCRLKGPVLDKKTTLVLELQGFOAPPTQAFLRGSGLSLSL   | 200      |   |
| pTNE-y | 1   | HELGYYYLPPDAEAFRRGPGLNLTS                             | 25       |   |
| pTNE-x | 143 | GRFTAPVGIGFQSASLHVHDSELQKAULRARDYCVCLICIESLCQHRT      | 192      |   |
| rTNE-x | 201 | GRFTAPVSAIFQSASLHVHDSELQGRGLRTRDMVRVCLICIESLCQHRT     | 250      |   |
| pTNE-y | 26  | GOYRAPYAGFYALAATLHVALGEPRRGPRPDILRLICIQSRQRNT         | 75       |   |
| pTNE-x | 193 | CLEAVSGLESNSRVFTLQVQGLLQAGQYASVFTDNGSGAVLTIOAGSS      | 242      |   |
| rTNE-x | 251 | SIEAVSGLESNSRVFTVYQVGLLHQSGOVSFVDNSGAVLTIONTSS        | 300      |   |
| pTNE-y | 76  | SLEATMGLESSSELFITSVNGVLYLQMONTSWACERPP-QALPLRGKWS     | 124      |   |
| pTNE-x | 243 | FSGLLIGT  | 250      |   |
| rTNE-x | 301 | FSGMLIGT  | 308      |   |
| pTNE-y | 125 | TDLDNVWTYSE   | 135      |   |

FIG. 2

|          |  |                               |
|----------|--|-------------------------------|
| TLRL1_HU | -----MLSG----VWFESYLTVAGILOTES                                     | -----RKTAKDICKIRCEKEERENVLIN  |
| TLRL2_HU | -----MIQT---LAPAVTSVLISCAET  | -----IDYGEBCIDNAOPCEEKGILITVS |
| TLRL4_HU | -----MFNW---FELLSALISSTNA  | -----SDISVEICN-TCSVSYENVLYVN  |
| TLRL3_HU | MKPSTAEMHGRGMWILLISTIALGWTPLIEDSE                                  | -----VLISSRGSCDSLONCEERDGMLIN |
| TLRL5_HU | * : -----MEKIWIHLFYSSILACISHSQTP-----                              | *                             |
|          |  | :                             |
| TLRL1_HU | CENKGETTYSLLPOPORYOLFINGNLTRLYPNEFVNYSNATLHNGNGLQEIITGA            |                               |
| TLRL2_HU | CENGILISGEISPPREPITYHLLSGNLANKLPNEFVNYSNATLHNGNGLQEIITGA           |                               |
| TLRL4_HU | CEKVSYREPNOLKKPPWSNFYHLLFQNNEFLYPTNTLNFSHAVSLHGNNKLNQDIEGGA        |                               |
| TLRL3_HU | CDSFGFTNSQITEFWSPRFKLQLQNSMRKLYTNSTHLNNAVSINTGNNALQDITGA           |                               |
| TLRL5_HU | CEAKGKRMSEISVPPSPRPFOISLNINGLIMLHTNDFSGLTNAISHLGENNIADEIGA         |                               |
|          | *  | **                            |
| TLRL1_HU | * : .. * : .. * : .. * : .. * : .. * : .. * : .. * : .. * : .. *   |                               |
| TLRL2_HU | FSGIKTKRLHNNNNKLEILREDTEFLGLESLEYLOADNNYISAIEAGAFSKLNKLKVIL        |                               |
| TLRL4_HU | FHGRLGLRRLHNNNNKLEILRDTTEFLGLENLEYLOADNNYISVTEPNAGKLHLLQVIL        |                               |
| TLRL3_HU | FLGSALKQHLLNNNNELKLERADTEFLGLENLEYLOADNNYIKYIERGFENKLHKLKVLIL      |                               |
| TLRL5_HU | ENGKILKRLKYLHENKLDVPERNDTEFLGLESLEYLOADNNVIRRIESGFRNLSSKLRLVIL     |                               |
|          | * ** * : * : * .. * .. * : .. * : .. * : .. * : .. * : .. * : .. * |                               |

FIG. 3A

TLR1\_HU NDNLISLPSNVERFVLLTHLDLRGNRLKVMPPAGGLEHIGG-IMEIOLLEENPMNCITCDL  
 TLR2\_HU NDNLISLPSNLFRLPLTHLDLRGNRLKLLPVGLLQINDK-VVFLQLEENPMNCITCDL  
 TLR4\_HU NDNLISLPSDNLFREASLTHLDLRGNRLQKLPIYGVLEHIGR-VVFLQLEEDPMNCITCDL  
 TLR3\_HU NDNLIPMLPTNLFKAWSLTHLDLRGNRLKVLFRGMLDTIGRSIMELOLEENPMNCITCEI  
 TLR5\_HU NDNATESLPPNLFRFVPLTHLDLRGNQLQTLPVGFLEHIGR-TIDLQLEDNKWAQNCDL  
 \*\*\* : \* \* : \* : . \* \* \* : \* \* : \* : \* : \* : \* : \* : \* : \* : \* : \* : \* :  
  
 TLR1\_HU LPLKAWILDIT--VVFGETIVCETPERLHGKDVTQLTQDLCPRKSASDSSORGSHADTHY  
 TLR2\_HU ISLKDWLDISIYSALVGDPUVCTPERLGRDLDEVSQKOLCPRLJSDYMRPQTPLSTT  
 TLR4\_HU LPLKAWLENMPNTYIIGEAICETPSDLYGRILKETINKQELCPCMGTGSDFDVR-ILLPSQL  
 TLR3\_HU VOLKSMERIPTAIVGDTICETPEFHFGKDRERIKTELCPLISDSEVZASLGIPHSSS  
 TLR5\_HU LQKTYWLENMPFQSIIQHUVCVNSPFFFKGSILSRLIKESTCPTPPVEEHED---PSGS  
 : \* \* : \* : \* : \* : \* : \* : \* : \* : \* : \* : \* : \* : \* : \* : \* : \* :  
  
 TLR1\_HU ORLSPT---MNPAIN----PTRAFAASRP-P-KMNRNPPTPR-VTVSKDRQSF  
 TLR2\_HU GYLHTTPASVNSVATSSA---VYKTPPLKPKPGTQPKPRTSROPSKDLGYSNY  
 TLR4\_HU ENGYTPNGHTQTS---LHLRVTKPEKTINPS---KISGIVTAGKALSNRNL  
 TLR3\_HU SKENAWPTKPSMMLSYHTFTASSVEYKESNSNKOPEKTOP---RTBRPPSTSQALYPGNO  
 TLR5\_HU LHAAASSSINDRMS---TKTTS1LKLP-----TRAPGL  
 : . . . .

FIG. 3B

FIG. 3C

|          |  |
|----------|--|
| TLRL1_HU | HFSHLPKGYLDQLPAFIQIDLQENPWDCCTCDIMGKDWTEHANSPTLINEVTCESPAKH    |
| TLRL2_HU | HETSLPVSGYLDQLSLQIDLHDNMPWDCTCDIVGMLWVEQKLKVGVLYDEVICKAPRKEF   |
| TLRL4_HU | KEMYLPLVSGYLDQLQSLTQIDLEGPNWDCTCDIVALKLWEEKLSDGIVVKELKCTTPQF   |
| TLRL3_HU | YFYLPLVAGVLEHNMATYQDILNENPWDCCTCDIVPKWIELTSSSVSTYVGDVLCRSPENL  |
| TLRL5_HU | QFTHLPVSNLFLDDLDLITQDLEDNWDCSDCDLVGLQWIKQLSKNTYDDILCTSPGHIL    |
|          | * *** . : * : * *** . : * : * *** . : * : * : * : * :          |
| TLRL1_HU | AGEIILKFGEAACPD-----SPNLSDGTVLSMHNNTDPRSLSVS--PSSYPELH--       |
| TLRL2_HU | AETDMRSISSELICPYSQDWWVSTPPPSIOPARTAVTPAVRLNSTAAPSAGGGAA        |
| TLRL4_HU | ANIEIIRSLKNEILCPW-----LLNKESAPFTSPAPALTTTPIGPIRSEPGG--         |
| TLRL3_HU | THRDYRTIELEVLCPE-----MLHVAPAGESPAQEDDSHLIGAPTSASAPYEFPSPG--    |
| TLRL5_HU | DKKELKALNSETILCPG-----LVNNPNSMPTQSYLMVTTPATTTNTADTILRSLT       |
|          | : : : : * : * : * :  |
| TLRL1_HU | TEVPLSLVLIGLIVVETILSVCAGLTVFVLKRR-KGTPSPVRNTNNLDVSSFQIQLQSY    |
| TLRL2_HU | SSVPLSLVLISLIVVETIMSVFAAAGLTVFVLKRR-KKNOSDTSTNNSDVSSFENIOYSV   |
| TLRL4_HU | -PVPLSLVLISLIVVETISETVFAAAGLTVFVLKRR-KKPTVKHECLGNPUCGSMQJQLRKH |
| TLRL3_HU | GPVPLSLVLISLIVVETISETVFAAAGLTVFVLKRR-KKPTVKHECLGNPUCGSMQJQLRKH |
| TLRL5_HU | DAVPLSLVLIGLIVVETISETVFAAAGLTVFVLKRR-KKPTVKHECLGNPUCGSMQJQLRKH |
|          | * *** . : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * :              |

### FIG. 3D

|          |   |
|----------|---|
| TLRL1_HU | N-----TEHDK-----TDGHVNYIIPPPVGOMCQNPYMOKEGDPVAYR              |
| TLRL2_HU | GGGGGTGGPHPAHYTHRGPAKPVTKPAGHVEIYPHPLGMCKNPTYSREGNSVEDYK      |
| TLRL4_HU | D-----HKTNK-----DGLSTEAFIQTIEOMSKSHTCGLKESETGEMES             |
| TLRL3_HU | FEDGGGGGGGGGGGRPTLSSPEKA                                      |
| TLRL5_HU | G-----HKTTHTE-----REPSASLYEQHMVSPMVHVRSPSPFGPKHLEEEERN        |
|          | : : : : :   |
| TLRL1_HU | NIQE-----FSYN-----LEEKKEEP-----                               |
| TLRL2_HU | DIHE-----LKTYSSNNHILQQQQFPPPPQOPQQQ-----                      |
| TLRL4_HU | DPPG-----QKVMRN-----VADKERDLH-----                            |
| TLRL3_HU | AQFAGSAERGGPCTOPGMGEALIGEQFAETPKENHSNYRTILLEKEREWALAVSSQLN    |
| TLRL5_HU | EKEG-----SDAKHLQRSLLEQENHS-----                               |
|          | : : : :   |
| TLRL1_HU | -----ATPASYTISATELKE-----QATP-----REPELLYONIA                 |
| TLRL2_HU | --PPQLQIOPGEERRESHHLRSPAYSVSTIEPRED-----LLSPV-----QDADEFYRGIL |
| TLRL4_HU | -----VDTIKRKLSTIDDE-----LFP-----RDSNTYTIONFL                  |
| TLRL3_HU | TIVTYNNHHHHHPAYGVGSGYGGGCDLAGRHHERNGGVVLFPPGGCGSGSMILDRE      |
| TLRL5_HU | -----LTGSNNKRYKTTNQSTE-----FLS-----EQDASSLYRNIL               |
|          | : : : :   |

FIG. 3E

WO 02/20569

10/19

PCT/US01/28013

|          |   |   |   |     |
|----------|---|---|---|-----|
| TIRL1_HU | ERVKELPS--AG--IIVHYN--FCTLPKQFAA PSEYSSRRQNO-----DRINKTIVLYGT | * | : | *** |
| TIRL2_HU | EPDKHCSTTPAGNLSPLPEYTFKPCSPAAVTSPTDYLRRPHOYLHPGAGDSRPPVLSPP   |   |   |     |
| TIRL4_HU | HSKTVYEQR-KSEYFEKLAKLOSSPBDYLOYLECQALNKI                      |   |   |     |
| TIRL3_HU | ERKGFTDHQTKSSTYFEDEALKLNHQAEPDYLEVLEYTYRF--                   |   |   |     |
| TIRL5_HU | PRKVLYEQT-FKSYEFLKANLHQAEPDYLEVLEYQQT-----                    |   |   |     |
| .        | .   | * | : | *** |
| TIRL1_HU | PRKCFCYQOS-KPNHPLQAOQPOSEPDYLEVLEYKOTAIQL                     |   |   |     |
| TIRL2_HU | PSAVFTFEN-RNVEYLEEAKLNVEPDYLEVLEYKQTFSQF                      |   |   |     |
| TIRL4_HU | HSKTVYEQR-KSEYFEKLAKLOSSPBDYLOYLECQALNKI                      |   |   |     |
| TIRL3_HU | ERKGFTDHQTKSSTYFEDEALKLNHQAEPDYLEVLEYTYRF--                   |   |   |     |
| TIRL5_HU | PRKVLYEQT-FKSYEFLKANLHQAEPDYLEVLEYQQT-----                    |   |   |     |
| .        | .   | * | : | *** |

FIG. 3F

WO 02/20569

PCT/US01/28013

FIG. 4

|      |     |  |     |
|------|-----|--|-----|
| D2   | 1   | MASLGQLVGYTIGLGLLGTIVAMILLPSMKDSSYVGASIVTAVGFSKCL  | 50  |
| D8   | 1   | MATHALEIAGIFLGGYGMVGTAVTMQWRVSASFENNIVVFNFWEGL     | 50  |
| D17  | 1   | MAFPPLQIAGLVLGFQMGVGLATLTLPOWRYSAFVGSNTIVVERIJWEGL | 50  |
| D7.2 | 1   | MAVTAQCGLGRFVVSLLGAGTAACTCMAQWSTDLY-NNPVTAVENYQGL  | 49  |
|      | **  | **   | **  |
| D2   | 51  | WMECATHTSGITQCDITYSTLILGPADLQGAQMVTSSAIIISLACIISVV | 100 |
| D8   | 51  | WMNCYRQANIRMCKYDSSLALSPDLOQARGIMCAASWMSLEAFMML     | 100 |
| D17  | 51  | WMNCIRQARVNLLOCKTYSLLALPPALETARALMCVAYAVSLTALLIGIC | 100 |
| D7.2 | 50  | WRCYCRESSGGTECRGYFTLGLPGKQ-----VSGMLEGEI           | 86  |
|      | *   | *  | *   |
| D2   | 101 | GMRCTYFCQES-RAKDRVAVAGGVFFILGLLGFPIYAWNLHGTLRDFY   | 149 |
| D8   | 101 | GMKCTRCTGNEKVRKHLILPAGINLITGMVGANPYNLVSNATIRDFT    | 150 |
| D17  | 101 | GMKQVQCTGSNERAKAYLLGTSVLIPIVSWTANILIRDYN           | 150 |
| D7.2 | 87  | GG-----GEE-----TAGSWAPQGLGRE-----ELRVFDRGN         | 117 |
|      | *   | *  | *   |

FIG. 5A

WO 02/20569

13/19

PCT/US01/28013

|      |     |  |     |
|------|-----|--|-----|
| D2   | 150 | PLVPDSMKFEEIGEALYLGISSLFLSLLAGILLCFCSSQRNRSNNYDAYQ | 199 |
| D8   | 151 | PIVNAQREIGEALYLGISSLFLSLLAGILLCFCSSQRNRSNNYDAYQ    | 200 |
| D17  | 151 | PAHIGQKRELGAALFLGWSAAVLPIGGGLCFCNCNEKESSYRSTIP     | 200 |
| D7.2 | 118 | SHLHQGG-----RE-----P                               | 130 |
|      | *   | IGG-----*  |     |
| D2   | 200 | AQPLATRSSSERAGOPKVKEEFNSYSLSLTGVY                  | 230 |
| D8   | 201 | SHRTIQKSYHTGK-----KSPSVTYSRSQIV                    | 225 |
| D17  | 201 | GYRVEHTDKRRN-----TTMILSKTSTSYY                     | 224 |
| D7.2 | 131 |  | 130 |

FIG. 5B

WO 02/20569

14/19

PCT/US01/28013

|   |    |   |       |
|---|----|---|-------|
| B | 1  | MESLSKIDTEMPPEVIVDVGRTYFGEENRKMTINSCLKRSENSRIRRA      | 48    |
| C | 1  | MEANHCSLGYPPSPDPLVLDVGTEVTLGEENRKKLCKTOKTQ-ERARVIRA   | 49    |
| D | 1  | MNISVLDLTENATLVLDVGRVTLGCTQRMNDPKLKRRKQNRVSRA         | 47    |
| E | 1  | MSLRIDVDTNFPECVVDAGKVTLGQTQRQMDPRLKEK-QNEVRMRA        | 46    |
| F | 1  | MEANQCPLYVEPSYPDPLVNGEENRKKLCKTOKTQ-EREVRMRA          | 49    |
|   | *  | *****   | ***** |
| B | 49 | ICALLNSGGGVIAKEIIDDKTTSYQQCHGLGODLETSFQLLPS-GSCKYLD   | 97    |
| C | 50 | ACALLNSGGGVIAOMEANR - DERTENGMGLDIESSLRKLQIOPYPLQAFFE | 97    |
| D | 48 | MCAALLNSGGGVIAKEITENDSYTKTDGIGDLLENSFSNLFL-VP-EYLD    | 95    |
| E | 47 | VCAALLNSGGGIKRAIE-----NGNYNERHVGVLDPPIERSHLD          | 87    |
| F | 50 | ACALLNSGGGVIAINAKK -----VHEHFMGLDLEQSLRELIQSSDQAFFE   | 95    |
|   | *  | *****   | ***** |
| B | 98 | YMOOGHNLLIEFKWSWSPD----VFSLPLRITCSLRSNLNYRDRVTSAINLSA | 143   |
| C | 98 | TKDQGRCFYLFIKVWSGDPELKDGGSFNSRLCSSLSSLYCRSGSTYLMNS    | 147   |
| D | 96 | FMONGNYELIEFKWSM-----INTSGRLITLSSNLNYRDRITSAKVMNA     | 139   |
| E | 88 | KMOKENHFLIEFKWSWNTAEVP-----LATLICNLNYRERETSTDYMDS     | 130   |
| F | 96 | TKDQGRCFYLFIKVWSGSGFPEDRSVKPRICLSSSLSSYRTRSTSRMDS     | 145   |
|   | *  | *****   | ***** |

FIG. 6A

|   |   |     |   |          |         |
|---|---|-----|---|----------|---------|
| B | B | 144 | SSALELLEKQFRQAQRPRVKKLHPQQYLNRCTQEEEDMR-            | -----    | ILA 187 |
| C | C | 148 | ROFDEFLKTKR-OSKYKLINEGSEPSKIMKAYONTISEEN-----       | -----PA  | 189     |
| D | D | 140 | TAALIEFLD---MKTGRPLYLRLPPLLAREPCVDIENNMR-----       | -----    | 181     |
| E | E | 131 | QEALFLAKRT---QTPTNIVNSLPIGLQDAQGTYQEYGNIN-----      | -----VSA | 172     |
| F | F | 146 | REFEFLKTR---KPKLLEEG-FHKHKGTVYQELNSDPAFDNSDPA       | 190      | *       |
|   |   | *   | *   | *        | *       |
| B | B | 188 | SEFFRKDLINYKEKLNFNSTHBYEKFRTTKKVLFRIKEMLPHYSAFAN    | 239      |         |
| C | C | 190 | YEYFQDTDIEYGETLSSPEPSLIEBKOFSTKHFOCQYENILPEITSAFAN  | 239      |         |
| D | D | 182 | GVEFDRTELDRKKLTFETESTWVTKKFNESTEKLQJRIKEKLPOVYSAFAN | 231      |         |
| E | E | 173 | AALFDRKLQYLEKLNLPSHTHEVMFST-DVSHCVKDLRPLPKCYSAFAN   | 221      |         |
| F | F | 191 | DLFQDKDLYEGETLPFESQVLEKKHFQEQYVKRTIPEYVPAFAN        | 240      | *       |
|   |   | *   | *   | *        | *       |
| B | B | 238 | TQGGYLVLGDDKESKEYVGCKMEWKYNPLIJKELENCLEKLPTFEFCCEK  | 287      |         |
| C | C | 240 | TEGGYLFVGDYDDKSRSRKLGCAGEODPDSLKVNTRAIASKLPIVIFCCKS | 289      |         |
| D | D | 232 | TDGGYLFIGINED-KELIGFKAENSDDLEREFLKSTIKMPVHFCMEK     | 280      |         |
| E | E | 222 | TEGGYVFEGYHDTCQVTCCEKEKDLDTSRASIDGICRKLPVHFFCTOR    | 271      |         |
| F | F | 241 | TEGGYLFXGVGDYDDKSRSRVLGKCNXDPDSLRXKTXAIXYKLKPFQCPQ  | 290      | *       |
|   |   | *   | *   | *        | *       |

FIG. 6B

|   |     |  |     |
|---|-----|--|-----|
| B | 288 | PKYNTFTKLINTYQKDVLGIVYCIVTQVEPECCVYEAEPDSWIMKDNSTV     | 337 |
| C | 290 | PRVEYSTKIVEVEFGKEKGKLYGLYCEVKVRAFCVVYSEAPESSWIVREYKIR  | 339 |
| D | 281 | KTEINYSCKEFLNKFGLDGSILGIVCAFEVCAFEPESSWIVREYKIR        | 330 |
| E | 272 | PELKYKVNLFELVHDKGALRGYCAKVKERFCAFEVCAFEPESSWIVREYKIR   | 321 |
| F | 291 | RPTFTFLKIVDVLKRGLELGYACMIRVNPECCVAYESEAPESSWIVREYKIVC  | 340 |
| B | 338 | RITAEPQWYMMLDIQ  | 352 |
| C | 340 | PLTTNEWEVKMDADPEFPDDEAFAEEPSQLSLSDPSICRPySKKGLEH       | 359 |
| D | 331 | QLTTRKENTQFMVTAEPKFS-SSTYEIVSQTNTLAFPHWPLL---EW        | 374 |
| E | 322 | QLPRTREWTAWMEDAPDLS--RCBEMVQIQLISSSATPRSKPVCHNKNSC     | 369 |
| F | 341 | SUTTEKRYGMMTIDPDLL-OLSEDFFECQSLSSCPPELSRPVYSKKGLEH     | 389 |
| B | 353 | -----SGRK  | 357 |
| C | 390 | KADLQHQFLFPVPPGHLECTPESIWLKEELSLOHEGIGKELTHKMRPFSQGTIV | 439 |
| D | 375 | QR---QKRHRCPGLSERVITYTPENLRLKLFQHGKOLICLIMDTRPSQGTL    | 422 |
| E | 370 | LKEQKRRCPVPSERVITYTPENLRLKLFQHGKOLICLIMDTRPSQGTL       | 419 |
| F | 390 | KRLQQLLFLSVPPGILRTPESIWLRLSEHGRGLEELINQKMQPFRGIV       | 439 |

FIG. 6C

|   |     |   |     |
|---|-----|---|-----|
| B | 358 | ILSRSAVDLNLQEKPGVTCIDALLIAQNSTPILYTLREQDAEGDYCTR    | 357 |
| C | 440 | ILSRSAVDLNLQEKPGVTCIDALLIAQNSTPILYTLREQDAEGDYCTR    | 489 |
| D | 423 | IFSRSMWSVDLGLQENHVKVLCDALLISQSPPVLYTFHMYCDEEFRGYSTQ | 472 |
| E | 420 | IFSQSWAVDGLHQERQGVTCIDALLISQNTPILYTLFSKWDAGCKGYSMT  | 469 |
| F | 440 | ILSRSAVDLNLQEKPGVTCIDALLIAQNSTPILYTLREQDAEGDYCTR    | 489 |
|   |     |   |     |
| B | 358 | TAFTLKQKLVNMGGYTGRKVCRAKVILCSPESSAEALEAAVSPMDYPASY  | 357 |
| C | 490 | TAFTLKQKLVNMGGYTGRKVCRAKVILCSPESSAEALEAAVSPMDYPASY  | 539 |
| D | 473 | TAFTLKQKLAKIGGYTRKVCNMTKIFYLSPEG-----               | 504 |
| E | 470 | VAYSLRQKLVNRGGYTERLCLTIPLVCVLNSDRKAQSVTSSY-LOYPESY  | 518 |
| F | 490 | TAFTLKQKLVNMGGYTGRKVCRAKVILCSPESSAEALEAAVSPMDYPASY  | 539 |
|   |     |   |     |
| B | 358 | SLAGTOHMEALIJSLSVIVLGLFRSLLSDOLGCEYLNLLTAQOYEIFSRSL | 357 |
| C | 540 | SLAGTOHMEALIJSLSVIVLGLFRSLLSDOLGCEYLNLLTAQOYEIFSRSL | 589 |
| D | 505 | -----MTSCQYDILRSQV-----                             | 517 |
| E | 519 | NFMTPQHMEALIJSLSVIVLGLFRSFLSELGSEVNLNLTNKOVELLSKNL  | 568 |
| F | 540 | SLAGTOHMEALIJSLSVIVLGLFRSLLSDOLGCEYLNLLTAQOYEIFSRSL | 589 |

**FIG. 6D**

|   |     |                                   |                      |        |     |
|---|-----|-----------------------------------|----------------------|--------|-----|
| B | 358 | RKNRELFVHGLPGSGKTTIMAKIMEKIRNVFHC | AHRILYVCENQPLRN      | F      | 357 |
| C | 590 | RKNRELFVHGLPGSGKTTIMAKIMEKIRNVFHC | AHRILYVCENQPLRN      | F      | 639 |
| D | 518 | YPESYYFTRKYLLKALFKALKRKLRSRDFSP   | AEANLYQIIG-----      |        | 559 |
| E | 569 | RKTRELFVHGLPGSGKTTIMAKIMEKIRNVFHC | EPANTLYICENOPLKKL    |        | 618 |
| F | 590 | RKNRELFVHGLPGSGKTTIMAKIMEKIRNVFHC | AHRILYVCENQPLRN      | F      | 639 |
| B | 358 | SD--RNICRAETRETFLREKEFHIOHIVIDEA  | QNFRTEDGDWYRKAKTI    |        | 357 |
| C | 640 | SD--RNICRAETRETFLREKEFHIOHIVIDEA  | QNFRTEDGDWYRKAKTI    |        | 687 |
| D | 560 | SD--RNICRAETRETFLREKEFHIOHIVIDEA  | QNFRTEDGDWYRKAKTI    |        | 577 |
| E | 619 | VSEFSRKNNICOVYTRKTEMKNNFEHI       | OHHIIIDDAQNFRTEDGDWY | GKAKFT | 668 |
| F | 640 | SD--RNICRAETRETFLREKEFHIOHIVIDEA  | QNFRTEDGDWYRKAKTI    |        | 687 |
| B | 358 | SD--RNICRAETRETFLREKEFHIOHIVIDEA  | QNFRTEDGDWYRKAKTI    |        | 357 |
| C | 688 | TQREDCPGVWIFLDYFQTSLIGHSGLPP      | LSAQYPREELTRVNRNADEI |        | 737 |
| D | 578 | T                                 |                      |        | 578 |
| E | 669 | TRQRDGPVWIFLDYFQTSHLSCSGLPP       | PSDQYPREELTRVNRNAGPI |        | 718 |
| F | 688 | TRRAKGPGVWIFLDYFQTSHLDCSGLPP      | SDQYPREELTRVNRNADPI  |        | 737 |

**FIG. 6E**

|      |      |   |      |
|------|------|---|------|
| B    | 358  | A E Y I Q Q E M O L I E N P P T I N I P H G Y I A I L S E A K W E G V P G N T K I K N F T L E Q           | 357  |
| C    | 738  | A E Y I Q Q E M O L I E N P P T I N I P H G Y I A I L S E A K W E G V P G N T K I K N F T L E Q           | 787  |
| D    | 579  |   | 578  |
| E    | 719  | A N Y L Q O O M O E A R O N P P P N L P P G S I V M L Y E P K W A Q G V P G N L I E E D I N L E E         | 768  |
| F    | 738  | A K Y L Q K E N A S N   | 748  |
| <br> | <br> | <br>  | <br> |
| B    | 358  | I V T Y V A D T C R C E F F E R G Y S P K D I A V L V S T V T E V E Q Y Q S K U L K A M R K K             | 357  |
| C    | 788  | I V T Y V A D T C R C E F F E R G Y S P K D I A V L V S T V T E V E Q Y Q S K U L K A M R K K             | 833  |
| D    | 579  |   | 578  |
| E    | 769  | I L I Y V A N K C R F I L R N G Y S P K D I A V L V F T K A S E V E K Y K D R L L T A M R K R K L S Q     | 818  |
| F    | 749  |   | 748  |
| <br> | <br> | <br>  | <br> |
| B    | 358  |   | 357  |
| C    | 834  | — — — — M V V Q L S D A C D M I L G V H I V Y L D S V R R F S G L E R S I V F G I H P R T A D P A I       | 877  |
| D    | 579  |   | 578  |
| E    | 819  | I H E E S D I L L Q I G D A S D V L T D D H I V Y L D S V C R F S G L E R N I V E G G I N P G V A P P A G | 868  |
| F    | 749  |   | 748  |

**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  
atggccgggc ccgagcgctg gggccccctg ctccctgtgcc tgcgtcaggc cgctccagg 60  
aggccccgtc tggcccccctcc ccagaatgtg acgtgtctt cccagaactt cagcgtgtac 120  
ctgacatggc tcccaagggtc tggcaaaaa caggatgtga cctattttgt ggcctatcag 180  
agctctccca cccgttagacg gtggcgccaa gtggaaagagt gtgcggaaac caaggagctg 240  
ctatgttcta tgatgtgcct gaagaaacag gacctgtaca acaagttcaa gggacggctg 300  
cgacgggtt ctcccaagtc caagtcgggg tgggtggagt ccgaataacct ggattacctt 360  
tttgaagtgg agccggccccc acctgtccctg gtgcgtcaccc agacggagga gatcctgagt 420  
gcataatgcca cgtaccagct gccccctgc atgccccac tggatctgaa gtatgggtg 480  
gcatttctgaa aggagggggc cggaaacaag gtggaaagct cctttctgc ccccgaggcta 540  
ggcccgctcc tccacccctt cttaactcagg ttcttctcac cctcccaagcc tgctctgca 600

WO 02/20569

PCT/US01/28013

2

cccttcctcc aggaagtctt ccctgtacac tcctgaactt ctggcagtca gcccataaa 660  
aatctgatca aagtaaaaaa aaaaaaaaaag ggccggccgc 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

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

&lt;210&gt; 6

&lt;211&gt; 231

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 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 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

&lt;222&gt; (1)..(684)

&lt;223&gt;

|  |     |
|--|-----|
| <400> 8<br>atg gct gaa ctt tgt ccg gcg gcc gga cga cgg cgc ctt aag gaa gcg<br>Met Ala Glu Leu Cys Pro Ala Ala Gly Arg Arg Arg Leu Lys Glu Ala<br>1 5 10 15 | 48  |
| gtg cgg aag cag gga caa gaa gcc gcg gga tct ctt cgg tcc ccc agg<br>Val Arg Lys Gln Gly Gln Glu Ala Ala Gly Ser Leu Arg Ser Pro Arg<br>20 25 30             | 96  |
| acc tcc agg tgc aga agt gac cgc gga gac tac tct gct tca cga gtt tca<br>Thr Ser Arg Cys Arg Ser Asp Arg Gly Asp Ser Ala Ser Arg Val Ser<br>35 40 45         | 144 |
| gga gct gct gaa aga ggc cac gga gcg ccg gtt ctc agg gct tct gga<br>Gly Ala Ala Glu Arg Gly His Gly Ala Pro Val Leu Arg Ala Ser Gly<br>50 55 60             | 192 |
| ccc gct gct gcc cca ggg gcg ggc ctg cgg ctg gtg ggc gag gcc ttt<br>Pro Ala Ala Ala Pro Gly Ala Gly Leu Arg Leu Val Gly Glu Ala Phe<br>65 70 75 80          | 240 |
| cac tgc cgg ctg cag ggt ccc cgc cgg gtg gac aag cgg acg ctg gtg<br>His Cys Arg Leu Gln Gly Pro Arg Arg Val Asp Lys Arg Thr Leu Val<br>85 90 95             | 288 |
| gag ctg cat ggt ttc cag gct cct gct gcc caa ggt gcc ttc ctg cga<br>Glu Leu His Gly Phe Gln Ala Pro Ala Gln Gly Ala Phe Leu Arg<br>100 105 110              | 336 |
| ggc tcc ggt ctg sgc ctg gcc tcg ggt cgg ttc acg gcc ccc gtg tcc<br>Gly Ser Gly Leu Ser Leu Ala Ser Gly Arg Phe Thr Ala Pro Val Ser<br>115 120 125          | 384 |
| ggc atc ttc cag ttc tct gcc agt ctg cac gtg gac cac agt gag ctg<br>Gly Ile Phe Gln Phe Ser Ala Ser Leu His Val Asp His Ser Glu Leu<br>130 135 140          | 432 |
| cag ggc aag gcc cgg ctg cgg gcc cgg gac gtg gtg tgg gtt ctc atc<br>Gln Gly Lys Ala Arg Leu Arg Ala Arg Asp Val Val Cys Val Leu Ile<br>145 150 155 160      | 480 |
| tgt att gag tcc ctg tgc cag cgc cac acg tgc ctg gag gcc gtc tca<br>Cys Ile Glu Ser Leu Cys Gln Arg His Thr Cys Leu Glu Ala Val Ser<br>165 170 175          | 528 |
| ggc ctg gag agc aac agc agg gtc ttc acg cta cag gtg cag cgg ctg<br>Gly Leu Glu Ser Asn Ser Arg Val Phe Thr Leu Gln Val Gln Gly Leu<br>180 185 190          | 576 |
| ctg cag ctg cag gct gga cag tac gct tct gtg ttt gtg gac aat ggc<br>Leu Gln Leu Gln Ala Gly Gln Tyr Ala Ser Val Phe Val Asp Asn Gly<br>195 200 205          | 624 |

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

<400> 9  
Met Ala Glu Leu Cys Pro Ala Ala Gly Arg Arg Arg Leu Lys Glu Ala

Val Arg Lys Gln Gln Glu Ala Ala Gly Ser Leu Arg Ser Pro Arg  
      15         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

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  
 gggaggccata gggagaaaagt agttctcttt cgggtggcagg gttgctgtcg agggcacccga 60  
 gcaggagata ggtcgacaga gacgaggagt tctggctcct cctgcagaca tgcaccagcg 120  
 gctgctggc tcgtccctgg gcctegcccc cgccgggggg ctctgaatgc ctgcccggc 180  
 ccccatgaga gcacccggcct gggctcccgcc ccctaaggcct ctgctcgccg agactgagcc 240  
 atg tgg gcc tgg ggc 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 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

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

WO 02/20569

PCT/US01/28013

17

ctc acc atc cag aac act tcc agc ttc tcg 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

tagcgagct gaagaaacga ttgtggattt aggaaccaac accttgcttc ttagaggagc 1164  
 tgaaaaggac tactcactcc ccttttaataa gttttcatag caataaagaa ctccaaactt 1224  
 ctccatct 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 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 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 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

&lt;210&gt; 12

&lt;211&gt; 477

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1)..(474)

&lt;223&gt;

<400> 12  
 gcg ccg 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 ggc 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 ggc ttc cgc cgc ggc ccg 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 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 ccg 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 Leu Glu Ala Ile Met Gly Leu Glu Ser Ser Glu Leu  
 100           105           110

tcc 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 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

&lt;210&gt; 14

&lt;211&gt; 3180

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (143)..(2677)

&lt;223&gt;

<400> 14  
 gctggaaagca gcgttattttt ttaccttgc ttccacttc ctgaagatgc taaaactcctg 60  
 gtggactgca gaggagaggg attcagtc ttccctgtatgt gtttgctgt aggtacctga 120  
 gttgacacccg aagtccctaa ag atg ctg agc ggc gtt tgg ttc ctc agt gtg 172

WO 02/20569

PCT/US01/28013

21

|   |  |
|---|--|
| <pre> 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 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 aac gta ctg Asp Ile Cys Lys Ile Arg Cys Leu Cys 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 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 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 gcg gtg act 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 aac ggg gca ttc Leu His Leu Gly Asn Asn Gln Glu Ile Arg Thr Gly Ala Phe 95          100         105 agt ggc ctg aac act ctc aaa aca ctg cat ctc aac aac aac aag ctt Ser Gly Leu Lys Thr Leu Lys Arg Leu His Leu Asn Asn Lys Leu 110         115         120 gag ata ttg agg gag gac acc ttc cta ggc ctg gag agc ctg gag tat 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 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 gtc ctc atc ctg aat gac aac aac ctt ctg Ser Lys Leu Asn Lys Leu Lys Val Leu Ile Leu Asn Asp Asn Leu Leu 155         160         165         170 ctt tca ctg ccc aac aat gtg ttc cgc ttt gtc ctg ctg acc cac tta Leu Ser Leu Pro Ser Asn Val Phe Arg Dhe 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 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 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 Asn Cys Thr Cys Asp Leu Leu Pro Leu Lys Ala Trp Leu Asp Thr Ile 220         225         230 </pre> | 220<br>268<br>316<br>364<br>412<br>460<br>508<br>556<br>604<br>652<br>700<br>748<br>796<br>844 |
|---|--|

WO 02/20569

PCT/US01/28013

22

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

WO 02/20569

PCT/US01/28013

23

|   |      |
|---|------|
| ctt ctg ttt ctg aac aac aac ctt ctt cgg tcc tta cct gat aat ata<br>Leu Leu Phe Leu Asn Asn Asn Leu Leu Arg Ser Leu Pro Asp Asn Ile<br>475 480 485 490 | 1612 |
| ttt ggg ggg acg gcc cta acc agg ctg aat ctg aga aac aac cat ttt<br>Phe Gly Gly Thr Ala, Leu Thr Arg Leu Asn Leu Arg Asn Asn His Phe<br>495 500 505    | 1660 |
| tct cac ctg ccc gtg aaa ggg gtt ctg gat gag ctc ccg gct ttc atc<br>Ser His Leu Pro Val Lys Gly Val Leu Asp Gln Leu Pro Ala Phe Ile<br>510 515 520     | 1708 |
| cag ata gat ctg cag gag aac ccc tgg gac tgt acc tgt gac atc atg<br>Gln Ile Asp Leu Gln Glu Asn Pro Trp Asp Cys Thr Cys Asp Ile Met<br>525 530 535     | 1756 |
| ggg ctg aaa gac tgg aca gaa cat gcc aat tcc cct gtc atc att aat<br>Gly Leu Lys Asp Trp Thr Glu His Ala Asn Ser Pro Val Ile Ile Asn<br>540 545 550     | 1804 |
| gag gtg act tgc gaa tct cct gct aag cat gca ggg gag ata cta aaa<br>Glu Val Thr Cys Glu Ser Pro Ala Lys His Ala Gly Glu Ile Leu Lys<br>555 560 565 570 | 1852 |
| ttt ctg ggg agg gag gct atc tgt cca gac cca aac ttg tca gat<br>Phe Leu Gly Arg Glu Ala Ile Cys Pro Asp Ser Pro Asn Leu Ser Asp<br>575 580 585         | 1900 |
| gga acc gtc ttg tca atg aat cac aat aca gac aca cct cgg tcc ctt<br>Gly Thr Val Leu Ser Met Asn His Asn Thr Asp Thr Pro Arg Ser Leu<br>590 595 600     | 1948 |
| agt gtg tct cct agt tcc tat cct gaa cta cac act gaa gtt cca ctg<br>Ser Val Ser Pro Ser Ser Tyr Pro Glu Leu His Thr Glu Val Pro Leu<br>605 610 615     | 1996 |
| tct gtc tta att ctg gga ttg ctt gtt gtt ttc atc tta tct gtc tgt<br>Ser Val Leu Ile Leu Gly Leu Leu Val Val Phe Ile Leu Ser Val Cys<br>620 625 630     | 2044 |
| ttt ggg gct ggt tta ttc gtc ttt gtc ttg aaa cgc cga aag gga gtg<br>Phe Gly Ala Gly Leu Phe Val Phe Val Leu Lys Arg Arg Lys Gly Val<br>635 640 645 650 | 2092 |
| ccg agc gtt ccc agg aat acc aac aac tta gac gta agc tcc ttt caa<br>Pro Ser Val Pro Arg Asn Thr Asn Asn Leu Asp Val Ser Ser Phe Gln<br>655 660 665     | 2140 |
| tta cag tat ggg tct tac aac act gag act cac gat aaa aca gac ggc<br>Leu Gln Tyr Gly Ser Tyr Asn Thr Glu Thr His Asp Lys Thr Asp Gly<br>670 675 680     | 2188 |
| cat gtc tac aac tat atc ccc cca cct gtg ggt gag atg tgc caa aac<br>His Val Tyr Asn Tyr Ile Pro Pro Val Gly Gln Met Cys Gln Asn<br>685 690 695         | 2236 |
| ccc atc tac atg cag aag gaa gga gac cca gta gcc tat tac cga aac<br>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 cta 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 tgaaggaaaa tcatttacaa ccctaaggca tcagaggatg           |     |                 | 2717 |     |
| Ser Gln Leu   | 845 |                 |      |     |
| ctgctccgaa ctgttggaaa caaggacatt agctttgtg ttgttttg ttctccctt     |     |                 | 2777 |     |
| cccagtgtta atggggact ttgaaaatgt ttgggagata ggatagaatgc atgattttgc |     |                 | 2837 |     |
| tttgcaagt ttccctttaa attatttctc ttcgcgtctc ctccttcctt tttttttttt  |     |                 | 2897 |     |
| ttttttttt tttttttccc ttctcttctt aggaaccatc agtgacatcg aatgtttcta  |     |                 | 2957 |     |
| caatgcattt cttcatagat ttgtttatg gttttgttcc ttttttttc tttgttttc    |     |                 | 3017 |     |
| agtgtggag tggaaagagg agattatagt gactgaagaa agaataggca aactttcaa   |     |                 | 3077 |     |
| atgaaaatgg atatttagtg tattttgtag aagatctcca aagatctttt gtgactacaa |     |                 | 3137 |     |
| cttcttttgt aaataatgtat atatggattt tccatcgat gtt                   |     |                 | 3180 |     |
| <210> 15  |     |                 |      |     |
| <211> 845   |     |                 |      |     |

WO 02/20569

PCT/US01/28013

25

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 15

Met Leu Ser Gly Val Trp Phe Leu Ser Val Leu Thr Val Ala Gly Ile  
1 5 10 15Leu Gln Thr Glu Ser Arg Lys Thr Ala Lys Asp Ile Cys Lys Ile Arg  
20 25 30Cys Leu Cys Glu Glu Lys Glu Asn Val Leu Asn Ile Asn Cys Glu Asn  
35 40 45Lys Gly Phe Thr Thr Val Ser Leu Leu Gln Pro Pro Gln Tyr Arg Ile  
50 55 60Tyr Gln Leu Phe Leu Asn Gly Asn Leu Leu Thr Arg Leu Tyr Pro Asn  
65 70 75 80Glu Phe Val Asn Tyr Ser Asn Ala Val Thr Leu His Leu Gly Asn Asn  
85 90 95Gly Leu Gin Glu Ile Arg Thr Gly Ala Phe Ser Gly Leu Lys Thr Leu  
100 105 110Lys Arg Leu His Leu Asn Asn Lys Leu Glu Ile Leu Arg Glu Asp  
115 120 125Thr Phe Leu Gly Leu Glu Ser Leu Glu Tyr Leu Gln Ala Asp Tyr Asn  
130 135 140Tyr Ile Ser Ala Ile Glu Ala Gly Ala Phe Ser Lys Leu Asn Lys Leu  
145 150 155 160Lys Val Leu Ile Leu Asn Asp Asn Leu Leu Ser Leu Pro Ser Asn  
165 170 175Val Phe Arg Phe Val Leu Leu Thr His Leu Asp Leu Arg Gly Asn Arg  
180 185 190Leu 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 Lys Lys Glu Glu Pro Ala Thr Pro Ala Tyr Thr  
 725 730 735

Ile Ser Ala Thr Glu Leu Leu 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

&lt;210&gt; 16

&lt;211&gt; 469

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Mus musculus

<400> 16  
 ctgaaatcc tgggaaggga ggctatttgt ccagaaaatc ctaacctgtc agatggact 60  
 attttgtcaa tgaatcacaa cacagacaca cctagatcac ttagtgtgtc tccttagttct 120  
 taccggAAC tacacactga agttccactc tccgtttaa ttttaggatt gcttgggtt 180

WO 02/20569

PCT/US01/28013

29

tttatcctgt ctgtctgttt tggggcgggg ttgttcgtct ttgttctgaa gcgtcgaaag 240  
 ggagtgccaa atgtcccaag gaatgccacc aacttagatg taagttccctt ccagttacaa 300  
 tatgggtctt aacaacaccga gactaatgat aaagctgatg gccacgtcta taactacatt 360  
 cctccacccgt tgggtcagat gtgcacaaac 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 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> DN

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (89)..(2899)

<223>

```

<400> 18
tagacgcgg gccaaggag gtaaaatgc cacttgcgtc ccccccgtaa ctttggaa
ggaccattcac agaaaaatgc atatcgatg atg ctg cag act cta gcg ttt gct
                                         Met Leu Gln Thr Leu Ala Phe Ala
                                         1                         5
112

gta aca tct ctc gtc ctt tcg tgt gca gaa acc atc gat tat tac ggg
Val Thr Ser Leu Val Leu Ser Cys Ala Glu Thr Ile Asp Tyr Tyr Gly
                                         10                      15                  20
160

gaa atc tgt gac aat gca tgt cct tgt gag gaa aag gac ggc att tta
Glu Ile Cys Asp Asn Ala Cys Pro Cys Glu Lys Asp Gly Ile Leu
                                         25                      30                  35                  40
208

act gtg agc tgt gaa aac cgg egg atc atc agt ctc tct gaa att agc
Thr Val Ser Cys Glu Asn Arg Gly Ile Ile Ser Leu Ser Glu Ile Ser
                                         45                      50                  55
256

cct ccc cgt ttc cca atc tac cac ctc ttg ttg tcc gga aac ctt ttg
Pro Pro Arg Phe Pro Ile Tyr His Leu Leu Leu Ser Gly Asn Leu Leu
                                         60                      65                  70
304

aac cgt ctc tat ccc aat gag ttt gtc aat tac act ggg gct tca att
Asn Arg Leu Tyr Pro Asn Glu Phe Val Asn Tyr Thr Gly Ala Ser Ile
                                         75                      80                  85
352

ttg cat cta ggt agc aat ggt atc cag gag acc ttt ggg gct ttc
Leu His Leu Gly Ser Asn Val Ile Gln Asp Ile Glu Thr Gly Ala Phe
                                         90                      95                  100
400

cat ggg cta cgg ggt ttg agg aga ttg cat cta aac aat aat aaa ctg
His Gly Leu Arg Gly Leu Arg Arg Leu His Leu Asn Asn Asn Lys Leu
                                         105                     110                  115                  120
448

```

WO 02/20569

PCT/US01/28013

31

|   |      |
|---|------|
| gaa ctt ctg cga gat gat acc ttc ctt ggc ttg gag aac ctg gag tac<br>Glu Leu Leu Arg Asp Asp Thr Phe Leu Gly Leu Glu Asn Leu Glu Tyr<br>125 130 135     | 496  |
| cta cag gtc gat tac aac tac atc agc gtc att gaa ccc aat gct ttt<br>Leu Gln Val Asp Tyr Asn Tyr Ile Ser Val Ile Glu Pro Asn Ala Phe<br>140 145 150     | 544  |
| ggg aaa ctg cat ttg ttg cag gtc ctt atc ctc aat gac aat ctt ttg<br>Gly Lys Ieu His Ieu Ieu Gln Val Leu Ile Leu Asn Asp Asn Leu Ieu<br>155 160 165     | 592  |
| tcc agt tta ccc aac aat ctt ttc cgt ttt gtg ccc tta acg cac ttg<br>Ser Ser Leu Pro Asn Asn Leu Phe Arg Phe Val Pro Leu Thr His Leu<br>170 175 180     | 640  |
| gac ctc cgg ggg aac cgg ctg aaa ctt ctg ccc tac gtg ggg ctc ttg<br>Asp Leu Arg Gly Asn Arg Leu Lys Leu Leu Pro Tyr Val Gly Leu Leu<br>185 190 195 200 | 688  |
| cag cac atg gat aaa gtt gtg gag cta cag ctg gag gaa aac cct ttg<br>Gln His Met Asp Lys Val Val Glu Leu Gln Leu Glu Asn Pro Trp<br>205 210 215         | 736  |
| aat tgt tct tgt gag ctg atc tct cta aag gat tgg ttg gac agc atc<br>Asn Cys Ser Cys Glu Leu Ile Ser Leu Lys Asp Trp Leu Asp Ser Ile<br>220 225 230     | 784  |
| tcc tat tca gcc ctg gtg ggg gat gta gtt tgt gag acc ccc ttc cgc<br>Ser Tyr Ser Ala Leu Val Gly Asp Val Val Cys Glu Thr Pro Phe Arg<br>235 240 245     | 832  |
| tta cac gga agg gac ttg gac gag gta tcc aag cag gaa ctt tgc cca<br>Leu His Gly Arg Asp Leu Asp Glu Val Ser Lys Gln Glu Leu Cys Pro<br>250 255 260     | 880  |
| agg aga ctt att tct gag tac gag atg agg ccc cag acg cct ttg agc<br>Arg Arg Leu Ile Ser Asp Tyr Glu Met Arg Pro Gln Thr Pro Leu Ser<br>265 270 275 280 | 928  |
| acc acg ggg tat tta cac acc acc ccg gcg tca gtg aat tct gtg gcc<br>Thr Thr Gly Tyr Leu His Thr Thr Pro Ala Ser Val Asn Ser Val Ala<br>285 290 295     | 976  |
| act tct tcc tct gct gtt tac aaa ccc cct ttg aag ccc cct aag ggg<br>Thr Ser Ser Ala Val Tyr Lys Pro Pro Leu Lys Pro Pro Lys GLY<br>300 305 310         | 1024 |
| act cgc caa ccc aac aag ccc agg gtg cgc ccc acc tct cgg cag ccc<br>Thr Arg Gln Pro Asn Lys Pro Arg Val Arg Pro Thr Ser Arg Gln Pro<br>315 320 325     | 1072 |
| tct aag gac ttg ggc tac agc aac tat ggc ccc agc atc gcc tat cag<br>Ser Lys Asp Leu Gly Tyr Ser Asn Tyr Gly Pro Ser Ile Ala Tyr Gln<br>330 335 340     | 1120 |
| acc aaa tcc ccg gtg cct ttg gag tgg ccc acc ggc tgc tct tgc aac<br>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<br>Leu Gln Ile Ser Asp Leu Gly Leu Asn Val Asn Cys Gln Glu Arg Lys<br>365 370 375     |     |     |     | 1216 |
| atc gag agc atc gct gaa ctg cag ccc aag ccc tac aat ccc aag aaa<br>Ile Glu Ser Ile Ala Glu Leu Gln Pro Lys Pro Tyr Asn Pro Lys Lys<br>380 385 390     |     |     |     | 1264 |
| atg tat ctg aca gag aac tac atc gct gtc gtg cgc agg aca gac ttc<br>Met Tyr Leu Thr Glu Asn Tyr Ile Ala Val Val Arg Arg Thr Asp Phe<br>395 400 405     |     |     |     | 1312 |
| ctg gag gcc acg ggg ctg gac ctc ctg cac ctg ggg aat aac cgc atc<br>Leu Glu Ala Thr Gly Leu Asp Leu Leu His Leu Gly Asn Asn Arg Ile<br>410 415 420     |     |     |     | 1360 |
| tcg atg atc cag gac cgc gct ttc ggg gat ctc acc aac ctg agg cgc<br>Ser Met Ile Gin Asp Arg Ala Phe Gly Asp Leu Thr Asn Leu Arg Arg<br>425 430 435 440 |     |     |     | 1408 |
| ctc tac ctg aat ggc aac agg atc gag agg ctg agc ccg gag tta ttc<br>Leu Tyr Leu Asn Gly Asn Arg Ile Glu Arg Leu Ser Pro Glu Leu Phe<br>445 450 455     |     |     |     | 1456 |
| tat ggc ctg cag agc ctg cag tat ctc ttc ctc cag tac aat ctc atc<br>Tyr Gly Leu Gln Ser Leu Gln Tyr Leu Phe Leu Gln Tyr Asn Leu Ile<br>460 465 470     |     |     |     | 1504 |
| cgc gag att ctc gga act ttt gac cog gtc cca aac ctc cag ctg<br>Arg Glu Ile Gln Ser Gly Thr Phe Asp Pro Val Pro Asn Leu Gln Leu<br>475 480 485         |     |     |     | 1552 |
| cta ttc ttg aat aac aac ctc ctg cag ggc atg ccc tca ggc gtc ttc<br>Leu Phe Leu Asn Asn Leu Gln Ala Met Pro Ser Gly Val Phe<br>490 495 500             |     |     |     | 1600 |
| tct ggc ttg acc ctc ctc agg cta aac ctg agg agt aac cac ttc acc<br>Ser Gly Leu Thr Leu Leu Arg Leu Asn Leu Arg Ser Asn His Phe Thr<br>505 510 515 520 |     |     |     | 1648 |
| tcc ttg cca gtg agt gga gtt ttg gac gag ctg aag tca ctc atc caa<br>Ser Leu Pro Val Ser Gly Val Leu Asp Gln Leu Lys Ser Leu Ile Gln<br>525 530 535     |     |     |     | 1696 |
| atc gac ctg cat gac aat cct tgg gat tgt acc tgt gac att gtg ggc<br>Ile Asp Leu His Asp Asn Pro Trp Asp Cys Thr Cys Asp Ile Val Gly<br>540 545 550     |     |     |     | 1744 |
| atg aag ctg tgg gtg gag cag ctc aaa gtg ggc gtc cta gtg gac gag<br>Met Lys Leu Trp Val Glu Gln Leu Lys Val Gly Val Leu Val Asp Glu<br>555 560 565     |     |     |     | 1792 |
| gtg atc tgt aag gcg ccc aaa aaa ttc gct gag acc gac atg cgc tcc<br>Val Ile Cys Lys Ala Pro Lys Lys Phe Ala Glu Thr Asp Met Arg Ser<br>570 575 580     |     |     |     | 1840 |
| att aag tcg gag 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 tcg tcg gtg ccc ttg tct gtg tta att ctc agc | 2032 |
| Ala Gly Gly Ala Ser Ser Val Pro Leu Ser Val 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 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 acc     | 2128 |
| Val Leu Val Met Lys Arg Arg 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 Phe Asn Met Gln Tyr Ser Val Tyr     |      |
| 685 690 695   |      |
| ggc ggc ggc ggc acg ggc ggc cac cca cac gcg cac gtg cat cac     | 2224 |
| Gly Gly Gly Gly Thr 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     | 2416 |
| Leu Lys Val Thr Tyr Ser Ser Asn His His Leu Gln Gln Gln Gln     |      |
| 765 770 775   |      |
| ccg ccg cca ccg cag cag cca cac cag cag cag ccc ccg ccg cag ctg | 2464 |
| Pro Pro Pro Pro Gln Gln Pro Gln Gln Pro Pro Pro Glu 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 ccg gtg cag gac gcc gac cgc ttt tac agg ggc att tta gaa cca<br>Ser Pro Val Gln Asp Ala Asp Arg Phe Tyr Arg Gly Ile Leu Glu Pro<br>825 830 835 840  | 2608   |
| gac aaa cac tgc tcc acc acc ccc gec ggc aat agc ctc cgg gaa tat<br>Asp Lys His Cys Ser Thr Pro Ala Gly Asn Ser Leu Pro Glu Tyr<br>845 850 855  | 2656   |
| ccc aaa ttc ccg tgc agc ccc gct gct tac act ttc tcc ccc aac tat<br>Pro Lys Phe Pro Cys Ser Pro Ala Ala Tyr Thr Phe Ser Pro Asn Tyr<br>860 865 870  | 2704   |
| gac ctg aga cgc ccc cat cag tat ttg cac ccg ggg gca ggg gac agc<br>Asp Leu Arg Arg Pro His Gln Tyr Leu His Pro Gly Ala Gly Asp Ser<br>875 880 885  | 2752   |
| agg cta ccg gaa ccg gtg ctc tac agc ccc ccg agt gct gtc ttt gta<br>Arg Leu Arg Glu Pro Val Leu Tyr Ser Pro Pro Ser Ala Val Phe Val<br>890 895 900  | 2800   |
| gaa ccc aac ccg aac gaa tat ctg gag tta aaa gca aaa cta aac gtt<br>Glu Pro Asn Arg Asn Glu Tyr Leu Glu Lys Ala Lys Leu Asn Val<br>905 910 915 920  | 2848   |
| gag ccg gac tac ctc gaa gtg ctg gaa aaa cag acc acg ttt agc cag<br>Glu Pro Asp Tyr Leu Glu Val Leu Glu Lys Gln Thr Thr Phe Ser Gln<br>925 930 935  | 2896   |
| ttc taaaagcaaa gaaaactctct tggagctttt gcatttaaaa caaacaagca<br>Phe   | 2949   |
| agcagacaca cacagtgaac acatttgatt aattgtgttgc ttcaacgtt tagggtaag<br>tgccttggca cgggattttc cagcttcgggt ggaagatacg aaaagggtgt gcaatttct<br>ttaaaattta cacgtggaa acatttgttgc aaactggca catcaacttc tcttcttgc<br>tgtggccag gtgtggagaa gggcttaag gagggccaatt tgctgcgcgg gtgaccctgt<br>aaaggtcaca gtcatttttg tagtggtttg aagtgcataag aatgggtggat gatggcagag<br>catagattct acttttccttc ttttgcattcc tccccctccc ccgccttc cccaccccttc<br>ttttccctt tttaaaggcat gggtgggtct aactggcttt tggtggagaaa ttagcacacc<br>ccaactttaa tagggaaattt gttctttttt tcc | 3009<br>3069<br>3129<br>3189<br>3249<br>3309<br>3369<br>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

180                    185                    190

Lys Glu Ile Glu Glu Asp Pro Trp Asn Cys Ser Cys Glu Leu Ile Ser

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 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 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 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 Pro Pro Pro Pro Gln Gln Pro  
 770 775 780

Gln Gln Gln Pro Pro Gln Leu Gln Leu Gln Pro 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  | aagaaccca tctaccggtc tcgagaaggc aattccgtgg aggattaca a agacctgcac   | 60  |
|   | gagctcaagg tcacttacag cagcaaccac cacctgcagc a gcagccgccc gccgcgcgcg | 120 |
|   | caacagcccc agcagcagcc ccctccgcag atgcagatgc a gcctggga ggaggagagg   | 180 |
|   | cggaaagcc accattttag gagccccgcc tacagcgatca gcaccatcg a gcccggagag  | 240 |
|   | gacactgt cgccgggtca ggacgtgtat cgctttaca gggcattt agagccagac        | 300 |
|   | aaacactgtc ccactacccc tgccggcagc agcctccag aataccctaa attccatgc     | 360 |
|   | agccggctgt ctacacttt ctccccaaac tatgaccgtt cgcccg                   | 406 |
| <210> 21  |   |     |
| <211> 135   |   |     |
| <212> PRT   |   |     |
| <213> <i>Mus musculus</i>                                       |   |     |
| <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 Pro Pro         |   |     |
| 35 40 45  |   |     |
| Pro Gln Met Gln Met Gln Pro Gly 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

&lt;210&gt; 22

&lt;211&gt; 3545

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (112)..(3042)

&lt;223&gt;

|   |   |     |
|---|---|-----|
| <400> 22  | tgcattcagg ttccagccct gcgtttccata tattgactcc ttatacacga | 60  |
| cctggcgctc cagtttagga ggagacgttg tttttaatc 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<br>Thr Asn Ile Ser Gln Ile Thr Glu Phe Trp Ser Arg Pro Phe Lys Leu<br>70 75 80        | 357  |
| tat ctg cag agg aat tct atg agg aaa tta tat acc aac agt ttt ctt<br>Tyr Leu Gln Arg Asn Ser Met Arg Lys Leu Tyr Thr Asn Ser Phe Leu<br>85 90 95        | 405  |
| cat ttg aat aat gct gtg tct att aat ctt ggg aac aat gca ttg cag<br>His Leu Asn Asn Ala Val Ser Ile Asn Leu Gly Asn Asn Ala Leu Gln<br>100 105 110     | 453  |
| gac att cag act gga gct ttc aat ggt ctt aag att tta aag aga cta<br>Asp Ile Gln Thr Gly Ala Phe Asn Gly Leu Lys Ile Leu Lys Arg Leu<br>115 120 125 130 | 501  |
| tat cta cat gaa aac aaa cta gat gtc ttc aga aat gac acc ttc ctt<br>Tyr Leu His Glu Asn Lys Leu Asp Val Phe Arg Asn Asp Thr Phe Leu<br>135 140 145     | 549  |
| ggc ttg gaa agt cta gaa bat ctg cag gca gat tac aat gtc att aaa<br>Gly Leu Glu Ser Leu Glu Tyr Leu Gln Ala Asp Tyr Asn Val Ile Lys<br>150 155 160     | 597  |
| cgt att gag agt ggg gca ttt cgg aac cta agt aaa ttg agg gtt ctg<br>Arg Ile Glu Ser Gly Ala Phe Arg Asn Leu Ser Lys Leu Arg Val Leu<br>165 170 175     | 645  |
| att tta aat gat aat ctc atc ccc atg ctt cca acc aat tta ttt aag<br>Ile Leu Asn Asp Asn Leu Ile Pro Met Leu Pro Thr Asn Leu Phe Lys<br>180 185 190     | 693  |
| gct gtc tct tta acc cat ttg gac cta cgt gga aat agg tta aag gtt<br>Ala Val Ser Leu Thr His Leu Asp Leu Arg Gly Asn Arg Leu Lys Val<br>195 200 205 210 | 741  |
| ctt ttt tac cga gga atg cta gat cac att ggc aga agc ctg atg ggg<br>Leu Phe Tyr Arg Gly Met Leu Asp His Ile Gly Arg Ser Leu Met Glu<br>215 220 225     | 789  |
| ctc cag ctg gaa gaa aac cct tgg aac tgc tgc gaa att gta caa<br>Leu Gln Leu Glu Asn Pro Trp Asn Cys Thr Cys Glu Ile Val Gln<br>230 235 240             | 837  |
| ctg aag agt tgg ctg gaa cgc att cct tat act gcc ctg gtg gga gac<br>Leu Lys Ser Trp Leu Glu Arg Ile Pro Tyr Thr Ala Leu Val Glu Asp<br>245 250 255     | 885  |
| att acc tgt gag acc cct ttc cac ttc cat gga aag gac cta cga gaa<br>Ile Thr Cys Glu Thr Pro Phe His Phe His Gly Lys Asp Leu Arg Glu<br>260 265 270     | 933  |
| atc agg aag aca gaa ctc tgt ccc ttg ttg tot gac tct gag gta gag<br>Ile Arg Lys Thr Glu Leu Cys Pro Leu Leu Ser Asp Ser Glu Val Glu<br>275 280 285 290 | 981  |
| gct agt ttg gga att cca cat tcg tca tca agt aag gag aat gca tgg<br>Ala Ser Leu Gly Ile Pro His Ser Ser Ser Lys Glu Asn Ala Trp                        | 1029 |

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<br>Pro Thr Lys Pro Ser Ser Met Leu Ser Ser Val His Phe Thr Ala Ser  | 310 | 315 | 320 | 1077 |
| tct gtc gaa tac aag tcc tca aat aaa cag cct aag ccc acc aaa cag<br>Ser Val Glu Tyr Lys Ser Ser Asn Lys Gln Pro Lys Pro Thr Lys Gln  | 325 | 330 | 335 | 1125 |
| cct cga aca cca agg cca ccc tcc acc tcc caa gct tta tat cct ggt<br>Pro Arg Thr Pro Arg Pro Pro Ser Thr Ser Gln Ala Leu Tyr Pro Gly  | 340 | 345 | 350 | 1173 |
| cca aac cag cct ccc att gct cct tat cag acc aag cca cca atc ccc<br>Pro Asn Gln Gln Pro Pro Ile Ala Pro Tyr Gln Arg Pro Pro Ile Pro  | 355 | 360 | 365 | 1221 |
| att ata tgc ccc act ggg tgt acc tgt aat ttg cac atc aat gac ctt<br>Ile Ile Cys Pro Thr Gly Cys Thr Cys Asn Leu His Ile Asn Asp Leu  | 375 | 380 | 385 | 1269 |
| ggc ttg act gtc aac tgc aaa gag cga gga ttt aat aac att tct gaa<br>Gly Leu Thr Val Asn Cys Lys Glu Arg Gly Phe Asn Asn Ile Ser Glu  | 390 | 395 | 400 | 1317 |
| ctt ctt cca agg ccc ttg aat gcc aag aaa ctg tat ctg agt agc aat<br>Leu Leu Pro Arg Pro Leu Asn Ala Lys Lys Leu Tyr Leu Ser Ser Asn  | 405 | 410 | 415 | 1365 |
| ctt att gag aaa ata tac cgt tct gat ttt tgg aat ttt tct tcc ttg<br>Leu Ile Gln Ilys Ile Tyr Arg Ser Asp Phe Trp Asn Phe Ser Ser Leu | 420 | 425 | 430 | 1413 |
| gat ctc ttg cat ctg ggg aac aat cgt att tcc tat gtc caa gat ggg<br>Asp Leu Leu His Leu Gly Asn Asn Arg Ile Ser Tyr Val Gln Asp Gly  | 435 | 440 | 445 | 1461 |
| gcc ttt atc aac ttg ccc aac tta aag agc ctc ttc ctt aat ggc aac<br>Ala Phe Ile Asn Leu Pro Asn Leu Lys Ser Leu Phe Leu Asn Gly Asn  | 455 | 460 | 465 | 1509 |
| gat ata gag aag ctg aca cca ggc atg ttc cga ggc cta cag agt ttg<br>Asp Ile Glu Lys Leu Thr Pro Gly Met Phe Arg Gly Leu Gln Ser Leu  | 470 | 475 | 480 | 1557 |
| cac tac ttg cat ttt gag ttc aat gtc atc cgg gaa atc cag cct gca<br>His Tyr Leu Tyr Phe Glu Phe Asn Val Ile Arg Glu Ile Gln Pro Ala  | 485 | 490 | 495 | 1605 |
| gcc ttc agc ctc atg ccc aac ttg aag ctg cta ttc ctc aat aat aac<br>Ala Phe Ser Leu Met Pro Asn Leu Lys Leu Phe Leu Asn Asn Asn      | 500 | 505 | 510 | 1653 |
| tta ctg agg act ctg cca aca gac gcc ttt gct ggc aca tcc ctg gcc<br>Leu Leu Arg Thr Leu Pro Thr Asp Ala Phe Ala Gly Thr Ser Leu Ala  | 515 | 520 | 525 | 1701 |
| cggtt 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 acg 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 |
| Pro Gly Asp Ser His Leu Ile Gly Ala Pro Thr Ser Ala Ser Pro Tyr |     |     |      |
| 630   | 635 | 640 |      |
| gag ttt tct cct ctt 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 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 gtg gct gtt tca tca gcc caa     |     |     | 2421 |
| Ile Tyr Lys Pro Arg 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<br>Glu Ala Gly Ser Ala Glu Arg Gly Gly Pro Gly Thr Gln Pro Pro Gly<br>775 780 785 | 2469 |
| atg ggt gag gct ctc cta gga agt gag cag ttt gct gag aca ccc aag<br>Met Gly Glu Ala Leu Leu Gly Ser Glu Gln Phe Ala Glu Thr Pro Lys<br>790 795 800 | 2517 |
| gag aac cat agt aac tac cgg acc ttg ctg gaa aaa gag aag gag tgg<br>Glu Asn His Ser Asn Tyr Arg Thr Leu Leu Glu Lys Glu Lys Glu Trp<br>805 810 815 | 2565 |
| gcc cta gca gtg tcc acg tcc cag ctt aac acc ata gtg acg gtg aat<br>Ala Leu Ala Val Ser Ser Gln Leu Asn Thr Ile Val Thr Val Asn<br>820 825 830     | 2613 |
| cac cat cac cac ccc gca gtt ggt ggg gtt tca gga gta gtt<br>His His His Pro His Pro Ala Val Gly Gly Val Ser Gly Val Val<br>835 840 845 850         | 2661 |
| ggg gga act ggg gga gac ttg gca ggg ttc cgc cac cat gag aaa aat<br>Gly Gly Thr Gly Gly Asp Leu Ala Gly Phe Arg His His Glu Lys Asn<br>855 860 865 | 2709 |
| ggt ggg gtg gtg ctg ttt cct cct ggg gga ggc tgt ggt agt ggc agt<br>Gly Gly Val Val Leu Phe Pro Pro Gly Gly Cys Gly Ser Gly Ser<br>870 875 880     | 2757 |
| atg cta cta gat cga gag agg cca cag cct gcc ccc tgc aca gtg gga<br>Met Leu Leu Asp Arg Glu Arg Pro Gln Pro Ala Pro Cys Thr Val Gly<br>885 890 895 | 2805 |
| ttt gtg gac tgt ctc tat gga aca gtg ccc aaa tta aag gaa ctg cac<br>Phe Val Asp Cys Leu Tyr Thr Val Pro Lys Leu Lys Glu Leu His<br>900 905 910     | 2853 |
| gtg-cac cct ggc atg caa tac cca gac tta cag cag gat gcc agg<br>Val His Pro Pro Gly Met Gln Tyr Pro Asp Leu Gln Gln Asp Ala Arg<br>915 920 925 930 | 2901 |
| ctc aaa gaa acc ctt ctc ttc tcg gct gaa aag ggc ttc aca gac cac<br>Leu Lys Glu Thr Leu Leu Phe Ser Ala Glu Lys Gly Phe Thr Asp His<br>935 940 945 | 2949 |
| caa acc caa aaa agt gat tac ctc gag tta agg gcc aaa ctt caa acc<br>Gln Thr Gln Lys Ser Asp Tyr Leu Glu Leu Arg Ala Lys Leu Gln Thr<br>950 955 960 | 2997 |
| aag ccg gat tac ctc gaa gtc ctg gag aag aca aca tac agg ttc<br>Lys Pro Asp Tyr Leu Glu Val Leu Glu Lys Thr Thr Tyr Arg Phe<br>965 970 975         | 3042 |
| taacagagag aagaaaaat attagtgcatt ttttttttc aaaagaaaaag gaaaataaaa<br>gaaatatatac ccttgctccc tttacacttg tcccatcctca cgatctttcc                     | 3102 |
| taccctgaac aaaactaaaa ccgcatgata actagagaat acagatgtat gctctccct<br>ctcagatcg atttggagga agggccatac tcagatcatt aatcaatgaa agtgccctcg              | 3162 |
|   | 3222 |
|   | 3282 |

WO 02/20569

PCT/US01/28013

45

cagacttttg ccagccaaatg ttatcattat tttttatac tgaaaacctga gactttgact 3342  
 gtgcgtatgtaa agatatac tggggatcat tggatggatc ctaattaagt aaaattcaat 3402  
 gtgttctttt atttcagta actatttttt ttatagttgt agtttgatt taaagggggg 3462  
 gaaacaaggat gacatggc atttggc ttcttttcta tcacatggc acagattctg 3522  
 tacatgtattt 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 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 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 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

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 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 Val Ala Val Ser Ser  
 755 760 765

Ala Gln Glu Ala Gly Ser Ala Glu Arg 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 Asp Leu Ala Gly Phe Arg His His Glu  
 850 855 860

Lys Asn Gly Gly Val Val Leu Phe Pro Pro 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 aaaaaatgtt ttcttttat 60

WO 02/20569

PCT/US01/28013

50

|   |     |
|---|-----|
| ttttttagatt atttctcttt attcagaagc atacagttgt ttgctgattg caagaag     | 117 |
| atg ttt ctg tgg ctg ttt ctg att ttg tca gcc ctg att tct tcg aca     | 165 |
| Met Phe Leu Trp Leu Phe Leu Ile Leu Ser Ala Leu Ile Ser Thr         |     |
| 1 5 10 15   |     |
| aat gca gat tct gac ata tcg gtg gaa att tgc aat gtg tgt tcc tgc     | 213 |
| Aen 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 cag ctg aaa cca cct tgg tct aat ttt tat cac ctc     | 309 |
| Tyr Arg Pro Asn Gln Ieu Lys Pro Pro Trp Ser Asn Phe Tyr His Ieu     |     |
| 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 Ieu 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 ttc cga gct gac act ttc ctt     | 501 |
| His Leu 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 Ile 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 |

WO 02/20569

PCT/US01/28013

51

Als Ala Trp Leu Glu Asn Met Pro Tyr Asn Ile Tyr Ile Gly Glu Ala  
 225 230 235 240  
 atc tgt gaa act ccc agt gac tta tat gga agg ctt tta aaa gaa acc 885  
 Ile Cys Glu Thr Pro Ser Asp Leu Tyr Gly Arg 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 Glu Leu Cys Pro Met Gly Thr Gly Ser Asp His 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 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 atc tct gga atc gca ggc aaa gcc 1077  
 Lys Thr Thr Asn Pro Ser Lys Ile Ser Gly Ile Val Ala Gly Lys Ala  
 305 310 315 320  
 ctc tcc aac cgc aat ctc agt cag att tgg tct tac caa aca agg gtg 1125  
 Leu Ser Asn Arg Asn Bsr Ser Gln Ile Val Ser Tyr Gln Thr Arg Val  
 325 330 335  
 cct cct cta aca cct tgc cgg 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 cac 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 aac ctg cac gtc 1269  
 Met Ser Glu Leu Ile Pro Lys Pro Leu Asn Ala Lys Ile 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 His 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 Leu His Leu Gly Ser Asn Gln Ile Thr Val Ile  
 405 410 415  
 aag gga gac gta ttg ccc 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 gaa ata ttt tca ggt ctt 1461  
 Asn Gly Asn Gln Ile Glu Arg Leu Tyr Pro Glu Ile Phe Ser Gly Leu  
 435 440 445  
 cat aac ctg cag tat ctg tat ttg gaa tac aat ttg ttg aat aac gaa atc 1509  
 His Asn Leu Gln Tyr Leu Tyr Leu Glu Tyr Asn Ile Lys Glu Ile  
 450 455 460

WO 02/20569

PCT/US01/28013

52

|   |      |
|---|------|
| tca gca ggc acc ttt gac tcc atg cca aat ttg cag tta ctg tac tta<br>Ser Ala Gly Thr Phe Asp Ser Met Pro Asn Leu Gln Leu Leu Tyr Leu<br>465 470 475 480 | 1557 |
| aac aat aat ctc cta aag agc ctg cct gtt tac atc ttt tcc gga gca<br>Asn Asn Asn Leu Leu Lys Ser Leu Pro Val Tyr Ile Phe Ser Gly Ala<br>485 490 495     | 1605 |
| ccc tta gct aca ctg aac ctg agg aac aaa ttc atg tac ctg cct<br>Pro Leu Ala Arg Leu Asn Leu Arg Asn Asn Lys Phe Met Tyr Leu Pro<br>500 505 510         | 1653 |
| gtc agt ggg gtc ctt gat cag ttg caa tct ctt aca cag att gac ttg<br>Val Ser Gly Val Leu Asp Gln Leu Gln Ser Leu Thr Gln Ile Asp Leu<br>515 520 525     | 1701 |
| gag ggc aac cca tgg gac tgt act tgt gac ttg gtg gca tta aag ctg<br>Glu Gly Asn Pro Trp Asp Cys Thr Cys Asp Leu Val Ala Leu Lys Leu<br>530 535 540     | 1749 |
| tgg gtg gag aag ttg agc gac ggg att ttg gtg aaa gaa ctg aaa tgt<br>Trp Val Glu Lys Leu Ser Asp Gly Ile Val Val Lys Glu Leu Lys Cys<br>545 550 555 560 | 1797 |
| gag acg cct gtt cag ttt gcc aac att gaa ctg aag tcc ctc aaa aat<br>Glu Thr Pro Val Gln Phe Ala Asn Ile Glu Leu Lys Ser Leu Lys Asn<br>565 570 575     | 1845 |
| gaa atc tta tgt ccc aaa ctt tta aat aag ccg tct gca cca ttc aca<br>Glu Ile Leu Cys Pro Lys Leu Leu Asn Lys Pro Ser Ala Pro Phe Thr<br>580 585 590     | 1893 |
| agc cct gca cct gcc att aca ttc acc act cct ttg ggt ccc att cga<br>Ser Pro Ala Pro Ala Ile Thr Phe Thr Pro Leu Gly Pro Ile Arg<br>595 600 605         | 1941 |
| agt cct cct ggt ggg cca gtg cct ctg tot att tta atc tta agt atc<br>Ser Pro Pro Gly Gly Pro Val Pro Leu Ser Ile Leu Ile Leu Ser Ile<br>610 615 620     | 1989 |
| tta gtg gtc ctc att tta acg gtg ttt gtt gct ttt tgc ctt ctt gtt<br>Leu Val Val Leu Ile Leu Thr Val Ala Phe Cys Leu Leu Val<br>625 630 635 640         | 2037 |
| ttt gtc ctg cga cgc aac aag aaa ccc aca gtg aag cac gaa ggc ctg<br>Phe Val Leu Arg Arg Asn Lys Lys Pro Thr Val Lys His Glu Gly Leu<br>645 650 655     | 2085 |
| ggg aat cct gac tgt ggc tcc atg cag ctg cag cta agg aag cat gag<br>Gly Asn Pro Asp Cys Gly Ser Met Gln Leu Gln Leu Arg Lys His Asp<br>660 665 670     | 2133 |
| cac aaa acc aat aaa aaa gat gga ctg agc aca gaa gct ttc att cca<br>His Lys Thr Asn Lys Lys Asp Gly Leu Ser Thr Glu Ala Phe Ile Pro<br>675 680 685     | 2181 |
| caa act ata gaa gag atg agc aag agc cac act tgt ggc ttg aaa gag<br>Gln Thr Ile Glu Gln Met Ser Lys Ser His Thr Cys Gly Leu Lys Glu<br>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<br>Ser Glu Thr Gly Phe Met Phe Ser Asp Pro Pro Gly Gln Lys Val Val<br>705 710 715 720 | 2277 |
| atg aga aat gtg gcc gac aag gag aaa gat tta tta cat gta gat acc<br>Met Arg Asn Val Ala Asp Lys Glu Lys Asp Leu Leu His Val Asp Thr<br>725 730 735     | 2325 |
| agg aag aga ctg agc aca att gat gag ctg gat gaa tta ttc cct agc<br>Arg Lys Arg Leu Ser Thr Ile Asp Glu Leu Asp Glu Leu Phe Pro Ser<br>740 745 750     | 2373 |
| agg gat tcc aat gtg ttt att cag aat ttt ctt gaa agc aaa aag gag<br>Arg Asp Ser Asn Val Phe Ile Gln Asn Phe Leu Glu Ser Lys Lys Glu<br>755 760 765     | 2421 |
| tat aat agc ata ggt gtc agt ggc ttt gag atc cgc tat cca gaa aaa<br>Tyr Asn Ser Ile Gly Val Ser Gly Phe Glu Ile Arg Tyr Pro Glu Lys<br>770 775 780     | 2469 |
| caa cca gac aaa aaa agt aag aag tca ctg ata ggt ggc aac cac agt<br>Gln Pro Asp Lys Lys Ser Lys Ser Leu Ile Gly Gly Asn His Ser<br>785 790 795 800     | 2517 |
| aaa att gtt gtg gaa caa agg aag agt gag tat ttt gaa ctg aag gcg<br>Lys Ile Val Val Glu Glu Arg Lys Ser Glu Tyr Phe Glu Leu Lys Ala<br>805 810 815     | 2565 |
| aaa ctg cag agt tcc cct gac tac cta cag gtc ctt gsg gag caa aca<br>Lys Leu Gln Ser Ser Pro Asp Tyr Leu Gln Val Leu Glu Glu Gln Thr<br>820 825 830     | 2613 |
| gct ttg aac aag atc tag<br>Ala Leu Asn Lys Ile<br>835   | 2631 |
| <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<br>1 5 10 15  |      |
| Asn Ala Asp Ser Asp Ile Ser Val Glu Ile Cys Asn Val Cys Ser Cys<br>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 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

&lt;210&gt; 26

&lt;211&gt; 1694

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo sapiens

|  |     |
|--|-----|
| <400> 26   |     |
| tcactctatg aacagcacat ggtgagcccc atgggttcatg tcttatagaag tccatcttt   | 60  |
| ggtccaaaggc atctggaaga ggaagaagag aggaatgaga aagaaggaag tgatgcaaaa   | 120 |
| catctccaaa gaagtccttt ggaacaggaa aatcattcac cactcacagg gtcaaataatg   | 180 |
| aaatacacaaa ccacgaacca atcaacagaa tttttatccc tccaaatgc cagtcattt     | 240 |
| tacagaaaaaca ttttagaaaa agaaaggaa cttcagcaac tggaaatcac agaataaccta  | 300 |
| aggaaaaaca ttgctcagct ccagcctgat atggaggcac attatcctgg agcccacgaa    | 360 |
| gagctgaagt taatggAAC attaatgtac tcacgtccaa ggaaggattt agtggAACAG     | 420 |
| acaaaaaaaaatg agtattttga actttaaagt aatttacatg ctgaaacctga ctatTTGAA | 480 |
| gtcctggagc agcaaacata gatggagagt ttgaggcatt tcgcagaaat gctgtgattc    | 540 |
| tgttttaagt ccataccttg taaataaagt ctttacgtt gtgtgtcatc aatcagaacc     | 600 |
| taagcacagc agttaaactat gggaaaaaaa aaagaagaag aaaagaaact cagggatcac   | 660 |

WO 02/20569

PCT/US01/28013

58

<210> 27

<211> 841

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 27

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 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 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 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 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  
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

&lt;210&gt; 28

&lt;211&gt; 639

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1)..(636)

&lt;223&gt;

|   |  |     |
|---|--|-----|
| <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 Ser Leu Leu Asp     |  |     |
| 1 5 10 15   |  |     |
| atc tac tgt tta ctc acg tat tgg atg gag 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      | tgc          | 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 |
| Lys      | Pro          | Leu  | Ile | Ser | Asn | Val | Glu | Gln | Ile | Ile | Gly | Ile | Pro | Gly |     |
| 85       |              |      |     |     | 90  |     |     | 95  |     |     |     |     |     |     |     |
| cag      | aat          | cgc  | cg  | gag | ata | ggc | cat | ggc | cag | gat | atc | ttt | cca | gca | gag |
| 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 | cg  | aag | gtg | aac | ctt | cac | aga | gct | gcc |
| Lys      | Leu          | Cys  | His | Leu | Gln | Asp | Arg | Arg | 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 |
| Trp      | Gly          | Trp  | 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 | agg | ttt |
| 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 |
| 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 |
| 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 |
| 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

5220>

<221> CDS

<222> (204) . , (860)

223

|   |  |     |
|---|--|-----|
| 400> 30   |  | 60  |
| tggccatcgcca gaggtctgtg gagttggagag gcgaggccctc acgggtggaaac tctcagatga |  |     |
| cacatcgcatgcg gcaccaagag atgtggacgca catacagaag acagccatcg actggatctgg  |  | 120 |
| ggacatcgcaa caataaacagg tgatgttccaa caaatttgtt caaaaaggagg ggggataaac   |  | 180 |
| acgctggccc atgctggca agc atg gca cca cct tcc agg cac tgt ctt ott        |  | 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 tgc ctg         |  | 473 |
| Ser Tyr Asn Gly His Leu Thr Ile Trp Phe Thr Asp Thr Ser Ala Leu         |  |     |
| 75 80 85 90   |  |     |
| ggc cac 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 ttg 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 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   |  |     |
| agg ttta ctc atc'cat agg ggt ggg gac aat gac tcc aag gag aag ccc        |  | 665 |
| Ser Leu Leu Ile His Ile Gln 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<br>Met Trp Leu His Lys Gly Trp Gln Pro Cys Met Tyr Ile Ser Phe Leu<br>155 160 165 170 |     |     | 713  |
| gat atg gct ctt aac agg gac tca gcc tta aaa tca tat agt att<br>Asp Met Ala Leu Phe Asn Arg Asp Ser Ala Leu Lys Ser Tyr Ser Ile<br>175 180 185         |     |     | 761  |
| gaa aac gtt acc agc att gcc aac aac ttt cct gac ttt tct tac ttt<br>Glu Asn Val Thr Ser Ile Ala Asn Asn Phe Pro Asp Phe Ser Tyr Phe<br>190 195 200     |     |     | 809  |
| aga acc ttc cca atg cca agc aac aaa agc tat gtt gtc aca ttt att<br>Arg Thr Phe Pro Met Pro Ser Asn Lys Ser Tyr Val Val Thr Phe Ile<br>205 210 215     |     |     | 857  |
| tac tagcataata actgtgtcca gctgcctgga actttggcaa atgtatgtata<br>Tyr  |     |     | 910  |
| atttgcagaa ggaatctgga aataaggccg tgagataggat atccctaccc acaactgtgc<br>ctctctccgc aggctccatt tgcaacacag ccacacatac caataaccag ctctctgttc               |     |     | 970  |
| tgctctgtgc ccaactgoga gaacactttt g  |     |     | 1030 |
|   |     |     | 1061 |
| <210> 31  |     |     |      |
| <211> 219   |     |     |      |
| <212> PRT   |     |     |      |
| <213> Homo sapiens  |     |     |      |
| <400> 31  |     |     |      |
| Met Ala Pro Pro Ser Arg His Cys Leu Leu Ile Ser Thr Leu Gly<br>1 5 10 15  |     |     |      |
| Val Phe Ala Leu Asn Cys Phe Thr Lys Gly Gln Lys Asn Ser Thr Leu<br>20 25 30   |     |     |      |
| Ile Phe Thr Arg Glu Asn Thr Ile Arg Asn Cys Ser Cys Ser Ala Asp<br>35 40 45   |     |     |      |
| Ile Arg Asp Cys Asp Tyr Ser Leu Ala Asn Leu Met Cys Asn Cys Lys<br>50 55 60   |     |     |      |
| Thr Val Leu Pro Leu Ala Val Glu Arg Thr Ser Tyr Asn Gly His Leu<br>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

|   |     |
|---|-----|
| accagggtg acctcatat ctcctcgta gttctgcctg tgaagggtcc caccatctt       | 60  |
| aacatcacca cactggagcc tcagttcttg agacaggaaat ctttacatgat gagccacaga | 120 |
| cttagacat ttatgcgcac ccacggggagc acatgtctatc agtgcgtggcg gagagttgg  | 180 |
| gggttaaggag gtgacactaca atggactggc tcattggggaa cacaccatgc           | 240 |
| catgtggac 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 |
| Ile 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 gtc 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 Ilys 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 Ilys 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 tagatcctg tgtccctcca 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 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 Ile 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 Ser Leu Lys Ser  
165 170 175

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

5220>

5221 > CDS

<222> (1) (680)

<223>

```

<400> 34
atg gcc tct ctt ggc ctc caa ctt gtg ggc tac atc cta ggc ctt ctg
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
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
Ser Ser Tyr Val Gly Ala Ser Ile Val Thr Ala Val Gly The Ser Lys
35          40          45

ggc ctc tgg atg gaa tgt ggc acc cac agc aca ggc atc acc cag tgt
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
Asp Ile Tyr Ser Thr Leu Ieu 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 qtg 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 gag 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 Ser  
 180 185 190

aac tac tac gat gcc tac caa gcc cca 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

&lt;213&gt; Homo sapiens

<220>  
<221> misc\_feature.  
<222> (998)..(998)  
<223> unknown amino

<400> 36  
tgggttcgga gttcattact acaggaaaaaa ctgttcttctt ctgtggcaca gagaaccctg 60  
cttcaaagca gaagtagcag ttccggagtc cagctggctta aaactcatcc cagaggataa 120  
tggcaaccca tgccttagaa atcgctgggc tggttcttg gggtgttggaa atgggtggca 180  
cagtggctgt cactgtcatg cctcagtggaa gagtgtcgcc cttcattgaa aacaacatcg 240  
tggtttttaa aacttcttggaa gaaggactgtt ggatgtatgg cgtgaggcag gctaactca 300  
ggatgcagtg caaatcttat gatcccctgc tggctcttcc tccggaccta caggcagcca 360  
gaggactgtat gtgtgctgtccgtatgtt cccttggc ttcatgtatg gccatccctt 420  
gcatgaaatg caccaggatgc acgggggaca atgagaagggt gaaagctcac attctgtga 480  
cggttggaaat caatcttcatttccatcgttccatggggca caaccctgtt aacctgtttt 540  
ccaaatccat catcagatgttccatggggca caatagtgttggccaa aacatgttgc 600  
ttggagaagc tctctactta ggatggacca cggcactgtt gctsattgtt ggaggagotc 660  
tgttctgtcg cggttttgy tgcacacgaaa agagcactgtt ctacagatc tgcataccctt 720  
ccccatcgac aacccaaaaaa agttatcaca cccggaaagaa gtcacccgagc gtctactcca 780  
gaagttagtgc tgcgtatgtt tttacttttta ctataaagcc atgcataatgtt 840  
caaaaatcta tattacttccatggaa cccggaaagaa actttgatttactgttccatggggca 900  
actgcctaat cttaattaca ggaactgtgc atcagcttatttataatttgcataatgtt 960  
cagcagaatg agatattaaa tccatgttccatggggca 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 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

```
Val  
225  
  
<210> 38  
<211> 833  
<212> DNA  
<213> Homo sapiens
```

<220>  
<221> CDS  
<222> (159)..(830)  
<223>

|                 |                 |                 |                 |                 |                     |     |
|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|---------------------|-----|
| <400>           | 38              |                 | 60              |                 |                     |     |
| ccaaatgtcg      | tcacagctac      | tgatttggac      | taaaacgtta      | tgggcagcag      | ccaaggagaa          |     |
| catcatcaa       | gactttctca      | gactcaaag       | gcttccacgt      | tctatcatctt     | gcatatcttc          | 120 |
| taccactccg      | aattgaatcca     | gtcttcaaag      | taaggagc        | atg gca ttt tat | ccc ttg             | 176 |
|                 |                 |                 | Met Ala         | Phe Tyr Pro Leu |                     |     |
|                 |                 |                 | 1               | 5               |                     |     |
| caa att aat 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     | gtc gtt ttt     | ggc agc         |                     | 272 |
| Ala Thr Thr Leu | 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     | ttt             |                     | 368 |
| Ile Arg Gln Ala | Arg Val Arg Leu | Gln Cys Lys     | Phe Tyr Ser     | Ser Leu         |                     |     |
| 55              | 60              | 65              | 70              |                 |                     |     |
| tgt gct ctc cgg | cct gcc ctg gaa | aca gcc cgg     | gcc ctc atg ttt | 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     | ttt att ggc     | atc ttt         | ggc atg             | 464 |
| Ala Val Ala Leu | Ser Leu Ile Ala | Leu Glu Thr     | Ala Arg Ala     | 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  
 Leu Gly Thr Ser Gly Val Ile 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  
 Ile Pro Val Ser Trp Thr Ala Asn 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  
 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 gtc ctc ttc att gga ggg ggt ctg ctt  
 Leu Gly Trp Ala Ser Ala Ala Val Leu Phe Ile Gly Gly Leu Leu  
 170 175 180

tgt gga ttt tgc tgc tgc aac aga aag aag caa ggg tac aga tat cca  
 Cys Gly Phe Cys Cys Asn Arg 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  
 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  
 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 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 ggc 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 att 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 Ile 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 Ile 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 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 15  
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 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

|   |     |  |
|---|-----|--|
| <400> 42  |     |  |
| atg gag gca aat cag tgc ccc ctg gtt gtc 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 gtc act ctt gga gaa gaa aac aga aaa     | 96  |  |
| Leu Val Ile Asn Val Gly Glu Val Thr Leu Gly 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 ggtt att cga atg gcc        | 192 |  |
| Ala Ala Cys Ala Leu Leu Asn Ser Gly Gly Val Ile Arg Met Ala         |     |  |
| 50 55 60  |     |  |
| aag aag gtt gag cat ccc gtc 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   |     |  |
| ttt aca gag ctt att cag tct tca gat ctg cag gtc gtt ttc ttg 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 ctt 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 aca tct gag acc tct gtc 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 aca 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   |     |  |
| ttt 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 |  |
| Leu Pro Asn Ser Asp Pro Ala Asp Pro Asn Ser Asp Pro Ala Asp Leu     |     |  |
| 180 185 190   |     |  |
| att ttc caa aaa gag tat ctt gaa tat ggt gaa atc ctg cct ttt cct     | 624 |  |
| Ile Phe Glu 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<br>Glu Tyr Val Lys Arg Thr Ile Pro Glu Tyr Val Pro Ala Phe Ala Asn<br>225 230 235 240 | 720  |
| act gga gga ggc tat ctt ttt ntt ggn gtg gat gat aag agt agg gaa<br>Thr Gly Gly Gly Tyr Leu Phe Xaa Gly Val Asp Asp Lys Ser Arg Glu<br>245 250 255     | 768  |
| gtc ctg gga tgt gca aaa gaa aat ntt gac cct gac tct ttg aga ngg<br>Val Leu Gly Cys Ala Lys Glu Asn Xaa Asp Pro Asp Ser Leu Arg Xaa<br>260 265 270     | 816  |
| aaa ata gaa can gcc ata tac aaa cta cct tgt ntt cat ttt tgc caa<br>Lys Ile Glu Thr Ala Ile Tyr Lys Leu Pro Cys Xaa His Phe Cys Gin<br>275 280 285     | 864  |
| ccc caa cgc ccg ata acc ttc aca ctc aaa att gtg gat gtn tta aaa<br>Pro Gln Arg Pro Ile Thr Phe Thr Leu Lys Ile Val Asp Val Leu Lys<br>290 295 300     | 912  |
| agg gga gag ctc tat ggc tat gct tgc atg atc aga gta aat ccc ttc<br>Arg Gly Glu Ile Tyr Gly Tyr Ala Cys Met Ile Arg Val Asn Pro Phe<br>305 310 315 320 | 960  |
| tgc tgt gca gtg ttc tca gaa gct ccc aat tca tgg ata gtg gag gac<br>Cys Cys Ala Val Phe Ser Glu Ala Pro Asn Ser Trp Ile Val Glu Asp<br>325 330 335     | 1008 |
| aag tac gtc tgc agc ctc aca acc gag aaa tgg gta ggc atg atg aca<br>Lys Tyr Val Cys Ser Leu Thr Thr Glu Lys Trp Val Glu Met Met Thr<br>340 345 350     | 1056 |
| gac aca gat cca gat ctt cta cag ttg tct gaa gat ttt gaa tgt cag<br>Asp Thr Asp Pro Asp Leu Ser Glu Asp Phe Glu Cys Gln<br>355 360 365                 | 1104 |
| ctg agt cta tct agt ggg cct ccc ctt agc aga cca gtg tac tcc aag<br>Leu Ser Leu Ser Ser Gly Pro Pro Leu Ser Arg Pro Val Tyr Ser Lys<br>370 375 380     | 1152 |
| aaa ggc ctg gaa cat aaa aag gaa ctc cag caa ctt tta ttt tca gtc<br>Lys Gly Leu Glu His Lys Lys Glu Leu Gln Gln Leu Leu Phe Ser Val<br>385 390 395 400 | 1200 |
| cca cca gga tat ttg cga tat act cca gag tca ctc tgg agg gac ctg<br>Pro Pro Gly Tyr Leu Arg Tyr Thr Pro Glu Ser Leu Trp Arg Asp Leu<br>405 410 415     | 1248 |
| atc tca gag cac aga gga cta gag gag tta ata aat aag caa atg caa<br>Ile Ser Glu His Arg Gly Leu Glu Leu Ile Asn Lys Gln Met Gln<br>420 425 430         | 1296 |
| cct ttc ttt cgg gga att gtg atc ctc tct aga agc tgg gct gtg gac<br>Pro Phe Arg Gly Ile Val Ile Leu Ser Arg Ser Trp Ala Val Asp<br>435 440 445         | 1344 |
| ctg aac ttg cag gag aag cca gga gtc atc tgt gat gct ctg ctg ata<br>Leu Asn Leu Gln Glu Lys Pro Gly Val Ile Cys Asp Ala Leu Leu Ile<br>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 caq gat<br>Ala Gln Asn Ser Thr Pro Ile Leu Tyr Thr Ile Leu Arg Glu Gln Asp<br>465 470 475 480 | 1440 |
| gca gag ggc cag gac tac tgc act cgc acc gcc ttt act ttg aag cag<br>Ala Glu Gly Gln Asp Tyr Cys Thr Arg Thr Ala Phe Thr Leu Lys Gln<br>485 490 495     | 1488 |
| aag cta gtg aac atg ggg ggc tac acc cgg aag gtg tgt gtc agg gcc<br>Lys Leu Asn Met Gly Tyr Thr Gly Lys Val Cys Val Arg Ala<br>500 505 510             | 1536 |
| aag gtc ctc tgc ctg agt cct gag agc agc gca gag gcc ttg gag gct<br>Lys Val Leu Cys Leu Ser Pro Glu Ser Ser Ala Glu Ala Leu Glu Ala<br>515 520 525     | 1584 |
| gca gtg tct ccg atg gat tac cct gcg tcc tat agc ctt gca ggc acc<br>Ala Val Ser Pro Met Asp Tyr Pro Ala Ser Tyr Ser Leu Ala Gly Thr<br>530 535 540     | 1632 |
| cag cac atg gaa gcc ctg ctg cag tcc ctc qtg att gtc tta ctc ggc<br>Gln His Met Glu Ala Leu Leu Gln Ser Leu Val Ile Val Leu Leu Gly<br>545 550 555 560 | 1680 |
| tcc agg tct ctc ttg agt gac cag ctc ggc tgt gag gtt tta aat ctg<br>Phe Arg Ser Leu Leu Ser Asp Gln Leu Gly Cys Glu Val Leu Asn Leu<br>565 570 575     | 1728 |
| ctc aca gcc cac gag tat gag ata ttc tcc aga agc ctc cgc aag aac<br>Leu Thr Ala Gln Gln Tyr Glu Ile Phe Ser Arg Ser Leu Arg Lys Asn<br>580 585 590     | 1776 |
| aga gag ttg ttt gtc cac ggc tta cct ggc tca ggg aag acc atc atg<br>Arg Glu Leu Phe Val His Gly Leu Pro Gly Ser Gly Lys Thr Ile Met<br>595 600 605     | 1824 |
| gcc atg aag atc atg gag aag atc agg aat gtg ttt cac tgt gag gca<br>Ala Met Lys Ile Met Glu Lys Ile Arg Asn Val Phe His Cys Glu Ala<br>610 615 620     | 1872 |
| cac aga att ctc tac gtt tgt gaa aac cag ctc agg aac ttt atc<br>His Arg Ile Leu Tyr Val Cys Glu Asn Gln Pro Leu Arg Asn Phe Ile<br>625 630 635 640     | 1920 |
| agt gat aga aat atc tgc cga gca gag acc cgg aaa act ttc cta aga<br>Ser Asp Arg Asn Ile Cys Arg Ala Glu Thr Arg Lys Thr Phe Leu Arg<br>645 650 655     | 1968 |
| gaa aac ttt gaa cac att caa cac atc gtc att gac gaa gct cag aat<br>Glu Asn Phe Glu His Ile Gln His Ile Val Ile Asp Glu Ala Gln Asn<br>660 665 670     | 2016 |
| tcc cgt act gaa gat ggg gac tgg tat ggg aag gca aaa agc atc act<br>Phe Arg Thr Glu Asp Gly Asp Trp Tyr Gly Lys Ala Lys Ser Ile Thr<br>675 680 685     | 2064 |
| cgg aga gca aag ggt ggc cca gga att ctc tgg atc ttt ctg gat tac<br>Arg Arg Ala Lys Gly Gly Pro Gly Ile Leu Trp Ile Phe Leu Asp Tyr                    | 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<br>Phe Gln Thr Ser His Leu Asp Cys Ser Gly Leu Pro Pro Leu Ser Asp<br>705 710 715 720 |     |     | 2160 |
| caa tat cca aga gaa gag ctc acc aga ata gtt cgc aat gca gat cca<br>Gln Tyr Pro Arg Glu Glu Leu Thr Arg Ile Val Arg Asn Ala Asp Pro<br>725 730 735     |     |     | 2208 |
| ata gcc aag tac tta caa aaa gaa aat gca agt aat tag<br>Ile Ala Lys Tyr Leu Gln Lys Glu Asn Ala Ser Asn<br>740 745                                     |     |     | 2247 |

<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 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 Tyr Leu Phe Xaa Gly Val Asp Asp Lys Ser Arg Glu  
 245 250 255

WO 02/20569

PCT/US01/28013

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 Thx 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

&lt;210&gt; 44

&lt;211&gt; 2676

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1)..(2673)

&lt;223&gt;

|   |     |
|---|-----|
| <400> 44  |     |
| atg agt ctt agg att gat gtg gat aca aac ttt cct gag ttt 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 cac gag 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 cac 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 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 gan 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 ctg 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<br>Asp Ser Gln Glu Ala Leu Ala Phe Leu Lys Cys Arg Thr Gln Thr Pro | 432  |     |  |
| 130 135 140  |      |     |  |
| acg aat att aat gtt tcc aat tca tta ggt cca cag gca gct cag ggt<br>Thr Asn Ile Asn Val Ser Asn Ser Leu Gly Pro Gln Ala Ala Gln GLY | 480  |     |  |
| 145 150 155 160  |      |     |  |
| agt gta caa tat gaa ggt aac ata aat gtg tca gct gct gct tta ttt<br>Ser Val Gln Tyr Glu Gly Asn Ile Asn Val Ser Ala Ala Ala Leu Phe | 528  |     |  |
| 165 170 175  |      |     |  |
| gat aga aag cgg ctt cag tat ctg gaa aac ctc aac ctt cct gag tcc<br>Asp Arg Lys Arg Leu Gln Tyr Leu Glu Lys Leu Asn Leu Pro Gln Ser | 576  |     |  |
| 180 185 190  |      |     |  |
| aca cat gtt gaa ttt gta atg ttc tcg aca gac gtg tca cac tgt gtt<br>Thr His Val Glu Phe Val Met Phe Ser Thr Asp Val Ser His Cys Val | 624  |     |  |
| 195 200 205  |      |     |  |
| aaa gac aga ctt ccg aag tgt gtt tct gca ttt gca aat act gaa gga<br>Lys Asp Arg Leu Pro Lys Cys Val Ser Ala Phe Ala Asn Thr Glu GLY | 672  |     |  |
| 210 215 220  |      |     |  |
| gga tat gta ttt ttt ggt gtg cat gat gag act tgt caa gtg att gga<br>Gly Tyr Val Phe Phe Gly Val His Asp Glu Thr Cys Gln Val Ile GLY | 720  |     |  |
| 225 230 235 240  |      |     |  |
| tgt gaa aaa gag aaa ata gac ctt acg aac ttg agg gct tct att gat<br>Cys Glu Lys Ile Asp Leu Thr Ser Leu Arg Ala Ser Ile Asp         | 768  |     |  |
| 245 250 255  |      |     |  |
| ggc tgt att aag aag cta cct gtc cat cat ttc tgc aca cag agg cct<br>Gly Cys Ile Lys Leu Pro Val His Phe Cys Thr Gln Arg Pro         | 816  |     |  |
| 260 265 270  |      |     |  |
| gag ata aaa tat gtc ctt aac ttc ctt gaa gtg cat gat aag ggg gcc<br>Glu Ile Lys Tyr Val Leu Asn Phe Leu Glu Val His Asp Lys Gly Ala | 864  |     |  |
| 275 280 285  |      |     |  |
| ctc cgt gga tat gtc tgt gca atc aag gtg gag aaa ttc tgc tgt gcg<br>Leu Arg Gly Tyr Val Cys Ala Ile Lys Val Glu Lys Phe Cys Cys Ala | 912  |     |  |
| 290 295 300  |      |     |  |
| gtg ttt gcc aaa gtg cct agt tcc tgg cag gtg aag gac aac cgt gtg<br>Val Phe Ala Lys Val Pro Ser Ser Trp Gln Val Lys Asp Asn Arg Val | 960  |     |  |
| 305 310 315 320  |      |     |  |
| aga caa ttg ccc aca aga gag tgg act gct tgg atg atg gaa gct gac<br>Arg Gln Leu Pro Thr Arg Glu Trp Thr Ala Trp Met Met Glu Ala Asp | 1008 |     |  |
| 325 330 335  |      |     |  |
| cca gac ctt tcc agg tgt cct gag atg gtt ctc cag ttg aat ttg tca<br>Pro Asp Leu Ser Arg Cys Pro Glu Met Val Leu Gln Leu Ser Leu Ser | 1056 |     |  |
| 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 gtc 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 ggc 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 aac ctg gtc 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 The 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 tcg 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 aca 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 Gly Ser Gly Lys Thr Ile Leu Ala Leu Arg Ile Met |  | 580 | 585 | 590 |  |
| 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 gtc 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 ggc 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 aac ctg gtc 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 The 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 tcg 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 aca 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 Gly Ser Gly Lys Thr Ile Leu Ala Leu Arg Ile Met |  | 580 | 585 | 590 |  |   |      |   |  |     |     |     |  |
| 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 gtc 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 ggc 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 aac ctg gtc 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 The 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 tcg 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 aca 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 Gly Ser Gly Lys Thr Ile Leu Ala Leu Arg Ile Met |  | 580 | 585 | 590 |     |   |      |   |  |     |     |     |  |   |      |   |  |     |     |     |  |
| 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 gtc 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 ggc 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 aac ctg gtc 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 The 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 tcg 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 aca 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 Gly Ser Gly Lys Thr Ile Leu Ala Leu Arg Ile Met |  | 580 | 585 | 590 |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |  |   |      |   |  |     |     |     |  |
| 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 gtc 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 ggc 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 aac ctg gtc 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 The 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 tcg 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 aca 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 Gly Ser Gly Lys Thr Ile Leu Ala Leu Arg Ile Met |  | 580 | 585 | 590 |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |  |   |      |   |  |     |     |     |  |
| 430   |      |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |  |   |      |   |  |     |     |     |  |
| gag aag cag gga gtc atc tgt gat gtc 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 ggc 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 aac ctg gtc 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 The 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 tcg 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 aca 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 Gly Ser Gly Lys Thr Ile Leu Ala Leu Arg Ile Met |  | 580 | 585 | 590 |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |  |   |      |   |  |     |     |     |  |
| 445   |      |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |  |   |      |   |  |     |     |     |  |
| acc cct att ctc tac acc atc ttc agc aag tgg gat ggc 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 aac ctg gtc 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 The 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 tcg 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 aca 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 Gly Ser Gly Lys Thr Ile Leu Ala Leu Arg Ile Met |  | 580 | 585 | 590 |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |  |   |      |   |  |     |     |     |  |
| 460   |      |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |  |   |      |   |  |     |     |     |  |
| ggc tat tct atg ata gtt gcc tat tct ttg aag cag aac ctg gtc 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 The 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 tcg 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 aca 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 Gly Ser Gly Lys Thr Ile Leu Ala Leu Arg Ile Met |  | 580 | 585 | 590 |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |  |   |      |   |  |     |     |     |  |
| 475   | 480  |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |  |   |      |   |  |     |     |     |  |
| aaa ggc ggc tac act ggg agg tta tgc atc acc ccc ttg gtc tgt gtg | 1488 |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |  |   |      |   |  |     |     |     |  |
| Lys Gly Gly Tyr The 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 tcg 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 aca 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 Gly Ser Gly Lys Thr Ile Leu Ala Leu Arg Ile Met |  | 580 | 585 | 590 |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |  |   |      |   |  |     |     |     |  |
| 495   |      |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |  |   |      |   |  |     |     |     |  |
| ctg aat tct gat aga aaa gca cag agc gtt tac agt tcg 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 aca 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 Gly Ser Gly Lys Thr Ile Leu Ala Leu Arg Ile Met |  | 580 | 585 | 590 |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |  |   |      |   |  |     |     |     |  |
| 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 aca 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 Gly Ser Gly Lys Thr Ile Leu Ala Leu Arg Ile Met |  | 580 | 585 | 590 |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |  |   |      |   |  |     |     |     |  |
| 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 aca 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 Gly Ser Gly Lys Thr Ile Leu Ala Leu Arg Ile Met |  | 580 | 585 | 590 |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |  |   |      |   |  |     |     |     |  |
| 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 aca 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 Gly Ser Gly Lys Thr Ile Leu Ala Leu Arg Ile Met |  | 580 | 585 | 590 |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |  |   |      |   |  |     |     |     |  |
| 555   | 560  |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |  |   |      |   |  |     |     |     |  |
| tat gag ttg ctt tca aag aac ctt cgc aag acc aca 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 Gly Ser Gly Lys Thr Ile Leu Ala Leu Arg Ile Met |  | 580 | 585 | 590 |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |  |   |      |   |  |     |     |     |  |
| 575   |      |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |  |   |      |   |  |     |     |     |  |
| cat ggc tta cct gga tca ggg aag act atc ttg gct ctt agg atc atg | 1776 |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |  |   |      |   |  |     |     |     |  |
| His Gly Leu Pro Gly Ser Gly Lys Thr Ile Leu Ala Leu Arg Ile Met |      |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |  |   |      |   |  |     |     |     |  |
| 580   | 585  | 590 |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |  |   |      |   |  |     |     |     |  |
| 590   |      |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |     |   |      |   |  |     |     |     |  |   |      |   |  |     |     |     |  |

WO 02/20569

PCT/US01/28013

92

|   |      |
|---|------|
| gag aag atc agg aat gtg ttt cac tgt gaa ccg gct aac att ctc tac<br>Glu Lys Ile Arg Asn Val Phe His Cys Glu Pro Ala Asn Ile Leu Tyr<br>595 600 605     | 1824 |
| atc tgt gaa aac cag ccc ctg aag aag ttg gtg agt ttc agc aag aza<br>Ile Cys Glu Asn Gln Pro Leu Lys Lys Leu Val Ser Phe Ser Lys Lys<br>610 615 620     | 1872 |
| aac atc tgc cag cca qtg acc ccg aaa acc ttc atg aaa aac aac ttt<br>Asn Ile Cys Gln Pro Val Thr Arg Lys Thr Phe Met Lys Asn Asn Phe<br>625 630 635 640 | 1920 |
| gaa cac atc cag cac att atc att gat gac gct cag aat ttc cgt act<br>Glu His Ile Gln His Ile Ile Asp Asp Ala Gln Asn Phe Arg Thr<br>645 650 655         | 1968 |
| gaa gat ggg gac tgg tat ggg aaa gca aag ttc atc act cga cag caa<br>Glu Asp Gly Asp Trp Tyr Gly Lys Ala Lys Phe Ile Thr Arg Gln Gln<br>660 665 670     | 2016 |
| agg gat ggc cca gga tt ttc tgg atc ttt ctg gac tac ttt cag acc<br>Arg Asp Gly Pro Gly Val Leu Trp Ile Phe Leu Asp Tyr Phe Gln Thr<br>675 680 685      | 2064 |
| tat cac ttg agt tgc agt ggc ctc ccc cct ccc tca gac cag tat cca<br>Tyr His Leu Ser Cys Ser Gly Leu Pro Pro Ser Asp Gln Tyr Pro<br>690 695 700         | 2112 |
| aga gaa gag atc aac aga gtg gtc cgc aat gca ggt cca ata gct aat<br>Arg Glu Glu Ile Asn Arg Val Val Arg Asn Ala Gly Pro Ile Ala Asn<br>705 710 715 720 | 2160 |
| tac cta caa caa gta atg cag gaa gcc cga aat cct cca cct aac<br>Tyr Leu Gln Gln Val Met Gln Glu Ala Arg Gln Asn Pro Pro Asn<br>725 730 735             | 2208 |
| ctc ccc cct ggg tcc ctg gtg atg ctc tat gaa cct aaa tgg gct caa<br>Leu Pro Pro Gly Ser Leu Val Met Ile Tyr Glu Pro Lys Trp Ala Gln<br>740 745 750     | 2256 |
| ggg gtc cca ggc aac tta gag att att gaa gac ttg aac ttg gag gag<br>Gly Val Pro Gly Asn Leu Glu Ile Ile Glu Asp Leu Asn Leu Glu Glu<br>755 760 765     | 2304 |
| ata ctg atc tat gta gcg aat aaa tgc cgt ttt ctc ttg cgg aat ggt<br>Ile Leu Ile Tyr Val Ala Asn Lys Cys Arg Phe Leu Leu Arg Asn Gly<br>770 775 780     | 2352 |
| tat tct ccg aag gat att gct gtg ctt ttc acc aaa gca agt gaa gtg<br>Tyr Ser Pro Lys Asp Ile Ala Val Leu Phe Thr Lys Ala Ser Glu Val<br>785 790 795 800 | 2400 |
| gaa aaa tat aaa gac agg ctt cta aca gca atg agg aag aga aaa ctg<br>Glu Lys Tyr Lys Asp Arg Leu Leu Thr Ala Met Arg Lys Arg Lys Leu<br>805 810 815     | 2448 |
| tct cag ctc cat gag gag tct gat ctg tta cta cag atc ggt gat gcg<br>Ser Gln Leu His Glu Ser Asp Leu Leu Gln Ile Gly Asp Ala<br>820 825 830             | 2496 |

WO 02/20569

PCT/US01/28013

93

|   |      |
|---|------|
| tcg gat gtt cta acc gat cac att gtg ttg gac agt gtc tgg cga ttt<br>Ser Asp Val Leu Thr Asp His Ile Val Leu Asp Ser Val Cys Arg Phe<br>835 840 845 | 2544 |
| tca ggc ctg gaa aga aat atc gtg ttt gga atc aat cca gga gta gcc<br>Ser Gly Leu Glu Arg Asn Ile Val Phe Gly Ile Asn Pro Gly Val Ala<br>850 855 860 | 2592 |
| cca ccg gct ggg gcc tac aat ctt ctg ctc tgt ttg gct tct agg gca<br>Pro Pro Ala Gly Ala Tyr Asn Leu Leu Cys Leu Ala Ser Arg Ala<br>865 870 875 880 | 2640 |
| aaa aga cat ctg tat att ctg aag gct tct gtg tga<br>Lys Arg His Leu Tyr Ile Leu Lys Ala Ser Val<br>885 890   | 2676 |
| <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<br>1 5 10 15  |      |
| Asp Ala Gly Lys Val Thr Leu Gly Thr Gln Gln Arg Gln Glu Met Asp<br>20 25 30   |      |
| Pro Arg Leu Arg Glu Lys Gln Asn Glu Ile Ile Leu Arg Ala Val Cys<br>35 40 45   |      |
| Ala Leu Leu Asn Ser Gly Gly Ile Ile Lys Ala Glu Ile Glu Asn<br>50 55 60   |      |
| Lys Gly Tyr Asn Tyr Glu Arg His Gly Val Gly Leu Asp Val Pro Pro<br>65 70 75 80  |      |
| Ile Phe Arg Ser His Leu Asp Lys Met Gln Lys Glu Asn His Phe Leu<br>85 90 95   |      |
| Ile Phe Val Lys Ser Trp Asn Thr Glu Ala Gly Val Pro Leu Ala Thr<br>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 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 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 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

&lt;210&gt; 46

&lt;211&gt; 1737

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1)..(1734)

&lt;223&gt;

|   |  |     |
|---|--|-----|
| <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 ctc aat tct gga ggg gga gtg atc aag gct gaa att gag |  | 192 |
| Cys Ala Leu Leu Asn Ser 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<br>Asn Ser Phe Ser Asn Ile Leu Leu Phe Val Pro Glu Tyr Leu Asp Phe<br>85 90 95        | 288 |
| atg cag aat ggt aac tac ttt ctg att ttt gtg aag tca tgg agc ttg<br>Met Gln Asn Asn Tyr Phe Leu Ile Phe Val Lys Ser Trp Ser Leu<br>100 105 110         | 336 |
| aac acc tct ggt ctg cgg att acc acc ttg agc tcc aat ttg tac aaa<br>Asn Thr Ser Gly Leu Arg Ile Thr Thr Leu Ser Ser Asn Leu Tyr Lys<br>115 120 125     | 384 |
| aga gat ata aca tct gca aaa gtc atg aat gcc act gct gca ctg gag<br>Arg Asp Ile Thr Ser Ala Lys Val Met Asn Ala Thr Ala Ala Leu Glu<br>130 135 140     | 432 |
| tcc ctc aaa gac atg aaa aag act aga ggg aga ttg tat tta aga cca<br>Phe Leu Lys Asp Met Lys Thr Arg Gly Arg Leu Tyr Leu Arg Pro<br>145 150 155 160     | 480 |
| gaa ttg ctg gca aag agg ccc tgt gtt gat ata caa gaa aat aac<br>Glu Leu Leu Ala Lys Arg Pro Cys Val Asp Ile Gln Glu Glu Asn Asn<br>165 170 175         | 528 |
| atg aag gcc ttg gcc ggg gtt ttt ttg gat aga aca gaa ctt gat cgg<br>Met Lys Ala Leu Ala Gly Val Phe Phe Asp Arg Thr Glu Leu Asp Arg<br>180 185 190     | 576 |
| aaa gaa aaa ttg acc ttt act gaa tcc aca cat gtt gaa att aaa aac<br>Lys Glu Lys Leu Thr Phe Thr Glu Ser Thr His Val Glu Ile Lys Asn<br>195 200 205     | 624 |
| ttc tcg aca gaa aag ttg tta cca cga att aaa gag att ctc cct caa<br>Phe Ser Thr Glu Lys Leu Leu Gln Arg Ile Lys Glu Ile Leu Pro Gln<br>210 215 220     | 672 |
| tat gtt tct gca ttt gca aat act gat gga gga tat ttg ttc att ggt<br>Tyr Val Ser Ala Phe Ala Asn Thr Asp Gly Gly Tyr Leu Phe Ile Gly<br>225 230 235 240 | 720 |
| tta aat gaa gat aaa gaa ata att ggc ttt aaa gca gag atg agt gac<br>Leu Asn Glu Asp Lys Glu Ile Ile Gly Phe Lys Ala Glu Met Ser Asp<br>245 250 255     | 768 |
| ctc gat gac tta gaa aag gaa atc gaa aag tcc att agg aag atg cct<br>Leu Asp Asp Leu Glu Arg Glu Ile Glu Lys Ser Ile Arg Lys Met Pro<br>260 265 270     | 816 |
| gtg cat cac ttc tgt atg gag aag aag aat aat tat tca tgc aaa<br>Val His Phe Cys Met Glu Lys Lys Ile Asn Tyr Ser Cys Lys<br>275 280 285                 | 864 |
| ttc ctt gga gta tat gat aaa gga agt ctt tgt gga tat gtc tgt gca<br>Phe Leu Gly Val Tyr Asp Lys Gly Ser Leu Cys Gly Tyr Val Cys Ala<br>290 295 300     | 912 |
| ctc aga gtg gag cgc ttc tgc tgt gca gtg ttt gct aaa gag cct gat<br>Leu Arg Val Glu Arg Phe Cys Cys Ala Val Phe Ala Lys Glu Pro Asp<br>305 310 315 320 | 960 |

WO 02/20569

PCT/US01/28013

99

|   |      |
|---|------|
| tcc tgg cat gtg aaa gat aac cgt gtg atg cag ttg acc agg aag gaa<br>Ser Trp His Val Lys Asp Asn Arg Val Met Gln Leu Thr Arg Lys Glu<br>325 330 335     | 1008 |
| tgg atc cag ttc atg gtg gag gct gaa cca aaa ttt tcc agt tca tat<br>Trp Ile Gln Phe Met Val Glu Ala Glu Pro Lys Phe Ser Ser Tyr<br>340 345 350         | 1056 |
| gaa gag gtg atc tct caa ata aat acg tca tta cct gct ccc cac agt<br>Glu Glu Val Ile Ser Gln Ile Asn Thr Ser Leu Pro Ala Pro His Ser<br>355 360 365     | 1104 |
| tgg cct ctt ttg gaa tgg caa cgg cag aga cat cac tgt cca ggg cta<br>Trp Pro Leu Leu Glu Trp Gln Arg Gln Arg His His Cys Pro Gly Leu<br>370 375 380     | 1152 |
| tca gga agg ata acg tat act cca gaa aac ctt tgc aga aaa ctg ttc<br>Ser Gly Arg Ile Thr Tyr Thr Pro Glu Asn Leu Cys Arg Lys Leu Phe<br>385 390 395 400 | 1200 |
| tta caa cat gaa gga ctt aag caa tta ata tgt gaa gaa atg gac tct<br>Leu Gln His Glu Gly Leu Lys Gln Ile Cys Glu Glu Met Asp Ser<br>405 410 415         | 1248 |
| gtc aga aag ggc tca ctg atc ttc tct agg agc tgg tct gtg gat ctg<br>Val Arg Lys Gly Ser Leu Ile Phe Ser Arg Ser Trp Ser Val Asp Leu<br>420 425 430     | 1296 |
| ggc ttg caa gag aac cac aaa gtc ctc tgt gat gct ctt ctg att tcc<br>Gly Leu Gln Glu Asn His Lys Val Leu Cys Asp Ala Leu Leu Ile Ser<br>435 440 445     | 1344 |
| cag gac agt cct cca gtc cta tac acc ttc cac atg gta cag gat gag<br>Gln Asp Ser Pro Pro Val Leu Tyr Thr Phe His Met Val Gln Asp Glu<br>450 455 460     | 1392 |
| gag ttt aaa ggc tat tct aca caa act gcc cta acc tta aag cag aag<br>Glu Phe Lys Gly Tyr Ser Thr Gln Thr Ala Leu Thr Leu Lys Gln Lys<br>465 470 475 480 | 1440 |
| ctg gca aaa att ggt ggt tac act aaa aaa gtg tgt gtc atg aca aag<br>Leu Ala Lys Ile Gly Gly Tyr Thr Lys Lys Val Cys Val Met Thr Lys<br>485 490 495     | 1488 |
| atc ttc tac ttg agc cct gaa ggc atg aca agc tgc cag tat gat tta<br>Ile Phe Tyr Leu Ser Pro Glu Gly Met Tbr Ser Cys Gln Tyr Asp Leu<br>500 505 510     | 1536 |
| agg tcg caa gta att tac cct gaa tcc tac tat ttt aca aga agg aaa<br>Arg Ser Gln Val Ile Tyr Pro Glu Ser Tyr Tyr Phe Thr Arg Arg Lys<br>515 520 525     | 1584 |
| tac ttg ctg aaa gcc ctt ttt aaa gcc tta aag aga ctc aag tct ctg<br>Tyr Leu Leu Lys Ala Leu Phe Lys Ala Leu Lys Arg Leu Lys Ser Leu<br>530 535 540     | 1632 |
| aga gac cag ttt tcc ttt gca gaa aat cta tac cag ata atc ggt ata<br>Arg Asp Gln Phe Ser Phe Ala Glu Asn Leu Tyr Gln Ile Ile Gly Ile                    | 1680 |

WO 02/20569

PCT/US01/28013

100

|   |     |     |     |      |
|---|-----|-----|-----|------|
| 545   | 550 | 555 | 560 |      |
| gat tgc ttt cag aag aat gat aaa aag atg ttt aaa tct tgt cga agg<br>Asp Cys Phe Gln Lys Asn Asp Lys Met Phe Lys Ser Cys Arg Arg<br>565 570 575 |     |     |     | 1728 |
| ctc acc tga<br>Leu Thr  |     |     |     | 1737 |
| <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<br>1 5 10 15  |     |     |     |      |
| Asp Val Gly Arg Val Thr Leu Gly Glu Asn Ser Arg Lys Lys Met Lys<br>20 25 30   |     |     |     |      |
| Asp Cys Lys Leu Arg Lys Lys Gln Asn Glu Arg Val Ser Arg Ala Met<br>35 40 45   |     |     |     |      |
| Cys Ala Leu Leu Asn Ser Gly Gly Val Ile Lys Ala Glu Ile Glu<br>50 55 60   |     |     |     |      |
| Asn Glu Asp Tyr Ser Tyr Thr Lys Asp Gly Ile Gly Leu Asp Leu Glu<br>65 70 75 80  |     |     |     |      |
| Asn Ser Phe Ser Asn Ile Leu Leu Phe Val Pro Glu Tyr Leu Asp Phe<br>85 90 95   |     |     |     |      |
| Met Gln Asn Gly Asn Tyr Phe Leu Ile Phe Val Lys Ser Trp Ser Leu<br>100 105 110  |     |     |     |      |
| Asn Thr Ser Gly Leu Arg Ile Thr Thr Leu Ser Ser Asn Leu Tyr Lys<br>115 120 125  |     |     |     |      |
| Arg Asp Ile Thr Ser Ala Lys Val Met Asn Ala Thr Ala Ala Leu Glu<br>130 135 140  |     |     |     |      |

WO 02/20569

PCT/US01/28013

101

Phe Leu Lys Asp Met Lys Lys Thr Arg Gly 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 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 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 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

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1)..(2691)

&lt;223&gt;

|   |    |  |     |
|---|----|--|-----|
| <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 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 aca 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 ggt att cag atg gaa     |    |  | 192 |
| Ala Ala Cys Ala Leu Leu Asn Ser 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 ttg |    |  | 288 |
| Gl. 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 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<br>Lys Ala Val Tyr Gln Asn Ile Ser Glu Ser Asn Pro Ala Tyr Glu Val<br>180 185 190     | 576  |
| ttc caa act gag act att gaa tat ggt gaa atc cta tct ttt cct gag<br>Phe Gln Thr Asp Thr Ile Glu Tyr Gly Glu Ile Leu Ser Phe Pro Glu<br>195 200 205     | 624  |
| tct cca tcc ata gag ttt aaa cag ttc tct aca aaa cat atc caa caa<br>Ser Pro Ser Ile Glu Phe Lys Gln Phe Ser Thr Lys His Ile Gln Gln<br>210 215 220     | 672  |
| tat gta gaa aat ata att cca gag tac atc tct gca ttt gca aac act<br>Tyr Val Glu Asn Ile Ile Pro Glu Tyr Ile Ser Ala Phe Ala Asn Thr<br>225 230 235 240 | 720  |
| gag gga ggc tat ctt ttt att gga gtg gat gat aag agt agg aac gtc<br>Glu Gly Gly Tyr Leu Phe Ile Gly Val Asp Asp Lys Ser Arg Lys Val<br>245 250 255     | 768  |
| ctg gga tgt gcc aaa gaa cag gtt gac cct gac tct ttg aaa aat gta<br>Leu Gly Cys Ala Lys Glu Gln Val Asp Pro Asp Ser Leu Lys Asn Val<br>260 265 270     | 816  |
| att gca aga gca att tct aag ttg ccc att gtt cat ttt tgc tct tca<br>Ile Ala Arg Ala Ile Ser Lys Leu Pro Ile Val His Phe Cys Ser Ser<br>275 280 285     | 864  |
| aaa cct ccg gta gag tac agc acc aaa atc gta gaa gtg ttt tgt egg<br>Lys Pro Arg Val Glu Tyr Ser Thr Lys Ile Val Glu Val Phe Cys Gly<br>290 295 300     | 912  |
| aaa gag ttg tat ctc tgt gtg att aaa gtg aag gca ttc tgt<br>Lys Glu Leu Tyr Gly Tyr Leu Cys Val Ile Lys Val Lys Ala Phe Cys<br>305 310 315 320         | 960  |
| tgt gtg ttc tcg gaa gct ccc aag tca ttg atg gtg agg gag aag<br>Cys Val Val Phe Ser Glu Ala Pro Lys Ser Trp Met Val Arg Glu Lys<br>325 330 335         | 1008 |
| tac atc cgc ccc ttg aca act gag gaa ttg gta gag aaa atg atg gac<br>Tyr Ile Arg Pro Leu Thr Thr Glu Glu Trp Val Glu Lys Met Met Asp<br>340 345 350     | 1056 |
| gca gat cca gag ttt cct cca gac ttt gct gag gcc ttt gag tct cag<br>Ala Asp Pro Glu Phe Pro Pro Asp Phe Ala Glu Ala Phe Glu Ser Gln<br>355 360 365     | 1104 |
| ttg agt cta tct gac agt cct tca ctt tgc aga cca gtg tat tct aag<br>Leu Ser Leu Ser Asp Ser Pro Ser Leu Cys Arg Pro Val Tyr Ser Lys<br>370 375 380     | 1152 |
| aaa ggt ctg gaa cac aaa gct gat cta caa caa cat tta ttt cca gtt<br>Lys Gly Leu Glu His Lys Ala Asp Leu Gln Gln His Leu Phe Pro Val<br>385 390 395 400 | 1200 |
| cca cca gga cat ttg gaa tgt act cca gag tcc ctc tgg aag gag ctg<br>Pro Pro Gly His Leu Glu Cys Thr Pro Glu Ser Leu Trp Lys Glu Leu<br>405 410 415     | 1248 |

WO 02/20569

PCT/US01/28013

105

|   |      |
|---|------|
| tct tta cag cat gaa gga cta aag gag tta ata cac aag caa atg cga<br>Ser Leu Gln His Glu Gly Leu Lys Glu Leu Ile His Lys Gln Met Arg<br>420 425 430     | 1296 |
| cct ttc tcc cag gga att gtg atc ctc tct aga agc tgg gct gtg gac<br>Pro Phe Ser Gln Gly Ile Val Ile Leu Ser Arg Ser Trp Ala Val Asp<br>435 440 445     | 1344 |
| ctg aac ttg cag gag aag cca gga gtc atc tgt gat gct ctg ctg ata<br>Leu Asn Leu Gln Glu Lys Pro Gly Val Ile Cys Asp Ala Leu Leu Ile<br>450 455 460     | 1392 |
| gca cag aac agc acc ccc att ctc tac acc att ctc agg gag cag gat<br>Ala Gln Asn Ser Thr Pro Ile Leu Tyr Thr Ile Leu Arg Glu Gln Asp<br>465 470 475 480 | 1440 |
| gca gag ggc cag gag tac tgc act cgc acc gcc ttt act ttg aag gag<br>Ala Glu Gly Gln Asp Tyr Cys Thr Arg Thr Ala Phe Thr Leu Lys Gln<br>485 490 495     | 1488 |
| aag cta gtg aac atg ggg ggc tac acc ggg aag gtg tgt gtc agg gcc<br>Lys Leu Val Asn Met Gly Gly Tyr Thr Gly Lys Val Cys Val Arg Ala<br>500 505 510     | 1536 |
| aag gtc ctc tgc ctg agt cct gag agc agc gca gag gcc ttg gag gct<br>Lys Val Leu Cys Leu Ser Pro Glu Ser Ser Ala Glu Ala Leu Glu Ala<br>515 520 525     | 1584 |
| gca gtg tct ccg atg gat tac ctc cgt tcc tat agc ctt gca ggc acc<br>Ala Val Ser Pro Met Asp Tyr Pro Ala Ser Tyr Ser Leu Ala Gly Thr<br>530 535 540     | 1632 |
| cag cac atg gaa gcc ctg ctg cag tcc ctc gtg att gtc tta ctc ggc<br>Gln His Met Glu Ala Leu Leu Gln Ser Leu Val Ile Val Leu Leu Gly<br>545 550 555 560 | 1680 |
| tcc agg ttc ctc ttg agt gag cag ctc ggc tgt gag gtt tta aat ctg<br>Phe Arg Ser Leu Leu Ser Asp Gln Leu Gly Cys Glu Val Leu Asn Leu<br>565 570 575     | 1728 |
| ctc aca gcc cag tat gag ata ttc tcc aga agc ctc cgc aag aac<br>Leu Thr Ala Gln Gln Tyr Glu Ile Phe Ser Arg Ser Leu Arg Lys Asn<br>580 585 590         | 1776 |
| aga gag ttg ttt gtc cac ggc tta cct ggc tca ggg aag acc atc atg<br>Arg Glu Leu Phe Val His Gly Leu Pro Gly Ser Gly Lys Thr Ile Met<br>595 600 605     | 1824 |
| gcc atg aag atc atg gag aag atc agg aat gtg ttt cac tgt gag gca<br>Ala Met Lys Ile Met Glu Lys Ile Arg Asn Val Phe His Cys Glu Ala<br>610 615 620     | 1872 |
| cac aga att ctc tac gtt tgt gaa aac gag ctc cgt agg aac ttt atc<br>His Arg Ile Leu Tyr Val Cys Glu Asn Gln Pro Leu Arg Asn Phe Ile<br>625 630 635 640 | 1920 |
| agt gat aga aat atc tgc cga gca gag acc cgg gaa act ttc cta aga<br>Ser Asp Arg Asn Ile Cys Arg Ala Glu Thr Arg Glu Thr Phe Leu Arg                    | 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<br>Glu Lys Phe Glu His Ile Gln His Ile Val Ile Asp Glu Ala Gln Asn | 660 | 665 | 2016 |
|  |     | 670 |      |
| tcc cgt act gaa gat ggg gac tgg tat agg aag gca aat acc atc act<br>Phe Arg Thr Glu Asp Gly Asp Trp Tyr Arg Lys Ala Lys Thr Ile Thr | 675 | 680 | 2064 |
|  |     | 685 |      |
| cag aga gaa aag gat tgt cca gga gtt ctc tgg atc ttt ctg gac tac<br>Gln Arg Glu Lys Asp Cys Pro Gly Val Leu Trp Ile Phe Leu Asp Tyr | 690 | 695 | 2112 |
|  |     | 700 |      |
| ttt cag acc agt cac ttg ggt cac agt ggc ctt ccc cct ctc tca gca<br>Phe Gln Thr Ser His Leu Gly His Ser Gly Leu Pro Pro Leu Ser Ala | 705 | 710 | 2160 |
|  |     | 715 |      |
|  |     | 720 |      |
| cag tat cca aga gaa gag ctc acc aga gta gtt cgc aat gca gat gaa<br>Gln Tyr Pro Arg Glu Leu Thr Arg Val Val Arg Asn Ala Asp Glu     | 725 | 730 | 2208 |
|  |     | 735 |      |
| ata gcc gag tac ata caa caa gaa atg caa cta att ata gaa aat cct<br>Ile Ala Glu Tyr Ile Gln Gln Glu Met Gln Leu Ile Ile Glu Asn Pro | 740 | 745 | 2256 |
|  |     | 750 |      |
| cca att aat atc ccc cat ggg tat ctg gca att ctc agt gaa gct aat<br>Pro Ile Asn Ile Pro His Gly Tyr Leu Ala Ile Leu Ser Glu Ala Lys | 755 | 760 | 2304 |
|  |     | 765 |      |
| tgg gtt ccc ggt gtt cca ggc aac aca aag att att aaa aac ttt act<br>Trp Val Pro Gly Val Pro Gly Asn Thr Lys Ile Ile Lys Asn Phe Thr | 770 | 775 | 2352 |
|  |     | 780 |      |
| ttg gag caa ata gtg acc tat gtg gca gac acc tgc agg tgc ttc ttt<br>Leu Glu Gln Ile Val Thr Tyr Val Ala Asp Thr Cys Arg Cys Phe Phe | 785 | 790 | 2400 |
|  |     | 795 |      |
|  |     | 800 |      |
| gaa agg ggc tat tct cca aag gat gtt gct gtg ctt gtc agc acc gtg<br>Glu Arg Gly Tyr Ser Pro Lys Asp Val Ala Val Leu Val Ser Thr Val | 805 | 810 | 2448 |
|  |     | 815 |      |
| aca gaa gtg gag cag tat cag tct aag ctc ttg aaa gca atg agg aag<br>Thr Glu Val Glu Gln Tyr Gln Ser Lys Leu Leu Lys Ala Met Arg Lys | 820 | 825 | 2496 |
|  |     | 830 |      |
| aaa atg gtg gtg cag ctc agt gat gca tgt gat atg ttg ggt gtg cac<br>Lys Met Val Val Gln Leu Ser Asp Ala Cys Asp Met Leu Glu Val His | 835 | 840 | 2544 |
|  |     | 845 |      |
| att gtg ttg gac agt gtc cgg cga ttc tca ggc ctg gaa agg agc ata<br>Ile Val Leu Asp Ser Val Arg Arg Phe Ser Gly Leu Glu Arg Ser Ile | 850 | 855 | 2592 |
|  |     | 860 |      |
| gtg ttt ggg atc cat cca agg aca gct gac cca gct atc tta ccc aat<br>Val Phe Gly Ile His Pro Arg Thr Ala Asp Pro Ala Ile Leu Pro Asn | 865 | 870 | 2640 |
|  |     | 875 |      |
|  |     | 880 |      |
| att ctg atc tgt ctg gtc 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 2694  
 Leu

<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 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 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 Tyr  
 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 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 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

<220>

<221> CDS

<222>

```

<400> 50
atg gag agt ctc aag act gat act gaa atg ccg tat cct gag gta ata
Met Glu Ser Leu Lys Thr Asp Thr Glu Met Pro Tyr Pro Glu Val Ile
1           5           10          15

gta gat gtg ggc aca gtt att ttt gga gaa gaa aac agg aag aag atg
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 aat tct gag aat tct aga att atc cgg gct
Thr Asn Ser Cys Leu Lys Arg Sex 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
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
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
Glu Thr Ser Phe Gln Lys Leu Leu Pro Ser Gly Ser Gln Lys Tyr Leu
85          90          95

gac tac atg cac gag ggg cac aat ctc ctc att ttt gtg aag tca tgg
Asn Tyr Met Gln Gln Glu His Asn Leu Leu Ile Phe Val Lys Ser Trp
336

```

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<br>Ser Pro Asp Val Phe Ser Leu Pro Leu Arg Ile Cys Ser Leu Arg Ser<br>115 120 125     |     |     | 384  |
| aat ttg tat cgg aga gat gtg act tct gct atc aac ttg agt gct agc<br>Asn Leu Tyr Arg Arg Asp Val Thr Ser Ala Ile Asn Leu Ser Ala Ser<br>130 135 140     |     |     | 432  |
| agt gcc ctg gag ctt ctc aga gag aag ggg ttt aga gcc caa aga gga<br>Ser Ala Leu Glu Leu Leu Arg Glu Lys Gly Phe Arg Ala Gln Arg GLY<br>145 150 155 160 |     |     | 480  |
| aga cca agg gtg aag aag ttg cat cct cag cag gtt ctc aat aga tgc<br>Arg Pro Arg Val Lys Lys Leu His Pro Gln Gln Val Leu Asn Arg Cys<br>165 170 175     |     |     | 528  |
| att cag gaa gag gaa gat atg agg ata ttg gcc tca gaa ttt ttt aaaa<br>Ile Gln Glu Glu Asp Met Arg Ile Leu Ala Ser Glu Phe Phe Lys<br>180 185 190        |     |     | 576  |
| aag gac aaa ctc atg tat aag gag aaa ctc aac ttt act gag tca aca<br>Lys Asp Lys Leu Met Tyr Lys Glu Lys Leu Asn Phe Thr Glu Ser Thr<br>195 200 205     |     |     | 624  |
| cat gtt gaa ttt aaaa agg ttc acc acc aaaa gtc ata cct cgg att<br>His Val Glu Phe Lys Arg Phe Thr Thr Lys Lys Val Ile Pro Arg Ile<br>210 215 220       |     |     | 672  |
| aag gaa atg ctg cct cat tat gtt ttt gca aac act caa ggg<br>Lys Glu Met Leu Pro His Tyr Val Ser Ala Phe Ala Asn Thr Gln GLY<br>225 230 235 240         |     |     | 720  |
| gga tat gtc ctc att ggg gtg gat gat aag agc aaa gaa gtg gtt gga<br>Gly Tyr Val Leu Ile Gly Val Asp Asp Lys Ser Lys Glu Val Val Gly<br>245 250 255     |     |     | 768  |
| tgt aag tgg gaa aaa gtg aat cct gac tta cta aaa aaa gaa atc gaa<br>Cys Lys Trp Glu Lys Val Asn Pro Asp Leu Leu Lys Glu Ile Glu<br>260 265 270         |     |     | 816  |
| aac tgc ata gaa aaa ttg cct aca ttc cac ttc tgc tgt gag aag cca<br>Asn Cys Ile Glu Lys Leu Pro Thr Phe His Phe Cys Cys Glu Lys Pro<br>275 280 285     |     |     | 864  |
| aag gta aat ttc act aca aaa atc ctg aat gtg tac caa aaa gat gtc<br>Lys Val Asn Phe Thr Thr Lys Ile Leu Asn Val Tyr Gln Lys Asp Val<br>290 295 300     |     |     | 912  |
| ctg gat ggt tat gtc tgt gtg att caa gtg gag ccc ttc tgt tgc gtg<br>Leu Asp Gly Tyr Val Cys Val Ile Gln Val Glu Pro Phe Cys Cys Val<br>305 310 315 320 |     |     | 960  |
| gtg ttt gca gag gcc cca gat tcc tgg atc atg aaa gac aat tct gtc<br>Val Phe Ala Glu Ala Pro Asp Ser Trp Ile Met Lys Asp Asn Ser Val<br>325 330 335     |     |     | 1008 |
| 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 sag 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 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 Asp Met Arg Ile Leu Ala Ser Glu Phe Phe Lys  
180 185 190

Lys Asp 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 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

52202

<221> CDS

<222> (1)..(804)

<223>

<400> 52  
atg ctc ttc gtc aag gag agt gac aag ggg atc aac agt aag agg agg agg  
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  
Ser Lys Ala Arg Arg Leu Lys Leu Gly Leu Pro Gly Pro Gly Pro  
20 25 30  
  
cca ggt cct cag ggc ccc cca ggc ccc ttt atc cca tct gag gtt ctg  
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  
Leu Lys Glu Phe Gln Leu 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  
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  
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 ggc acc ttg gcc cag ggc ccc cgg  
Gly Ala Leu Ala Leu Ala Leu 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  
Ala Pro Arg Val Glu Ala Ala Phe His Cys Arg Leu Arg Arg Asp Val  
115 120 125  
  
cag cgt gat cgg cgt gcg ttg cac gag ctt ggg atc tac tac ctg ccc  
Gln Val Asp Arg Arg Ala Leu His Glu Leu Gly Ile Tyr Tyr Leu Pro  
130 135 140  
  
gaa ggt gag gga gcc ttc cac cgg ggc cca ggc ttg aat ctg acc acc  
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 ggc ttg aat ctg acc act  
Gly Gln Tyr Thr Ala Pro Val Aia Gly Phe Tyr Ala Leu 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 atc tgc atc cag tct ctc tgt cag cac 624  
 Arg Asp Arg Leu Arg 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 aac agc gag ctc 672  
 Asn Ala Ser Leu Glu Thr Val Met Gly Leu Glu Asn Ser Ser Glu Leu  
 210 215 220

tcc 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 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 Gly Leu  
 260 265

&lt;210&gt; 53

&lt;211&gt; 268

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 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

(74) Agent: SCHRAM, David, B.; Schering Corporation,

Patent Dept. K-6-1 1990, 2000 Galloping Hill Road, Kenilworth, NJ 07033-0530 (US).

Patent Dept. K-6-1 1990, 2000 Galloping Hill Road, Kenilworth, NJ 07033-0530 (US).

(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 Tanlund 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 Silverberg Drive, San Jose, CA 95136-2415 (US); GREIN, Jeffery, 1083-A Alla Mira Drive, Santa Clara, CA 95051 (US); SMITH, Kathleen, M.; 275 Ventura #6, Palo Alto, CA 94304 (US); McCCLANAHAN, Terrill, K.; 1081 Westchester Drive, Sunnyvale, CA 94087 (US).

(81) Designated States (national): AT, AG, AI, 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, IIR, ILU, 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, SI, SG, SI, SK, SI, 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, FR, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GG, 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 designationsPublished:  
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; RELATED 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.<br>PCT/US 01/28013   |   |   |
| A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER<br>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<br>Minimum documentation searched (Classification system followed by classification symbols)<br>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)<br>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!<br>EBI;<br>KAWAI J ET AL: "Functional annotation of a<br>full-length mouse cDNA collection."<br>Database accession no. Q9CQ18<br>XP002209003<br>abstract<br>----- | 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 doubt on priority, claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)                  |   |   |
| *O* document referring 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   |   |   |
| 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<br>European Patent Office, P.O. 5018 Patenttaan 2<br>NL - 2280 HV Rijswijk<br>Tel. (+31-70) 340-2000, Fax: +31-651 epo nl,<br>Fax: (+31-70) 340-3016 | Authorized officer<br><br>Keller, Y   |   |

Form PCT/ISA/97.0 (second edition) [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(c) 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.  Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
  
2.  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.  Claims Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

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

### Remark on Protest

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

No protest accompanied the payment of additional search fees.

Form PCT/ISA/210 (continuation of first sheet (1)) (July 1998)

## フロントページの続き

| (51) Int.Cl. <sup>7</sup> | 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      |
| C 0 7 K 14/47             | C 1 2 N 1/15  | 4 H 0 4 5  |
| 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,S1,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, クリストファー エル.  
アメリカ合衆国 カリフォルニア 94116, サン フランシスコ, 30ティエイチ アベニュー 2385
- (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 94560, ネワーク, セントラル アベニュー 6371
- (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 94303, パロ アルト, ナンバー212, タンランド ドライブ 1091
- (72)発明者 アライ, ナオコ  
アメリカ合衆国 カリフォルニア 94306, パロ アルト, ジョージア アベニュー 648
- (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 95051, サンタ クララ, ポメロイ アベニュー 1046
- (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 94114, サン フランシスコ, アルバラード ストリート 559
- (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 94301, パロ アルト, エマーソン ストリート 180
- (72)発明者 サブロー, チェタン  
アメリカ合衆国 カリフォルニア 95136-2415, サン ノゼ, シルバーベリー ドライブ 4402
- (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 95051, サンタ クララ, アルタ ミラ ドライブ 1083-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 94304, パロ アルト, ベントウーラ ナンバー6  
275

(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 94087, サニーベール, ウエストチェスター ドライ  
ブ 1081

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