

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第3670030号
(P3670030)

(45) 発行日 平成17年7月13日(2005.7.13)

(24) 登録日 平成17年4月22日(2005.4.22)

(51) Int.C1.⁷

F 1

C07K 14/47	C07K 14/47
C07K 16/18	C07K 16/18
C12N 1/21	C12N 1/21
C12N 15/09	C12P 21/02
C12P 21/02	C12P 21/08

C

請求項の数 11 (全 72 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願平6-84470
(22) 出願日	平成6年4月22日(1994.4.22)
(65) 公開番号	特開平7-330799
(43) 公開日	平成7年12月19日(1995.12.19)
審査請求日	平成13年4月4日(2001.4.4)
(31) 優先権主張番号	特願平5-136602
(32) 優先日	平成5年5月14日(1993.5.14)
(33) 優先権主張国	日本国(JP)
(31) 優先権主張番号	特願平5-257455
(32) 優先日	平成5年9月22日(1993.9.22)
(33) 優先権主張国	日本国(JP)
(31) 優先権主張番号	特願平6-49904
(32) 優先日	平成6年2月23日(1994.2.23)
(33) 優先権主張国	日本国(JP)

(73) 特許権者	000173588 財団法人癌研究会 東京都豊島区上池袋1丁目37番1号
(73) 特許権者	000000217 エーザイ株式会社 東京都文京区小石川4丁目6番10号
(74) 代理人	100087642 弁理士 古谷 聰
(74) 代理人	100076680 弁理士 溝部 孝彦
(74) 代理人	100091845 弁理士 持田 信二
(72) 発明者	中村 祐輔 東京都豊島区北大塚3-17-5

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 MDC蛋白質およびそれをコードするDNA

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

配列番号2に示される蛋白質の全部を含むものからなるMDC蛋白質。

【請求項2】

配列番号3に示される蛋白質の全部を含むものからなるMDC蛋白質。

【請求項3】

配列番号6に示されるDNAの全部を含むものからなるDNA。

【請求項4】

配列番号7に示されるDNAの全部を含むものからなるDNA。

【請求項5】

配列番号9に示される、エクソン／インtronを含むDNAの全部を含むものからなるDNA。

【請求項6】

請求項3、4または5のいずれかに記載のDNAを含むプラスミド。

【請求項7】

請求項6記載のプラスミドを保持する形質転換体。

【請求項8】

請求項7記載の形質転換体を培養し、発現産物を回収することを含む請求項1または2のいずれかに記載の蛋白質の製造方法。

【請求項9】

10

20

請求項 1 または 2 のいずれかに記載の蛋白質と結合する抗体。

【請求項 1 0】

請求項 3、4 または 5 のいずれかに記載の DNA 配列を含むプライマーまたはプローブ。

【請求項 1 1】

請求項 1 0 記載のプライマ - またはプロ - プを被検 DNA とハイブリダイズさせることを含む遺伝子解析方法。

【発明の詳細な説明】

【0 0 0 1】

【産業上の利用分野】

本発明は MDC 蛋白質、それをコードする遺伝子 DNA および該 DNA を用いる遺伝子解析法に関し、医療、診断等の分野で利用される。

【0 0 0 2】

【従来の技術】

癌の発症には細胞の蛋白質の変異が重要な役割を演ずるという考え方古くから知られている。近年の遺伝子工学の発達は特定蛋白質をコードする遺伝子 DNA の增幅や癌細胞における遺伝子変異の解析を可能にし、癌研究の分野においても飛躍的な発展をもたらした。

これまでに細胞の癌化、癌細胞の異常増殖に関与すると考えられている蛋白質をコードする遺伝子（癌遺伝子）の解析、同定が進み、その数は数十に及んでいる。一方これと反対に作用するもの（癌抑制遺伝子）がここ数年脚光を浴びており、これまでに癌抑制遺伝子として、網膜芽細胞腫の Rb 遺伝子（Friend, S.H. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 84, 9095, 1987）、大腸癌の p53 遺伝子（Lane, D.P. et al., Nature, 278, 261, 1979）および APC 遺伝子（Kenneth, W.K., et al., Science 253, 661, 1991）、Wilms 腫瘍の WT1 遺伝子（Call, K.M. et al., Cell, 60, 509, 1990）などが発見されており、

p53 遺伝子の場合には、変異遺伝子を家系を通じて伝えている例がある（"Li-Fraumeni 症候群"（Makin, D. et al., Science 250, 1233, 1990; Srivastava, S. et al., Nature 348, 747, 1990））ことが知られている。また、癌の発生、進展悪性化、転移などには一つの遺伝子の異常だけでなく複数の遺伝子の異常が関与していることが次第に明らかになりつつあり、さらに多くの未同定の癌遺伝子、癌抑制遺伝子が存在するものと考えられている。それらの発見、解明は研究、臨床の専門家はもとより全世界の人々から期待されているところである。

【0 0 0 3】

乳癌は遺伝性（家族性）乳癌と非遺伝性（散発性）乳癌に分けられ、遺伝性乳癌は発症年齢の区分から早発型と晩発型に分けられる。このうち少なくとも遺伝性で早発型の乳癌においては、家系解析によって第 17 番染色体のごく一部が欠けている頻度が極めて高いことが明らかとなっている（Hall, J.M. et al., Science, 250, 1684-1689, 1990）。また、これと同じ部位は遺伝性卵巣癌でも高頻度に欠失していることが示されている（Narod, S.A. et al., Lancet, 338, 82-83, 1991）。

従って、この欠失部位に癌抑制遺伝子が存在し、その欠損や変異によって引き起こされる蛋白質の欠損や異常が乳癌や卵巣癌の原因の一つであると考えられている。

また一般的（散発性）乳癌の発生においても、この部位の遺伝子の後天的な変異や欠損による蛋白質の異常や欠損が起こり、その細胞が癌となるケースとして関与しているものと考えられている（Sato et al., Cancer Res., 51, 5794-5799, 1991）。このためこの部位に存在する原因遺伝子を単離し、蛋白質を同定することは、今や世界中の医師や研究者のみならず一般の人々、特に乳癌患者の多い欧米では女性にとって切実な問題として期待されている。

【0 0 0 4】

【発明が解決しようとする課題】

本発明は、乳癌および卵巣癌に関わる新規な蛋白質と、それをコードする遺伝子、さらに

10

20

30

40

50

それらを用いた癌の検査方法、診断方法等を提供することにある。

【0005】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは、ヒト第17番染色体のDNA断片を導入したコスミド・クローンを多数作成した。さらにその多数のコスミド・クローンについて、そのDNA断片をプローブとした蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション法 (FISH法; Inazawa et al., Genomics, 10, 1075-1078, 1991) によって染色体上での存在位置を決定した。これら染色体上の位置を決定したコスミド・クローン(コスミド・マーカー)によって第17番染色体についての非常に詳細な物理的染色体地図を作成した。プローブとした各コスミドのクローン名と、決定された染色体上の位置についての一覧を表1～3および図1に示した。図1ではクローン名はクローン番号でのみ示してある。10

【0006】

【表1】

No.	プローブ名	ローカスシンボル	染色体上の位置	No.	プローブ名	ローカスシンボル	染色体上の位置
1	cCI17-1		17q21.1	67	cCI17-501		17q21.3
2	cCI17-7		17q22	68	cCI17-502		17p11.2
3	cCI17-11		17p11.2	69	cCI17-504		17q24
4	cCI17-24		17q21.1-q21.2	70	cCI17-505	D17S544	17p12-p11.1
5	cCI17-25		17q12	71	cCI17-506	D17S545	17q21
6	cCI17-28		17q21.3	72	cCI17-507		17q21.3
7	cCI17-32		17q11.2	73	cCI17-508	D17S546	17q25.1-q25.2
8	cCI17-35		17q21.3	74	cCI17-509		17q24
9	cCI17-44		17q23.1	75	cCI17-510		17q23
10	cCI17-50		17q23.1	76	cCI17-511		17q25.1-q25.2
11	cCI17-57		17q21	77	cCI17-513	D17S548	17q11.2
12	cCI17-63		17q21.3	78	cCI17-514		17q25.1
13	cCI17-90		17q12-q21.1	79	cCI17-515		17q22
14	cCI17-95		17q23.1	80	cCI17-516	D17S550	17q25.1
15	cCI17-96		17q21.3	81	cCI17-517		17q21.3
16	cCI17-97		17q21.31	82	cCI17-518		17q25.3
17	cCI17-315	D17S521	17q25.1-q25.2	83	cCI17-519	D17S551	17q25.2-q25.3
18	cCI17-316		17q12-q21.1	84	cCI17-520		17q11.2
19	cCI17-317		17q11.2	85	cCI17-521		17q25.1-q25.2
20	cCI17-321		Centromere	86	cCI17-523		17q22
21	cCI17-403		17q21.2-q21.3	87	cCI17-524		17q21.1-q21.2
22	cCI17-412		17q11.2	88	cCI17-525		17p13.1
23	cCI17-415		17q21.1-q21.2	89	cCI17-526		17q11.2-q12
24	cCI17-422		17q22	90	cCI17-527		17q21.3
25	cCI17-425		17q11.2	91	cCI17-528		17q22
26	cCI17-428		17q23.1	92	cCI17-529	D17S552	17q25.1-q25.2
27	cCI17-451		17q21.1-q21.2	93	cCI17-530		17q23
28	cCI17-452	D17S524	17q25	94	cCI17-532		17p11.2
29	cCI17-453	D17S525	17p13	95	cCI17-533		17q21.3
30	cCI17-454	D17S526	17q23	96	cCI17-535		17q12-q21.1
31	cCI17-456	D17S527	17q23.1-q23.2	97	cCI17-536		17p11.2
32	cCI17-457		17q11.2	98	cCI17-539		17q21.3
33	cCI17-458	D17S528	17q21.1-q21.2	99	cCI17-540		17q25
34	cCI17-460	D17S529	17q11.2	100	cCI17-541		17q21.3
35	cCI17-462		17q23	101	cCI17-542		17q21.3
36	cCI17-463		17q21	102	cCI17-543		17q11.2-q12
37	cCI17-464		17q24.3-q25.1	103	cCI17-544		17q25.1
38	cCI17-465	D17S531	17q25.1-q25.2	104	cCI17-545		17q25.1
39	cCI17-466		17q25.1-q25.2	105	cCI17-546		17q24.3-q25.1
40	cCI17-467		17q25	106	cCI17-547		17q21.3
41	cCI17-468	D17S532	17q11.2	107	cCI17-548		17q23
42	cCI17-469	D17S533	17q25.2-q25.3	108	cCI17-549		17q25.3
43	cCI17-471		17p13.3-p13.2	109	cCI17-550		17q23
44	cCI17-473	D17S534	17q11.2	110	cCI17-551		17q25.1-q25.2
45	cCI17-475	D17S535	17q11.2	111	cCI17-552		17q12
46	cCI17-477		17q21.3	112	cCI17-553		17q23
47	cCI17-479		17q21.3	113	cCI17-554		17q25.1
48	cCI17-480		17q25.1-q25.2	114	cCI17-557		17q25.1-q25.2
49	cCI17-482	D17S536	17q11.2	115	cCI17-559		17q24.3-q25.1
50	cCI17-483		17p13	116	cCI17-560		17q25.1-q25.2
51	cCI17-484	D17S537	17p13.1	117	cCI17-561		17q25
52	cCI17-485		17q12	118	cCI17-562		17q11.2
53	cCI17-486		17q25.1	119	cCI17-563		17q25.1
54	cCI17-487	D17S538	17q25.1	120	cCI17-564		17q25.1
55	cCI17-488	D17S539	17p13.2-p13.1	121	cCI17-565		17q23
56	cCI17-489	D17S540	17q23	122	cCI17-567		17q21.3
57	cCI17-490		17q11.2	123	cCI17-568		17q25
58	cCI17-491		17p13.1	124	cCI17-569		17q12
59	cCI17-492	D17S542	17q11.2	125	cCI17-570		17q11.1
60	cCI17-493		17q25.1-q25.2	126	cCI17-571		17p13
61	cCI17-494		17q22	127	cCI17-572		17q25.1
62	cCI17-495		17q25	128	cCI17-573		17q25.3
63	cCI17-497		17q11.2	129	cCI17-574		17q12-q21.2
64	cCI17-498		17p11.2	130	cCI17-576		17q21.1-q21.2
65	cCI17-499		17q21.1-q21.2	131	cCI17-577		17q25.1
66	cCI17-500		17p.12	132	cCI17-578		17q11.2-q12

【0007】

【表2】

No.	ローカス プローブ名	シンボル	染色体上の位置	No.	ローカス プローブ名	シンボル	染色体上の位置
133	cCI17-579		17q25.1	198	cCI17-652		17q22
134	cCI17-581		17q11.2	199	cCI17-653		17q22
135	cCI17-582		17q21.3	200	cCI17-654		17p13
136	cCI17-583		17q12-q21.1	201	cCI17-655		17q23
137	cCI17-584		17q21.3	202	cCI17-656		17q25.1
138	cCI17-586		17p13	203	cCI17-657		17p13
139	cCI17-587		17p13	204	cCI17-658		17q21.3
140	cCI17-588		17p13.1	205	cCI17-659		17q25.1
141	cCI17-590		17q12	206	cCI17-660		17q25.1
142	cCI17-591		17q24	207	cCI17-662		17p12
143	cCI17-592		17q21.3	208	cCI17-663		17q25.1
144	cCI17-593		17q25.1-q25.2	209	cCI17-664		17q25.1-q25.2
145	cCI17-594		17q25.2-q25.3	210	cCI17-665		17q23
146	cCI17-595		17q25.1-q25.2	211	cCI17-666		17q23.1
147	cCI17-596		17q11.2	212	cCI17-667		17q24
148	cCI17-597		17q25.3	213	cCI17-668		17q22
149	cCI17-598		17q12-q21.1	214	cCI17-669		17p13
150	cCI17-599		17q12	215	cCI17-670		17q21.3
151	cCI17-600		17q23	216	cCI17-671		17q11.2
152	cCI17-601		17q21.1-q21.2	217	cCI17-672		17q25.1-q25.2
153	cCI17-602		17q11.2-q12	218	cCI17-673		17q12-q21.1
154	cCI17-603		17p11.2	219	cCI17-674		17q21.3
155	cCI17-604		17q23	220	cCI17-675		17q21.3
156	cCI17-605		17q21.1-q21.2	221	cCI17-676		17q23
157	cCI17-606		17p13	222	cCI17-677		17q12-q21.1
158	cCI17-607		17q25	223	cCI17-678		17q23
159	cCI17-608		17p11.2	224	cCI17-679		17q23.1
160	cCI17-609		17q21.3	225	cCI17-680		17p13
161	cCI17-610		17q12-q21.1	226	cCI17-681		17p11.1-p11.2
162	cCI17-611		17q22	227	cCI17-683		17q11.2
163	cCI17-612		17q21.3	228	cCI17-684		17q25.1-q25.2
164	cCI17-613		17q25.1	229	cCI17-685		17p13
165	cCI17-614		17q21.3	230	cCI17-687		17q12
166	cCI17-615		17q21.1	231	cCI17-688		17p11.2
167	cCI17-616		17q25.1	232	cCI17-690		17q11.2-q12
168	cCI17-617		17q21.3	233	cCI17-691		17q25.1
169	cCI17-618		17q23.1	234	cCI17-692		17q23
170	cCI17-619		17q21.3	235	cCI17-693		17p11.2
171	cCI17-621		17q25.1-q25.2	236	cCI17-694		17p11.2
172	cCI17-622		17q12	237	cCI17-695		17p11.2
173	cCI17-623		17q25.1-q25.2	238	cCI17-696		17q23.3
174	cCI17-624		17p13	239	cCI17-697		17q25
175	cCI17-625		17q23	240	cCI17-698		17q11.2
176	cCI17-626		17q23	241	cCI17-699		17q23
177	cCI17-627		17p13	242	cCI17-700		17q23
178	cCI17-628		17q23	243	cCI17-701		17q21.3
179	cCI17-630		17q11.2	244	cCI17-702		17q25.2-q25.3
180	cCI17-631		17p11.2	245	cCI17-703		17p13
181	cCI17-662		17q22	246	cCI17-704		17q23
182	cCI17-633		17q12	247	cCI17-705	D17S554	17p11.2
183	cCI17-634		17q21.3	248	cCI17-706	D17S555	17q12
184	cCI17-636		17p13	249	cCI17-707	D17S556	17q25.1-q25.2
185	cCI17-637		17q12	250	cCI17-708		17p13
186	cCI17-638		17p11.2	251	cCI17-709		17p12
187	cCI17-639		17q12	252	cCI17-710	D17S557	17q25.3
188	cCI17-640		17q11.2	253	cCI17-711		17q32.1
189	cCI17-641		17q25.1	254	cCI17-712	D17S558	17p11.2
190	cCI17-642		17q12-q21.1	255	cCI17-713	D17S559	17p13
191	cCI17-643		17q21.3	256	cCI17-714	D17S560	17q25.3
192	cCI17-644		17q23	257	cCI17-715		17q21.3
193	cCI17-645		17p13	258	cCI17-716	D17S561	17p13
194	cCI17-646		17p13	259	cCI17-717		17p13
195	cCI17-647		17q25.1-q25.2	260	cCI17-719		17q25
196	cCI17-650		17q12	261	cCI17-721		17q23
197	cCI17-651		17q25.1	262	cCI17-722	D17S563	17q25.2-q25.3

【0008】

【表3】

No.	プローブ名	ローカス シンボル	染色体上の位置	No.	プローブ名	ローカス シンボル	染色体上の位置
263	cCI17-723		17p13	304	cCI17-834		17q11.2-q12
264	cCI17-724	D17S564	17p11.2	305	cCI17-835		17q21.3
265	cCI17-726		17q25	306	cCI17-841		17p12
266	cCI17-727	D17S566	17p13	307	cCI17-1005		17q21.3
267	cCI17-728	D17S567	17p12	308	cCI17-1008		17q21.3
268	cCI17-729	D17S568	17q11.2	309	cCI17-1016		17q23.1
269	cCI17-730		17q21.3	310	cCI17-1018		17q21.2-21.3
270	cCI17-732	D17S570	17p13.2	311	cCI17-1019		17q23.1
271	cCI17-733		17q25.1	312	cCI17-1024		17q12
272	cCI17-735	D17S572	17q25.3	313	cCI17-1029		17q11.2
273	cCI17-736	D17S573	17q21.3	314	cCI17-1030		17q22
274	cCI17-737	D17S557	17q25.2-q25.3	315	cCI17-1031		17q11.2
275	cCI17-739	D17S575	17q25.1	316	cCI17-1032		17q23.1-23.2
276	cCI17-741		17q25.3	317	cCI17-1049		17q21.3
277	cCI17-742		17q25	318	cCI17-1055		17q21.3
278	cCI17-743		17q23.3	319	cCI17-1059		17q21.1-q21.2
279	cCI17-744		17q23	320	cCI17-1063		17q12
280	cCI17-745	D17S577	17p13	321	cCI17-1073		17q11.2
281	cCI17-801		17q11.2-q12	322	cCI17-1079		17q12
282	cCI17-802		17p11.2	323	cCI17-1082		17q22
283	cCI17-808		17q25.1-q25.2	324	cCI17-1094		17q21.1
284	cCI17-809		17q23	325	cCI17-1101		17q12
285	cCI17-810		17p13.2-p13.1	326	cCI17-1103		17q11.2
286	cCI17-812		17q25.1	327	cCI17-1106		17q11.2
287	cCI17-813		17q23	328	cCI17-1702		17q21.1-q21.2
288	cCI17-814		17p11.2	329	cCI17-1705		17q21.2-q21.3
289	cCI17-815		17q24	330	cCI17-1706		17q21.1-q21.2
290	cCI17-816		17q23	331	cCI17-1707		17q21.2-q21.3
291	cCI17-817		17q23	332	cCI17-1709		17q12
292	cCI17-818		17p11.2	333	cCI17-1710		17q21.3
293	cCI17-820		17q12	334	cCI17-1711		17q12
294	cCI17-821		17p13	335	cCI17-1715		17q12
295	cCI17-822		17q11.1	336	cCI17-1717		17q21.3
296	cCI17-823		17q12	337	cCI17-1719		17q11.2
297	cCI17-825		17p11.2	338	cCI17-1720		17q24.3-q25.1
298	cCI17-826		17q11.2	339	cCI17-1722		17q23
299	cCI17-827		17p11.2	340	cCI17-1723		17q21.3
300	cCI17-828		17p11.2	341	cCI17-1724		17q11.2
301	cCI17-831		17q25.1-q25.2	342	cCI17-1725		17q21.1
302	cCI17-832		17p11.2	343	PCMM86		17q23
303	cCI17-833		17q23				

【0009】

30

これらのマークターの中から、個体によって制限酵素断片の長さが異なる性質 (RFLP : Restriction Fragment Length Polymorphism : 制限酵素断片長多型) を持つもの、すなわち RFLP マークターを選び出した。表 4 ~ 6 に、選ばれたマークタークローニと、使用する制限酵素名、およびそれによって検出される複数種の断片の具体的断片長を記載した。

【0010】

【表 4】

No.	プローブ名	ローカス シンボル	制限酵素	対立遺伝子 (頻度)	染色体上の位置	
2	cCI17-7	D17S860	PvuII	3.0 kb(0.33) 1.8+1.2 kb(0.67)		
16	cCI17-97	D17S861	PstI	8.2 kb(0.92) 4.7+3.5 kb(0.08)	17q21.3	
17	cCI17-315	D17S521	TaqI	2.0 kb(0.67) 1.8 kb(0.33)	17q25.1-q25.2	
18	cCI17-316	D17S862	MspI	3.1 kb(0.33) 2.7 kb(0.67)	17q12-q21.1	
19	cCI17-317	D17S522	TaqI 2.6-3.9 kb 4 alleles VNTR, 60% heterozygosity also polymorphic with MspI, PstI, PvuII		17q11.2	
28	cCI17-453	D17S525	BglIII 5.8-7.5 kb 4 alleles VNTR, 50% heterozygosity also polymorphic with EcoRI, TaqI, PstI, PvuII, MspI		17p13	10
42	cCI17-469	D17S533	MspI 2.0-2.6 kb 5 alleles VNTR, 83% heterozygosity also polymorphic with EcoRI, TaqI, PvuII		17q25.2-q25.3	
54	cCI17-487	D17S538	EcoRI	5.8 kb(0.75) 3.3 kb(0.25)	17q25.1	
56	cCI17-489	D17S540	MspI	3.3 kb(0.25) 2.1 kb(0.50)	17q23	
			TaqI	1.5 kb(0.50) 1.35 kb(0.50)		
			PvuII	1.2 kb(0.50) 0.7 kb(0.50)		
58	cCI17-491	D17S863	TaqI	3.6 kb(0.75) 3.3 kb(0.25)	17p13.1	
59	cCI17-492	D17S542	BglIII	2.1 kb(0.40) 1.4 kb(0.60)	17q11.2	20
61	cCI17-494	D17S865	EcoRI	10.3 kb(0.92) 7.8 kb(0.008)		
70	cCI17-505	D17S544	MspI	3.1 kb(0.58) 3.0 kb(0.42)	17p12-p11.1	
			TaqI	4.1 kb(0.67) 2.7+1.4 kb(0.33)		
71	cCI17-506	D17S545	MspI	3.0 kb(0.33) 2.6 kb(0.67)	17q21	
73	cCI17-508	D17S546	MspI	4.6 kb(0.50) 4.0 kb(0.50)	17q25.1-q25.2	
80	cCI17-516	D17S550	TaqI	4.1 kb(0.25) 2.4+1.7 kb(0.75)	17q25.1	
			PvuII	3.4 kb(0.83) 2.2 kb(0.17)		
88	cCI17-525	D17S866	MspI	2.7 kb(0.42) 2.3 kb(0.58)		
118	cCI17-562	D17S5867	TaqI	3.5 kb(0.42) 3.2 kb(0.58)		30
			PvuII	7.1 kb(0.92) 6.6 kb(0.08)		
137	cCI17-584	D17S868	MspI	3.8 kb(0.25) 3.6 kb(0.75)		
166	cCI17-615	D17S869	PstI	5.2 kb(0.42) 4.7 kb(0.58)		
243	cCI17-701	D17S870	TaqI 1.7-2.5 kb 6 alleles VNTR, 67% heterozygosity also polymorphic with MspI, PstI, PvuII, RsaI		17q21.3	
244	cCI17-702	D17S871	MspI	4.1 kb(0.83) 3.4 kb(0.17)	17q25.2-q25.3	
			RsaI	5.2 kb(0.83) 4.1 kb(0.17)		
			BglIII	6.6 kb(0.83) 5.6 kb(0.17)		
			PvuII	2.9 kb(0.83) 2.2 kb(0.17)		40

【0011】

【表5】

No.	プローブ名	ローカス シンボル	制限酵素	対立遺伝子 (頻度)	染色体上の位置
245	cCI17-703	D17S877	TaqI	2.6-3.8 kb 4 alleles VNTR, 50% heterozygosity also polymorphic with MspI,RsaI,PstI,PvuII	17p13
247	cCI17-705	D17S554	PstI	4.3 kb(0.50) 2.3 + 2.0 kb(0.50)	17p11.2
250	cCI17-708	D17S878	PvuII	2.6-9.0 kb 10 alleles VNTR, 87% heterozygosity also polymorphic with MspI,TaqI,BglIII,PstI,EcoRI	17p13
252	cCI17-710	D17S557	MspI	2.0-2.6 kb 5 alleles VNTR, 100% heterozygosity also polymorphic with RsaI,TaqI,PstI,PvuII,EcoRI	17q25.3
254	cCI17-712	D17S558	MspI	3.1 kb(0.58) 2.9 kb(0.42)	17p11.2
			TaqI	6.6 kb(0.67) 4.3 + 2.3 kb(0.33)	
			PvuII	7.1 kb(0.50) 3.9 + 3.2 kb(0.50)	
255	cCI17-713	D17S559	MspI	2.2-2.8 kb 3 alleles VNTR, 50% heterozygosity also polymorphic with PstI	17p13
256	cCI17-714	D17S560	RsaI	4.5 kb(0.58) 4.3 kb(0.42)	17q25.3
			TaqI	3.8 kb(0.75) 2.8 kb(0.25)	
			BglIII	3.8 kb(0.58) 3.5 kb(0.42)	
			PvuII	2.6 kb(0.58) 2.4 kb(0.42) 1.5 kb(0.58) 1.4 kb(0.42)	
257	cCI17-715	D17S872	PstI	3.3 kb(0.17) 3.0 kb(0.83)	17q21.3
			EcoRI	3.6 kb(0.87) 3.3 kb(0.13)	
258	cCI17-716	D17S561	TaqI	2.4 kb(0.87) 1.3 + 1.1 kb(0.13)	17p13
261	cCI17-721	D17S864	RsaI	2.9 kb(0.25) 1.6 kb(0.75)	17q22-q23
			BglIII	4.4 kb(0.83) 3.9 kb(0.17)	
262	cCI17-722	D17S563	MspI	4.1 kb(0.83) 3.4 kb(0.17)	17q25.2-q25.3
			RsaI	5.2 kb(0.83) 4.1 kb(0.17)	
			BglIII	6.6 kb(0.83) 5.6 kb(0.17)	
			PvuII	2.9 kb(0.83) 2.2 kb(0.17)	
			EcoRI	13.0 kb(0.75) 12.5 kb(0.25)	
263	cCI17-723	D17S873	MspI	3.0 kb(0.33) 1.7 kb(0.67)	17p13
			RsaI	0.8 kb(0.70) 0.5 kb(0.30)	
			TaqI	3.6 kb(0.33) 1.9 kb(0.67)	
			PstI	5.8 kb(0.50) 5.3 kb(0.50)	
			PvuII	4.6 kb(0.58) 4.2 kb(0.42)	
266	cCI17-727	D17S566	PvuII	2.6-9.0 kb 10 alleles VNTR, 87% heterozygosity also polymorphic with MspI,TaqI,BglIII,PstI,EcoRI	17p13
268	cCI17-728	D17S568	MspI	4.6 kb(0.58) 2.6 kb(0.42)	17q11.2

【0012】

【表6】

No.	プローブ名	ロー カス シンボル	制限酵素	対立遺伝子 (頻度)	染色体上の位置	
269	cCI17-730	D17S874	MspI	2.2-3.5 kb 4 alleles VNTR, 83% heterozygosity also polymorphic with TaqI, BglIII, PstI, PvuII	17q21.3	
270	cCI17-732	D17S570	RsaI	3.2 kb(0.50) 2.7 kb(0.50)	17p13.2	
			BglIII	8.5 kb(0.50) 3.2 kb(0.50)		
			PstI	2.5 kb(0.58) 1.7 kb(0.42)		
			PvuII	4.2 kb(0.50) 4.1 kb(0.50)		
271	cCI17-733	D17S875	MspI	3.4 kb(0.75) 2.6 kb(0.25)	17q25.1	10
272	cCI17-735	D17S572	MspI	4.1 kb(0.83) 3.4 kb(0.17)	17q25.3	
			RsaI	5.2 kb(0.83) 4.1 kb(0.17)		
			PvuII	2.9 kb(0.83) 2.2 kb(0.17)		
273	cCI17-736	D17S573	TaqI	1.7-2.5 kb 7 alleles VNTR, 100% heterozygosity also polymorphic with MspI, RsaI, PstI, PvuII	17q21.3	
275	cCI17-739	D17S575	MspI	3.3 kb(0.33) 2.4 kb(0.67)	17q25.1	
278	cCI17-743	D17S876	TaqI	4.3 kb(0.17) 2.8 kb(0.83)		

20

【 0 0 1 3 】

RFLPマーカーは、これを用いることによって両親から受け継いだ2本の相同染色体を多型性の差により識別できる（informative, ただし、両方が同じ多型パターンを示す場合には識別できない：not informative）という特徴を有している。この2本の相同染色体の多型性パターンの差（ヘテロ接合性）が、正常組織で存在し、癌組織で消失している現象（LOH：loss of heterozygosity）が検出されることは、片方の染色体でそのRFLPマーカー部位が欠失していることを意味する。また一般的に、一対の染色体のうち一方の欠失と他方の変異などによる両方の染色体上の癌抑制遺伝子の不活性化が癌化につながるものと考えられており、多くの癌に共通して欠失している領域に癌抑制遺伝子が存在しているものと考えられている。

30

本発明者らは、このようにして得た詳細な染色体地図とRFLPマーカーを使用して、約300例の乳癌と約100例の卵巣癌について第17番染色体のLOHを調べた結果、ヘテロ接合性が識別可能なケースにおいて、17q21付近のcCI17-701とcCI17-730の二つのコスミド・マーカーの間の領域（2.4 cM）が高頻度に欠失していることが明らかとなった。

卵巣癌における第17番染色体染色体長腕の部分的欠失を図2に示した。黒丸はヘテロ接合性の消失（LOH）、白丸は保持を表している。2カ所の共通欠失領域は傍線で示した。

乳癌における第17番染色体染色体長腕の部分的欠失を図3に示した。黒丸はヘテロ接合性の消失（LOH）、白丸は保持を表している。2カ所の共通欠失領域は傍線で示した。

40

【 0 0 1 4 】

この領域は遺伝性乳癌の家系解析から原因遺伝子の存在が示唆されている領域と一部が重なりあっていた。両者の重なりあう領域の中のコスミド・クローンをプローブとして、650例の乳癌症例における変異を、サザンプロット解析によって調べたところ、2例において、上記で選別されたコスミド・クローンcCI17-904に含まれるDNAの一部の領域が数倍に増幅していることが明らかとなった。この異常について詳細に調べたところ、約6~9Kbの断片が4~6コピー程度の異常な繰り返しとしてつながっていることが分かった。さらに、このコスミド・クローンの制限酵素断片のうち種を越えて保存されている配列を有する断片をプローブとして、cDNA（メッセンジャーRNAから逆翻訳された相補配列DNA）ライブラリーをスクリーニングした結果、新規な蛋白質をコード

50

する遺伝子を単離した。この遺伝子の配列構造を決定し、乳癌についての遺伝子異常の有無を調べたところ、明らかな遺伝子変異が同定された。これらのことから、本蛋白質の欠損や異常およびこれをコードする遺伝子DNAの欠失や変異が乳癌・卵巣癌の発生に深く関与していることが明らかとなった。

上記の、マーカー群から該遺伝子の単離までの過程、さらに乳癌組織で遺伝子の異常が起きていた箇所を図4に示した。クローン名はクローン番号でのみ示してある。

【0015】

本発明は、例えば本蛋白質の欠損や異常の有無あるいはそれをコードする遺伝子の欠失や変異の有無を調べることによって、少なくとも、乳癌・卵巣癌の一部についてのリスク診断、早期発見、経過観察、治療方針の決定、予後の推定などの困難な問題に対する解決方法と材料を提供し、この分野の技術を飛躍的に進歩させ得るという点できわめて重要である。

すなわち本発明は、(1)配列番号1、2、3または4に示されたアミノ酸配列を有する蛋白質の、全部または一部を含むものからなる蛋白質、(2)配列番号5、6、7、8または9に示された塩基配列を有するDNAの全部または一部を含むものからなるDNA、(3)配列番号5、6、7、8または9に示された塩基配列を有するDNAの、全部または一部を組み込んだプラスミド、該プラスミドで形質転換された宿主細胞および該宿主細胞培養物より発現産物を回収することを含む蛋白質の製造方法、(4)配列番号1、2、3または4で表される蛋白質の全部または一部を含むものを抗原とする抗体、(5)配列番号5、6、7、8または9で表されるDNA配列の一部を含むプライマー、プローブまたはマーカー、またはこれらを使用することを特徴とする遺伝子解析方法、からなる。これら蛋白質とDNAに関しては、それと実質的に同等であるものも本発明に含まれる。

【0016】

以下に本発明を詳細に説明する。

(1) cDNAクローンの単離

ヒト第17番染色体のコスミド・クローンは、例えばヒト第17染色体だけを含むヒト・マウスの雑種細胞から染色体DNAを抽出し、時野らの報告した方法(Tokino et al., Am. J. Hum. Genet., 48, 258-268, 1991)により、その染色体DNA断片をpWEX15などのベクターに組み込むことにより作成することができる。この中から、全ヒトDNAをプローブとしてコロニーハイブリダイゼーションを行って、ヒト染色体由来の挿入配列(インサート)を持つクローンを選び出すことができる。

こうして得られるヒト第17染色体由来DNAを含む多数のコスミド・クローンについて、FISH法により、染色体上の位置を決定してマーカーとし、詳細な物理的染色体地図を作成することができる。また、制限酵素を用いて切断した断片長のパターンからRFLPマーカーを選別することができる(Nakamura et al., Am.J.Hum.Genet.43, 854-859, 1988)。この地図とRFLPマーカーを利用して癌患者癌組織のDNAについてLOH(ヘテロ接合性の消失)を調べ、癌組織における染色体上の共通欠失領域を第17番染色体のq21付近のきわめて小さい領域に限局化することができる。

この限局化された領域内に存在するコスミド・クローンをプローブとして癌組織DNAのサザンプロット解析を行うことにより、癌組織における遺伝子異常に関わっている配列を有するクローンを選択することができる。さらにコスミド・クローンの制限酵素断片をプローブとして、種々の哺乳動物の染色体DNAに対するサザンプロット法を行うことにより、種を越えて保存されている基本的な細胞機能に関わるDNA配列を含む断片を選択することができる。重要な蛋白質をコードしているDNA配列領域は種を越えて保存されていることが多い、実際、現在までに単離された遺伝性疾患の遺伝子はその多くが種を越えて保存されている(Call,K.M. et al. Cell, 60, 509-520, 1990)。

このようにして得られたDNA断片をプローブとして用いることにより、ヒト第17番染色体のq21付近の限局化された領域に存在する遺伝子のcDNAをクローニングすることができる。cDNAの塩基配列は常法に従って決定することができる(Maniatis,J. et al. Molecular Cloning 2nd.ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, N.Y.1989)。

10

20

30

40

50

このようにして得られた遺伝子DNAのクローンは、その配列についてのSSCP法(Orita,M. et al, Genomics, 5, 874-879, 1984)(Orita,M. et al. Cell, 60, 509-520, 1990)、RNase Protection法(Winter, E., Perucho,M. et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82, 7575-7579, 1985)(Myers,R.M., et al. Science, 230, 1242-1246, 1985)などを用いた癌患者での異常の有無、異常の出現頻度の検索により、目的の原因遺伝子のクローンであることを確かめることができる。

【0017】

(2) 遺伝子の全構造の確認

上記の方法により得られたcDNAは、配列番号6および7の新規なDNA配列であることが確認され、対応する配列番号2および3のアミノ酸配列が判明した。さらに5RA
CE法、RT-PCR法などによって、配列番号8に示されるDNA配列と対応する配列番号4に示されるアミノ酸配列が明らかにされた。さらに染色体DNAについては、もとのコスミドクローンcCI17-904の塩基配列を解析し、cDNAの塩基配列と比較することによって、イントロン-エクソン結合部が確認され、イントロン/エクソンを含む配列番号9の構造が明らかにされた。

本発明者らは、これらすべてに共通のアミノ酸配列であるところの配列番号1で示される配列の全部または一部を含む蛋白質をMDC蛋白質と命名し、以下MDC蛋白質と記載する。同様に配列番号5には、MDC蛋白質をコードするDNAに共通のDNA配列が示されている。

本発明のDNAは、その一部をプライマーまたはプローブとして用いることにより、遺伝子解析、診断に利用することができる。「一部」とは、プライマーまたはプローブとして使用するオリゴスクレオチドが本発明のDNA配列と相補的な少なくとも約6個の塩基配列からなり、好ましくは少なくとも約8個の塩基配列、さらに好ましくは約10~12個の、さらに好ましくは約15~25個の塩基配列からなる対応するポリヌクレオチドを意味する。

このDNAがコードするMDC蛋白質は全部または一部をエピトープとして用いて、抗体の作成およびその抗体を用いる研究用、診断用試薬として利用することができる。「エピトープ」とは、ポリペプチドの抗原決定基を意味し、一般に少なくとも5個のアミノ酸で構成される。(例えば、6個のアミノ酸で構成されるポリペプチドが抗体と結合することは公知である。公表特許公報60-500684号) MDC蛋白質の一部とは、本発明のMDC蛋白質の連続するアミノ酸配列を有する少なくとも約3~5個のアミノ酸、好ましくは少なくとも約8~10個のアミノ酸、さらに好ましくは少なくとも約11~20個のアミノ酸からなるポリペプチドを意味する。また約20個以上のアミノ酸からなるポリペプチドであっても使用できることは言うまでもない。

「実質的に同等である」とは、MDC蛋白質およびその一部からなるものにおいて、それらのアミノ酸配列が1つまたは複数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入を伴うものであって、MDC蛋白質を用いる研究、診断に同等の効果を奏するものを意味し、これら均等物も本発明に含まれる。また本発明のDNAの場合も、「実質的に同等である」とは上記蛋白質の場合と同様の意味(ただし、1つまたは複数個の塩基配列の置換、欠失、挿入を伴うもの)を示すものである。

【0018】

(3) 組換え発現ベクターとその形質転換体

上記記載の方法により得られたヒトMDC蛋白質をコードする遺伝子DNAあるいはその断片を適切なベクターに組み込み、該ベクターを適切な宿主細胞に移入することにより形質転換体を得ることができる。これを常法により培養し培養物よりヒトMDC蛋白質を大量に生産することができる。さらに具体的には、ヒトMDC蛋白質をコードするDNAまたはその断片を、その発現に適したベクターのプロモーター下流に制限酵素とDNAリガーゼを用いる公知の方法により再結合して組換え発現ベクターを作成することができる。使用できるベクターとしては、例えは大腸菌由来のプラスミドpRB322, pUC18, 枯草菌由来のプラスミドpUB110, 酵母菌由来のプラスミドpRB15, ファージ

10

20

30

40

50

ベクタ - g t 1 0 , g t 1 1 あるいは動物ウイルス由来のベクタ - S V 4 0 などが挙げられるが宿主内で複製、増幅可能なベクターであれば特に限定されない。プロモーターおよびターミネーターに関してもヒト M D C 蛋白質をコードする D N A 塩基配列の発現に用いられる宿主に対応したものであれば特に限定されず、宿主に応じて適切な組み合わせも可能である。用いる D N A はヒト M D C 蛋白質をコードする D N A であれば何れでも良く、配列番号 1 、 2 、 3 または 4 記載の塩基配列に限定されるものではなく、意図的であるか否かにかかわらず塩基配列の一部が置換、欠損、挿入、あるいはこれらが組み合わされた塩基配列を有する D N A であってもよい。また化学合成によって合成されたものでも良い。

【 0 0 1 9 】

このようにして得られた組換え発現ベクターはコンピテント細胞法 (J. Mol. Biol. , 53, 154, 1970) 、プロトプラスト法 (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 75, 1929, 1978) 、リン酸カルシウム法 (Science, 221, 551, 1983) 、インビトロパッケージング法 (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 72, 581, 1975) 、ウイルスベクター法 (Cell, 37, 1053, 1984) などにより宿主に導入し、形質転換体が作製される。宿主としては大腸菌、枯草菌、酵母および動物細胞などが用いられ、得られた形質転換体はその宿主に応じた適切な培地の中で培養される。培養は通常 20 ~ 45 ℃ 、 pH 5 ~ 8 の範囲で行われ、必要に応じて通気、攪拌が行われる。培養物からの M D C 蛋白質の分離・精製は公知の分離・精製法を適宜組み合わせて実施すれば良い。これらの公知の方法としては塩析、溶媒沈殿法、透析ゲルろ過法、電気泳動法、イオン交換クロマトグラフィー、アフィニティクロマトグラフィー、逆相高速液体クロマトグラフィーなどが挙げられる。

【 0 0 2 0 】

(4) 抗体の作成

抗体は、 M D C 蛋白質の全部あるいは一部分を抗原として、通常の方法で作成することができる。例えば、ポリクローナル抗体はマウス、モルモット、ウサギ等の動物の皮下、筋肉内、腹腔内、静脈に複数回接種し十分に免疫した後、斯かる動物から採血、血清分離して作製する。なお、市販のアジュバントも使用できる。

モノクローナル抗体は、例えば、 M D C 蛋白質で免疫したマウスの脾細胞と市販のマウスミエローマ細胞との細胞融合により得られるハイブリドーマを作成後、該ハイブリドーマ培養上清、または該ハイブリドーマ投与マウス腹水から調製することができる。

抗原とする M D C 蛋白質は必ずしも全アミノ酸構造を有する必要はなく、部分構造を有するペプチド、その変異体、誘導体、あるいは他のペプチドとの融合ペプチドであってもよく、調製法は生物学的手法、化学合成手法いずれでもよい。

これら抗体はヒト生体試料中の M D C 蛋白質の同定や定量を可能とし癌診断試薬などに使用できる。

M D C 蛋白質の免疫学的測定法は、公知の方法に準すればよく、たとえば蛍光抗体法、受身凝集反応法、酵素抗体法などいずれの方法においても実施できる。

【 0 0 2 1 】

(5) ヒト癌組織の遺伝子解析

遺伝子解析される生体試料はヒト正常組織、各種ヒト癌組織をはじめヒト血液、体液、分泌液などを用いることができる。 D N A の抽出・調製は、たとえば (Sato T., et al. Cancer Res., 50, 7184, 1990) の方法で行う。

本発明により提供されるヒト M D C 蛋白質をコードする遺伝子 D N A の制限酵素断片をプローブとして、または該遺伝子 D N A の中から適切な位置の塩基配列を適宜選択し、その合成オリゴヌクレオチドをプライマーとして用いることにより該遺伝子の変異の有無を解析することができる。

また、試料中の該遺伝子における挿入、欠失などの異常もこれらの解析により検知することができる。

選択する塩基配列の部位は該遺伝子のエクソン部分、イントロン部分あるいは両部分の結合部分など、いずれも選択し得る。また用いる塩基配列を人為的に改変したものを用いる

10

20

30

40

50

ことができるのを言うまでもなく、これにより対応する遺伝子変異を検出することができる。

解析の方法としては、例えば選ばれた2種の配列のプライマーによりPCR法で部分配列を增幅させ、增幅産物の塩基配列を直接解析するか、あるいはこの増幅産物を前記と同様にプラスミドに組み込み、宿主細胞を形質転換させて培養し、得られるクローンの塩基配列を解析することができる。あるいはまた、Ligase Chain Reaction法(Wu et al., Genomics, 4, 560-569, 1989)、さらに、変異配列特異的PCR法(Ruano and Kidd, Nucleic Acid Research, 17, 8392, 1989)、(C.R.Newton et al., Nucleic Acid Research, 17, 2503-2517, 1989)を利用することにより試料中の該遺伝子の特定の変異の有無を直接検出することができる。10

また同様に、選ばれたDNA配列あるいはこれに由来するRNA配列を含むプローブを用いて、SSCP法、RNase-Protection法により点突然変異の検出を行うことができる。またこれらのプローブを用いることにより、サザンハイブリダイゼーション法での試料中の該遺伝子の変異の検出、ノーザンハイブリダイゼーション法での試料中の該遺伝子の発現量の異常を検出することができる。

【0022】

なお、このMDC蛋白質をコードする遺伝子DNAを含むプラスミドを保有するEscherichia coli DH5/pBR1、Escherichia coli XL1-Blue MRF'Kan/pCR-5P2、および該遺伝子の染色体DNAを含むコスミドを保有するEscherichia coli 490A/cCI 17-904は通商産業省工業技術院生命工学工業技術研究所にそれぞれ寄託番号FERM BP-4286、FERM BP-4555、FERM BP-4287、として平成5年4月28日、平成6年2月8日、平成5年4月28日寄託された。20

【0023】

【発明の効果】

本発明の、ヒトMDC蛋白質および該蛋白質をコードする遺伝子DNAの、全部またはその一部を含むものは、癌の研究試薬、検査・診断試薬および治療薬として期待される。

【0024】

【実施例】

以下の実施例により本発明を詳細に且つ具体的に説明するが、本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。30

【0025】

(実施例1) ヒト第17番染色体特異的コスミド・クローンの単離と染色体地図の作成時野らの方法(Tokino et al., Am.J.Hum.Genet., 48, 258-268, 1991)によりヒトの正常細胞とマウスの株化細胞とを融合させた雑種細胞の中から、ヒト染色体のうち第17番染色体のみを保有するヒト・マウス雑種細胞株(GM10331)を選択した。この雑種細胞株の染色体DNAを制限酵素Sau3AIで適度に切断し、断片の末端をdATPとdTTPを用いた部分的フィルインによって処理した。このうち35~42kbのサイズの断片を分画し、予め制限酵素XbaIで切断し同様に末端をdCTPとdTTPを用いた部分的フィルインによって処理したコスミドベクター-pWE-X15に挿入した。こうして得られたコスミド・クローンの中から、³²Pラベルしたヒト染色体DNAをプローブとしたコロニーハイブリダイゼーション法で、ヒトのDNA断片を含むクローンを選び出すことによって342個のヒト第17番染色体特異的コスミド・クローンを単離した。40

これらそれぞれのヒト第17番染色体特異的コスミド・クローンについて、そのDNA断片がハイブリダイズする染色体上の位置をFISH法(Inazawa et al., Genomics, 10, 1075-1078, 1991)によって決定し、第17番染色体の物理的染色体地図を作成した(表1~3)(図1)。

染色体上の位置を決定したコスミド・クローン(コスミド・マーカー)について、RFLPを検出しうるか否かを、6人の非血縁者のDNAを用い、既知の方法(Nakamura et al., Am.J.Hum.Genet., 43, 854-859, 1988)によって検索した。制限酵素は、MspI, TaqI, BgIII, PstI, Pvull, RsaI, EcoRIのいずれかを用いた。こ50

の結果 4 3 個のクローンが R F L P を検出した（表 4 ~ 6 ）、すなわち R F L P マーカーとして使用可能であった。

【 0 0 2 6 】

（実施例 2 ）卵巣癌および乳癌におけるヒト第 17 番染色体長腕の共通欠失領域の検索
卵巣癌 94 症例と乳癌 246 症例の手術材料より腫瘍組織を得た。対応する正常組織あるいは末梢血サンプルを各々の患者より得た。これらの組織、サンプルより D N A を既知の方法 (Sato et al., Cancer Res., 50, 7184-7189, 1990) で抽出した。D N A は適当な制限酵素で切断し、1.0% アガロースゲル電気泳動を行い、ナイロンメンブレンに 0.1 N - N a O H / 0.1 M - N a C l でサザントランスファーした (Sato et al., Cancer Res., 50, 7184-7189, 1990) 。

これらのメンブレンに対して、実施例 1 の方法で得られたヒト第 17 番染色体長腕 (17q) 上に位置付けられた R F L P マーカーをプローブとしてサザンハイブリダイゼーション (Sato et al., Cancer Res., 50, 7184-7189, 1990) を行うことにより L O H (ヘテロ接合性の消失) を検索した。結果を表 7 に示す。

【 0 0 2 7 】

【 表 7 】

プローブ	染色体上の位置	制限酵素	被検患者数	卵巣癌					乳癌			
				塗膜細胞	粘液細胞	透明細胞	その他	塗膜細胞	粘液細胞	透明細胞	その他	
C117-316	q12-21.1	MspI	32	15	12	22	6/13(46.2)	0/1(0.0)	0/3(0.0)	1/9(11.1)	85	11/37(29.7)
C117-592	q21.3	ECORI	14	13	9	15	2/3(66.7)	0/1(0.0)	0/1(0.0)	2/4(50.0)	62	8/18(44.4)
C117-701	q21.3	TaqI	24	14	13	19	9/15(60.0)	2/12(16.7)	0/7(0.0)	5/12(41.7)	232	48/138(34.8)
C117-730	q21.3	TaqI	29	15	13	19	6/12(50.0)	0/4(0.0)	0/4(0.0)	2/4(50.0)	237	36/96(37.5)
C117-507	q21.3	MspI	22	14	11	20	6/7(85.7)	1/3(33.3)	1/3(33.3)	2/5(40.0)	74	7/25(28.0)
C117-533	q21.3	TaqI	22	13	11	16	6/11(54.5)	3/9(33.3)	1/7(14.3)	4/9(44.4)	230	25/93(26.9)
C117-7	q22	PvuII	21	8	9	15	4/5(80.0)	0/1(0.0)	0/3(0.0)	1/3(33.3)	86	14/41(34.1)
C117-489	q23	MspI	26	13	11	21	5/5(100.0)	0/2(0.0)	0/3(0.0)	3/8(37.5)	75	10/31(32.3)
CMW86	q23	TaqI	28	13	10	17	6/17(35.3)	1/8(12.5)	0/6(0.0)	2/10(20.0)	79	12/49(24.5)
C117-516	q25.1	TaqI	29	14	14	21	6/17(35.3)	1/10(10.0)	0/7(0.0)	6/11(54.5)	84	9/31(29.0)
C117-710	q25.3	TaqI	18	13	10	12	4/8(50.0)	3/8(37.5)	0/6(0.0)	3/7(42.9)	80	13/45(28.9)

【0028】

卵巣癌においては94例中84例で少なくとも1つのマーカーによりヘテロ接合性を識別可能(informative)であり、そのうち33例(39.3%)で少なくとも1つのマーカーによりLOHが検出された。乳癌では246例中214例が少なくとも1つのマーカーについてヘテロ接合性が識別可能であり、そのうち88例(41.4%)で少なくとも1つ

のマークーがL O Hを検出した。

【0029】

上記の結果からヒト第17番染色体長腕(17q)に部分的欠失があると判定できる例、すなわち2つ以上のマークーでヘテロ接合性を識別可能(informative)であり、なおかつ欠失部分(L O H検出)と保持部分(L O H不検出)とを示す例を集めて解析した。

その結果、卵巣癌では8例で2つの共通欠失領域が見出された(図2)。1つはC I 17-316(17q12-21.1)とC I 17-507(17q21.3)の2つのマークー間の領域であり、もう一つはC I 17-516(17q25.1)マークーより末端側の領域である。

同様に、乳癌では35例で2つの共通欠失領域が見いだされた(図3)。1つは卵巣癌においても見いだされたC I 17-701(17q21.3)とC I 17-730(17q21.3)の2つのマークー間の領域でありさらに狭い領域に限局化されている、もう1つはC I 17-516(17q25.1)マークーより末端側の領域であり、これも卵巣癌で欠失の認められた領域である。

上記の欠失領域の解析(deletion mapping)で得られた2つの共通欠失領域のうち、C I 17-701とC I 17-730の二つのマークーの間の領域は、遺伝性乳癌および卵巣癌の家系解析(linkage mapping)の結果から発症と強く連関を示す領域17q21(Hall et al., Am.J.Hum.Genet., 50, 1235-1242, 1992)に近いものであった。この領域の長さ(二つのマークーの間の遺伝学的距離)はリンクエージ解析法(Lathrop et al., Am.J.Hum.Genet., 37, 482-498, 1985; Donis-Keller et al., Cell, 51, 319-337, 1987)により2.4 c Mと推定された。

【0030】

(実施例3)最小限局領域に含まれるコスミド・クローンの単離

家系解析の結果から限局化された領域は17q21上のTHRA1とMfd188の2つのマークー間の領域であることが示されている(Hall et al., Am.J.Hum.Genet., 50, 1235-1242, 1992)(Bowcock A.M. et al., Am.J.Hum.Genet., 52, 718-22, 1993)ので、これらのマークーとC I 17-701とC I 17-730マークーの相対的順序を決定することにより2つの別々の戦略によって得られたマッピング情報を統合することを試みた。各マークーの相対的順序の決定は、本発明者らが新たに開発した2色FISH法(2-color Fish method)によって行った。この方法は、細胞の同調操作によって高度に伸展した染色体標本を作製して用いることにより精密度を増し、さらに異なる色の蛍光体で標識したプローブによっておこなうFISH法であり、これにより極めて近接したマークーの相対的順序の決定が可能である。

【0031】

その結果、Mfd188マークーはC I 17-701とC I 17-730のマークーの中間に位置し、THRA1マークーはC I 17-701よりもセントロメア側に位置することが見出された(図4a)。すなわち、家系解析によって限局化された遺伝性乳癌と連関する領域と、欠失領域の解析で限局化された散発性乳癌における共通欠失領域とは互いに重なり合っており、重なり合っている最小領域はC I 17-701とMfd188の2つのマークーにはさまれる領域であることを見出した(図4a)。パルスフィールドゲル電気泳動によりこの領域の物理的地図を作製したところ、重複領域の長さは約500 kbと非常に限局化された。

さらに、実施例1の方法で得られたコスミド・クローンのうち17q21.3に位置づけられた37個のクローンと既知のマークーTHRA1、Mfd188およびPPYについて2色FISH法による精密なマッピングを行った。その結果、C I 17-701とC I 17-730の2つのマークーに囲まれる領域に15個のコスミド・クローンが位置づけられ、そのうち、上記重複領域上にはC I 17-527とC I 17-904の2つのコスミド・クローンが位置していることが判明した(図4a、b)。

【0032】

(実施例4)乳癌における遺伝子異常の検出

10

20

30

40

50

重複領域約 500 kb のうち約 150 kb はすでに 4 つのコスミド・クローン C I 17 - 701、C I 17 - 527、C I 17 - 904 および Mfd 188 でカバ - されているので、まず 650 例の散発性乳癌組織の DNA の制限酵素 (Sac I、Pvu II または Pst I) 断片に対してこれらのコスミド・クローンの DNA あるいはその断片をプローブとしたサザンプロット解析によって、癌細胞に生じている欠失、重複、増幅、転座などの大きな構造的遺伝子異常、いわゆる遺伝子再構成を検出することを試みた。

その結果、C I 17 - 904 の DNA またはその 9.5 kb Hind III 断片 (図 4c) をプローブとしたとき、2 例の乳癌組織において遺伝子再構成が検出された (図 5a, b)。これらの遺伝子再構成は癌組織においてのみ起きており、正常組織では認められない、サイズの異なる余分のバンドが認められ、さらにいくつかのバンドの濃度が増大していた。すなわち、このプローブに対応する一定の DNA 領域に遺伝子増幅が生じていた。2 例のうち、1 例においては、9.5 kb Hind III 断片 (図 4c) と隣接する E - H 5.2 もしくは Hind 6.1 断片をプローブとして乳癌組織の DNA Sac I 断片に対してサザンプロット解析を行った時には遺伝子増幅は検出されなかった (図 6、Case 1)。すなわち、この Case の遺伝子増幅は 9.5 kb Hind III 断片に対応する領域内に起きており、4 ~ 5 倍に増幅していることが示された。

これを、より詳細に検討するため 9.5 kb Hind III 断片内の 6 個の Sac I 断片、A、B、C、D、E、F (図 4c) の各々をプローブとして乳癌組織の DNA Sac I 断片に対してサザンプロット解析を行った。その結果、プローブ A、B で 2.5 kb、プローブ B、C、D で 3.0 kb、プローブ E、F で 2.5 kb、プローブ F で 0.9 kb の異常サイズの増幅バンドが認められた (図 7)。

【0033】

他の 1 例においては、乳癌組織の DNA Sac I 断片に対して E - H 5.2 をプローブとした時に遺伝子増幅が検出された (図 6、Case 2) が、Hind 6.1 断片をプローブとした時には検出されなかった (図 6、Case 2)。この時、E - H 5.2 をプローブとした時にはサイズ異常を示すバンドは認められず、増幅のみが認められた。すなわち、この Case の遺伝子増幅は 9.5 kb Hind III 断片に対応する領域内から E-H5.2 に対応する領域のさらに外側 (テロミア側) にわたる範囲に起きていることが示された。

【0034】

(実施例 5) cDNA の単離と構造決定

2 例の乳癌組織において遺伝子再構成の認められた領域内あるいはその近傍から、発現されている遺伝子を単離するために、コスミド・クローン C I 17 - 904 の DNA 断片について、種を越えて保存されている基本的な細胞機能に関わる DNA 配列を含むものの選択を行った。すなわち、コスミド・クローン C I 17 - 904 の DNA 断片の各々をプローブとして、ウシ、ブタ、マウス、ラット、ニワトリの DNA 断片のサザンプロットに対してハイブリダイゼーションを行った。その結果、コスミド・クローン C I 17 - 904 の 3.5 kb Hind III - Ksp I 断片 (図 4c) がウシ、ブタ、マウス、ラットの DNA とハイブリダイズし、種を越えてよく保存されていた。

この 3.5 kb Hind III - Ksp I 断片をプローブとして乳腺、乳癌細胞株、胎児脳、大脳、小脳の 5 つの異なる臓器由来のヒト cDNA ライブラリーをスクリーニングした。このうち、小脳 cDNA ライブラリーから最長の cDNA がクローニングされた。この cDNA はコスミド・クローン C I 17 - 904 の 3.5 kb Hind III - Ksp I 断片および隣接する複数の制限酵素断片とハイブリダイズし、その範囲は染色体上で 20 kb を超える領域に広がっていた。

この cDNA の塩基配列を解析した結果、2923 bp よりなり、27 bp の 5' 非翻訳領域、1575 bp のコーディング領域、1306 bp の 3' 非翻訳領域および 15 bp の poly (A) テールを含む新規な DNA 塩基配列であることを確認した (配列番号 6)。この cDNA 配列に含まれるオープンリーディングフレームは、524 アミノ酸となる新規な蛋白質 (MDC 蛋白質 : 配列番号 2) をコードしていた。オープンリーディングフレームの最初の ATG のすぐ上流にはイン・フレームの停止コドンが存在した。ポリ

10

20

30

40

50

アデニル化シグナル A A T A A A はポリアデニル化部位から約 20 b p 上流に認められた。

【0035】

(実施例 6) 染色体 DNA の構造決定

実施例 5 で得られた cDNA に対応する染色体 DNA の構造を明らかにするために、コスミド・クローン C I 17 - 904 について、この cDNA の塩基配列を含む部分とその周辺の塩基配列を決定し、両者の配列を比較することにより、エクソン・イントロン結合部を決定した。その結果、実施例 5 で得られた cDNA に対応する 25 個のエクソンを含む新規な遺伝子 DNA の配列構造が明らかとなった（配列番号 9）。25 個のエクソンは比較的小さなサイズで、染色体上約 20 kb の領域にまたがって存在していることが示された。10

【0036】

(実施例 7) 乳癌における該遺伝子エクソン構造の異常の検出

実施例 6 で明らかとなったエクソン・イントロンを含む該遺伝子 DNA の構造から、実施例 4 で 2 例の乳癌組織に共通して異常を検出したプローブ（コスミド・クローン C I 17 - 904 の 9.5 kb Hind III 断片）の配列領域中に、第 2、第 3、第 4 エクソンが存在していることが明らかとなった。さらに、第 2 エクソンはプローブ E の配列領域中に存在し、第 3、第 4 エクソンはプローブ F の配列領域中に存在する（図 4c）。従って、実施例 4 の 9.5 kb の Hind III 断片領域を含む遺伝子再構成は該遺伝子の 3 つのエクソンを含む領域において正常なエクソン構造を破壊していると考えられる。このことを確認するために、第 2、第 3、第 4 エクソンに対応する DNA 配列のプローブによって、上記 2 例の乳癌組織の染色体 DNA に対するサザンプロット解析を行った結果、先に示したプローブ E あるいはプローブ F を用いて行った結果（図 7）と同様の異常サイズの増幅バンドが認められた。20

【0037】

(実施例 8) 遺伝子発現の組織特異性

実施例 5 で得られた cDNA をプローブとして、種々のヒト組織（脳、心臓、腎臓、肝臓、肺、膵臓、胎盤、骨格筋、大腸、末梢血リンパ球、卵巣、小腸、脾臓、睾丸、胸腺）由来の mRNA についてのノーザンプロット解析を行った結果、脳に最も強い発現が、心臓、卵巣、睾丸に弱い発現が認められた。30

さらに、より微弱な発現を検出するために RT - PCR (reverse-transcriptase PCR) による増幅での検出をおこなった。すなわち、種々のヒト組織由来の mRNA から逆転写酵素反応により、ランダムヘキサマーをプライマーとして 1 本鎖 cDNA を合成した。これを鉄型として実施例 6 で明らかとなったエクソン 21 および 23 の配列にそれぞれ由来するプライマー BC O 9 および BC O 12 を用いて PCR をおこなった。その結果、期待される大きさの PCR 産物は主に中枢神経系（大脳、小脳および胎児脳）と内分泌系または生殖系臓器（睾丸、卵巣、乳腺、副腎、胸腺および膵臓）に認められた。

用いたプライマーの配列は下記のとおりである。

BC O 9 5'-GCACCTGCCCGGGCAGT-3'

（コーディング鎖、配列番号 6 の塩基番号 1764-1780 に相当）40

BC O 12 5'-CCAGGACAGCCCCAGCGATG-3'

（アンチセンス鎖、配列番号 6 の塩基番号 1976-1957 に相当）。

【0038】

(実施例 9) RT - PCR による mRNA の直接塩基配列決定

ヒト胎児脳およびヒト睾丸 mRNA をもとに、エクソン 19 上の配列に由来するプライマ - GMA 701 とエクソン 21 上の配列に由来するプライマ - GMB 704 を用いて RT - PCR を行い、増幅された DNA の塩基配列をプライマ - GMA 702 またはプライマ - GMB 703 を用いて直接決定した。その結果、実施例 5 で得られた配列番号 6 の小脳由来の cDNA 配列から 10 塩基（塩基番号 1512-1521 の欠失した配列が発見され、配列番号 7 の DNA 配列に対応する mRNA が発現していることが明らかとなった。胎児脳、50

睾丸のいずれのmRNAでも同一の結果が得られた。配列番号7のcDNA配列に含まれるオープンリーディングフレームは、670アミノ酸よりなるMDC蛋白質（配列番号3）をコードしていた。

これは配列番号9の染色体DNA上のエクソン20の開始が塩基番号6073番ではなく塩基番号6083番から始まる別のRNAスプライシングによっているものと考えられている（Biochem. Biophys. Res. Commun. 193, 897-904 (1993)）。これにより配列番号6のcDNAと配列番号7のcDNAのコードするアミノ酸配列（配列番号2と配列番号3）は、この部分以降で異なっている。すなわち配列番号6のcDNAではエクソン20内の部分で停止コドンを生じるが、配列番号7のcDNAではリーディングフレームがシフトしてさらに下流までオープンリーディングフレームが続いている。
10

PCRおよび塩基配列決定に用いたプライマーの配列は下記のとおりである。

GMA701 5'-GGCTGCTGATCGCTTCTGCTAC-3'

（コーディング鎖、配列番号6の塩基番号1413-1434に相当）

GMA702 5'-GAGAACGCTGAATGTGGAGGG-3'

（コーディング鎖、配列番号6の塩基番号1435-1456に相当）

GMB703 5'-GTCAGAGCCGTCCGCCAGC-3'

（アンチセンス鎖、配列番号6の塩基番号1675-1657に相当）

GMB704 5'-GCCATCCTCCACATAGCTCAGG-3'

（アンチセンス鎖、配列番号6の塩基番号1696-1675に相当）。
20

【0039】

（実施例10）RACE法による5'末端配列の增幅

配列番号7のcDNAの全長cDNAを得るために、5' - cDNA末端のPCR增幅（5' - RACE；Frohman, et al, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85, 8998-9002, 1988 ; Belyavski, et al, Nucleic Acid Res. 17, 2919-2932, 1988）を行った。ヒト脳由来poly A(+) RNA 2μg (Clontech社) をもとに特異的オリゴマーSGN012をプライマーとし市販の合成キットを使用して一本鎖cDNAを合成した。一本鎖cDNA末端にアンカーオリゴマーを結合するEdwardsらの方法（Nucleic Acid Res. 19, 5227-5232, 1991）を応用した市販キットを用いて5' RACEを行った。キットのアンカーオリゴマーと特異的オリゴマーSGN012をプライマーとしてPCRを行った結果、約580bpの増幅産物を電気泳動法で検出した。
30

この増幅産物を電気泳動ゲルより抽出、精製し、プラスミドベクターpCR-Script (Stratagene社) のSrf I切断部位に挿入しクローニングした。各クローンよりプラスミドDNAを精製し、塩基配列を決定した。そのうちの一つであるpCR-5P2はアンカーオリゴマーの配列に続いてATGから始まる501bpのcDNAインサートを有し、その315番目以降の塩基配列は配列番号7の塩基番号45（エクソン2の開始位置）以降の配列と、後述する1塩基を除いて、まったく一致した。さらに、pCR-5P2の最初のATGから始まるリーディングフレームは、配列番号7のcDNAのコードするポリペプチドとフレームが一致した。また、これによって得られたポリペプチド配列のN末端領域には疎水性に富むアミノ酸が連続するシグナルペプチドがコードされていた。
40

【0040】

以上の、5' RACEによって得られた、5'末端配列がmRNA上で真に配列番号7の塩基番号45以降の配列とつながっていることを確認するためにRT-PCRを行った。ヒトの脳、胎児脳、卵巣、および睾丸由来のpoly A(+) RNA (Clontech社) をもとにランダムヘキサマーをプライマーとして一本鎖cDNAを合成し、次いでpCR-5P2の最初の20塩基の配列を有するオリゴマー(SGN013)をセンスプライマー、SGN011またはSGN012をアンチセンスプライマーとした。その結果、いずれの組織のRNAを用いた場合においても、期待される増幅産物 (SGN013 / SGN011で約500bp、SGN013 / SGN012で約750bp) を電気泳動法で検出した。従って、5' RACEによって得られたpCR-5P2の5'末端配列がmRNA上で配列番号7の塩
50

基番号45以降の配列とつながっていることが確認され、配列番号8のcDNAが構成された。配列番号8のcDNAのオープンリーディングフレームは、769アミノ酸よりなるMDC蛋白質（配列番号4）をコードしている。

用いた特異的オリゴマーの配列は以下の通りである。

S G N 0 1 1 5 ' -GATGTAAGTCAGTTCCCATCAGAGA- 3 '

(アンチセンス鎖、配列番号7の塩基番号231-206に相当)

S G N 0 1 2 5 ' -AACAGCTGGTGGTCGTTGATCACAA- 3 '

(アンチセンス鎖、配列番号7の塩基番号485-461に相当)

S G N 0 1 3 5 ' -ATGAGGCTGCTGCCCGCTG- 3 '

(コーディング鎖、配列番号8の塩基番号1-20に相当)

なお、エクソン2の開始位置以降で配列番号8が配列番号6または7と相違している1塩基は、エクソン2の開始位置から4番目の塩基（配列番号8の318番目のC、配列番号6および7の48番目のA）に当たり、コドするアミノ酸は配列番号4の106番目His、配列番号2および3の7番目Glnである。これは多型を反映しているものと考えられる。

これら3つのMDC蛋白質（配列番号2、3および4）のバリエーションに共通なアミノ酸配列は、488アミノ酸からなる配列（配列番号1）であり、この部分をコドするDNA配列も共通の配列（配列番号5）である。

【0041】

（実施例11）既知蛋白質とのホモロジー

MDC蛋白質のアミノ酸配列は、蛇毒の出血性毒素であるHR1B (Takeya et al., J.Biol.Chem., 265, 16068-16073, 1990)、Prorhodostomin (Au et al., Biochem.Biophys.Res.Commun., 181, 585-593, 1991)、Protrigramin (Nepper et al., Nucleic Acid Res., 18, 4255, 1990) とホモロジーを有していた。また、モルモット精子表層蛋白であるPH30 (Biel et al., Nature, 356, 248-252, 1992)、ラットまたはサル副睾丸の蛋白であるEAPI (Perry et al., Biochem.J., 286, 671-675, 1992) ともホモロジーを有していた。MDC蛋白質、配列番号2（524アミノ酸）、配列番号4（769アミノ酸）とのホモロジーの「一致% / 対象領域アミノ酸数」は次のとおりであった。左が配列番号2について、右が配列番号4についての値である。

HR1B	32.5 / 335	32.2 / 379
Prorhodostomin	29.0 / 420	29.0 / 420
Protrigramin	27.7 / 430	28.1 / 438
PH30 b	38.1 / 147	30.8 / 302
EAPI rat	36.0 / 364	33.1 / 475
EAPI monkey	30.4 / 503	29.9 / 599.

【0042】

（実施例12）形質転換体の作製

MDC蛋白質（配列番号2）をコードするDNA（配列番号6）を基質として、プライマ-SGN006とSGN008を用いて、MDC蛋白質の一部をコードするDNA断片をPCRで增幅した。用いたプライマーの配列は以下の通りである。

S G N 0 0 6 5 ' -CACAGATCTGGGGCATATGCTCCCTG- 3 '

(コーディング鎖、配列番号6の塩基番号766-783に相当)

S G N 0 0 8 5 ' -AACAGCTTACTGATGTCTCCCACC- 3 '

(アンチセンス鎖、配列番号6の塩基番号1602-1585に相当、下線は終止コドンを示す)

ベクター構築用に、プライマーの5'端にはそれぞれBgl II、Hind IIIの切断部位配列を附加してある。

PCR増幅産物をアガロースゲル電気泳動によって分取し、Bgl IIとHind IIIで切断した。こうして得られたMDC蛋白質の一部をコードするDNA断片を、予めBamH IとHind IIIで切断しておいたpMAL-c2 (New England Biolabs社製)ベクターに結合してプラスミドpMAL-MDC(C1)を構築した。

10

20

40

50

同様に、予め BamH I と Hind III で切斷しておいた pQE-13 (Diagen 社製) ベクターに結合してプラスミド pH6-MDC(C1) を構築した。

さらに、pMAL-MDC(C1) の MDC 蛋白質コーディング領域から BamH I 切断部位 (配列番号 6 の塩基番号 1483) 以降を除き、MDC 蛋白質の 2 つのバリエーション (配列番号 2 および 3) に共通する部分のコーディング領域となるようにした。すなわち pMAL-MDC(C1) を BamH I と Hind III で切斷し、末端を平滑化したのち再結合して、プラスミド pMAL-MDC(dC1) を構築した。

【 0 0 4 3 】

pMAL-c2 ベクターに組み込んだ断片は、N 末端側にマルトース結合蛋白質 (MBP) を有する融合蛋白質として発現されるので、その融合蛋白質はアミロースカラムによってアフィニティー精製した。また、pQE-13 ベクターに組み込んだ断片は、N 末端側に 6 個のヒスチジン残基よりなるペプチド (His 6) を有する融合蛋白質として発現されるので、その融合蛋白質は金属キレートカラムによってアフィニティー精製した。

各プラスミド pMAL-MDC(C1) pMAL-MDC(dC1) および pH6-MDC(C1) を用いて E.coli JM 109 をトランスフォームし、アンピシリン耐性で選択してそれぞれの形質転換体を得た。

【 0 0 4 4 】

(実施例 13) 組換え MDC 蛋白質の発現と精製

実施例 12 で得られたそれぞれの形質転換体を培養し、培養物より組換え MDC 融合蛋白質を抽出、精製した。

すなわち、各形質転換体を 100ml の LB 培地 (1%ポリペプトン、0.5% 酵母抽出物、1% NaCl) で 37 ℃ 一夜振とう培養した。培養液を予め 37 ℃ に加温した LB 培地で 10 倍に希釈したうえ、さらに 30 分 ~ 90 分培養して、対数増殖期の培養物を得た。培養物 1 リッタ - に IPTG (Isopropyl-beta-D-thiogalactopyranoside) を終濃度 1 mM となるように添加して 3 ~ 4 時間培養した。培養物から遠心分離により菌体を集めめた。

プラスミド pMAL-MDC(C1) 、pMAL-MDC(dC1) による形質転換体の場合は、菌体に 10 ml のカラムバッファー (20mM Tris-HCl pH7.4, 200mM NaCl) を加え超音波によって破碎した。組換え MDC 融合蛋白質は、破碎液の不溶性画分に存在したので、これを遠心分離して変性バッファー (8M 尿素、20mM Tris-HCl pH8.5, 10mM ジチオスライド - ル) に溶解した。次いで、これをカラムバッファーに透析後、遠心分離して上清可溶画分を集めめた。透析不溶性画分は、さらに変性、透析、遠心分離を繰返して上清可溶画分を回収した。集めた可溶性画分をアミロースカラム (New England Biolabs 社製) にかけ、カラムバッファーで洗浄後、10 mM マルトースを含むカラムバッファーで溶出した。溶出画分は、280 nm の吸光度および SDS ポリアクリルアミド電気泳動法 (クマシーブルー染色) で解析して分画した。この結果、プラスミド pMAL-MDC(C1) および pMAL-MDC(dC1) による形質転換体のそれぞれで、期待される約 68 Kd の MBP 融合蛋白質が主要バンドとして検出される画分が得られた。収量はそれぞれ 4.6 . 4 mg 、 1.0 . 0 mg であった (OD 280 = 1 のとき、1 mg/ml としたとき)。これらの融合蛋白質を以下、それぞれ MBP-MDC(C1) 、 MBP-MDC(dC1) と称する。

【 0 0 4 5 】

同様に、プラスミド pH6-MDC(C1) による形質転換体の場合は、菌体に 10 ml のソニケーションバッファー (10mM リン酸ナトリウム pH8.0, 200mM NaCl) を加え超音波によって破碎した。組換え MDC 融合蛋白質は、破碎液の不溶性画分に存在したので、これを遠心分離してバッファー A (6M 塩酸グアニジン、100mM NaH₂PO₄、10mM Tris-HCl、pH8.0) に溶解し、遠心分離して上清可溶画分を集め、Ni - NTA カラム (Diagen 社製) にかけ、バッファー A 、次いでバッファー B (8M 尿素、100mM NaH₂PO₄、10mM Tris-HCl、pH8.0) で洗浄後、バッファー C (8M 尿素、100mM NaH₂PO₄、10mM Tris-HCl、pH6.3) 、バッファー D (8M 尿素、100mM NaH₂PO₄、10mM Tris-HCl、pH5.9) 、バッファー E (8M 尿素、100mM NaH₂PO₄、10mM Tris-HCl、pH4.5) およびバッファー F (6M 塩酸グアニジン、200mM 酢酸) で段階的に溶出した。溶出画分は、280 nm の吸光度および SDS ポリアクリルアミド電気泳動法 (クマシーブルー染色) で解析して分画した。この結果、バッファー F によ

10

20

30

40

50

る溶出液に、期待される約 34 Kd の His6 融合蛋白質が単一バンドとして検出される画分が得られた。収量は 51.9 mg であった (OD₂₈₀ = 1 のとき、1 mg/ml としたとき)。この融合蛋白質を以下、His6-MDC(C1)と称する。

【0046】

(実施例 14) モノクローナル抗体およびウサギポリクローナル抗体の作製

実施例 13 で得られた 3 種の組換え融合蛋白質、His6-MDC(C1)、MBP-MDC(dC1)、および MBP-MDC(C1) を、それぞれ、免疫抗原、抗体精製・スクリーニング用抗原、測定用標準抗原として用いた。

抗 MDC 蛋白特異的モノクローナル抗体は、His6-MDC(C1) をマウスに免疫して作製した。すなわち、His6-MDC(C1) の 3M 尿素 / PBS 溶液 (500 - 1000 µg/ml) を完全アジュバントと 1 : 1 の割合で混合しマウスの腹腔内に 100 µg / 匹にて 2 週間隔で 4 ~ 6 回免疫を行った。免疫終了後、P3U1 細胞と B 細胞とのハイブリドーマを PEG 1500 を用いて作製し、培養上清中の抗体価をモニターし、抗 MDC 蛋白特異的抗体を産生するハイブリドーマの選択を行った。

抗体価の測定は、実施例 13 で得た MBP-MDC(dC1) 融合蛋白質を固相化 (5 µg/ml) したポリスチレン製カップに培養上清 100 µl を加え第一反応を行い、洗浄後、抗マウス IgG-HRP (Horse-raddish peroxidase) を加え第二反応を行った。洗浄後、酵素基質溶液 (過酸化水素水および ABTS (2,2'-アジノ-ビス-(3-エチルベンゾチアゾリン-6-スルホン酸) 混合液) を添加し、発色反応 (第三反応) を行いモニターした。

ハイブリドーマを 96 ウエルマルチプレートにて培養し、HAT 選択を行い、約 2 週間後に培養上清中の抗体価を測定し抗原と特異的に反応するクローニングを選択した。更に、クローニング操作を行い、3 クローニング (G1-5A2-2C8, G2-2F2-3D11, G2-2D10-3F5) を抗体産生ハイブリドーマとして樹立した。樹立したクローニングの产生抗体のクラスおよびサブクラスは、G1-5A2-2C8 は IgG₁, G2-2F2-3D11 は IgG_{2b}, G2-2D10-3F5 は IgM であった。各ハイブリドーマ細胞 300 万個を、予め約 1 週間前に 0.5ml のプリスタンを腹腔内に投与しておいた B ALB/c マウスの腹腔内に接種し、8 ~ 10 日後に腹水を採取した。各腹水よりプロテイン G カラムによるアフィニティーコロマトグラフィーで抗体を精製した。

【0047】

同様に、実施例 13 で得られた His6-MDC(C1) を免疫抗原として、ウサギに免疫し、抗 MDC 蛋白ポリクローナル抗体を作製した。

すなわち、マウスと同様、His6-MDC(C1) の 3M 尿素 / PBS 溶液 (500 - 1000 µg/ml) を完全アジュバントと 1 : 1 の割合で混合し免疫を行った。免疫終了後、抗血清を得、実施例 13 で得た MBP-MDC(dC1) 融合蛋白質を固相化したポリスチレン製カップを用いて、抗体価を測定した。抗血清を 500 倍から 64000 倍まで希釈し、その 100 µl をウエルに添加し、抗体価をヤギ抗ウサギ IgG-HRP を用いて検討したところ、64000 倍まで検出が可能であった。また、免疫前の血清中には、MBP-MDC(dC1) と反応する抗体が存在しなかったことから、MDC 蛋白質に特異的に反応する抗体が產生されていることが確認することができた。さらに、この抗血清を、プロテイン G カラムおよび MBP-MDC(dC1) 融合蛋白質を固相化したセファロースカラムによるアフィニティーコロマトグラフィーで精製した。

【0048】

このようにして得られた精製モノクローナル抗体および精製ウサギポリクローナル抗体を用いた E L I S A 法による MDC 蛋白質の定量法を確立した。

すなわち、ハイブリドーマ (G2-2F2-3D11) 由来の精製モノクローナル抗体を 96 ウエルプレートに固相化し、BSA (Bovine serum albumin) でプロッキング後、精製 MBP-MDC(C1) 溶液を被検液として、0.156 ~ 5.00 µg/ml の範囲で 100 µl / ウエルずつ添加して室温 1 時間反応させた。ウエルを洗浄後、精製ウサギポリクローナル抗体溶液 (5 µg/ml) を 100 µl / ウエルずつ添加して室温 1 時間反応させた。ウエルを洗浄後、抗

10

20

30

40

50

ウサギ IgG - HRP (5ug/ml) を 100 ul / ウエルずつ添加して室温 1 時間反応させた。反応終了後 2 mM アジ化ナトリウムを 100 ul / ウエルずつ添加し、405nm と 490nm の吸光値を測定した。得られた差分吸光値は、被検液濃度とよく相関した値を示し、0 ~ 2.5 μg / ml の間でほぼ直線的な関係であることが確かめられた(図8)。このことは、これらのモノクローナル抗体およびウサギポリクローナル抗体によるELISA法が MDC 蛋白質の定量法として充分に使用できることを示している。

【0049】

【配列表】

配列番号 : 1

配列の長さ : 488

10

配列の型 : アミノ酸

配列の種類 : タンパク質

トポロジー : 直鎖状

起源

生物名 : ホモサピエンス

直接の起源

ライプラリー名 : ヒト胎児脳 cDNA ライプラリー

配列

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

Ser Gly Arg Thr Phe Gln Ser Thr Ser Ser Gly Ala Ala Tyr Val Gly
 225 230 235 240
 Gly Ile Cys Ser Leu Ser His Gly Gly Val Asn Glu Tyr Gly Asn
 245 250 255
 Met Gly Ala Met Ala Val Thr Leu Ala Gln Thr Leu Gly Gln Asn Leu
 260 265 270
 Gly Met Met Trp Asn Lys His Arg Ser Ser Ala Gly Asp Cys Lys Cys 10
 275 280 285
 Pro Asp Ile Trp Leu Gly Cys Ile Met Glu Asp Thr Gly Phe Tyr Leu
 290 295 300
 Pro Arg Lys Phe Ser Arg Cys Ser Ile Asp Glu Tyr Asn Gln Phe Leu
 305 310 315 320
 Gln Glu Gly Gly Ser Cys Leu Phe Asn Lys Pro Leu Lys Leu
 325 330 335 20
 Asp Pro Pro Glu Cys Gly Asn Gly Phe Val Glu Ala Gly Glu Cys
 340 345 350
 Asp Cys Gly Ser Val Gln Glu Cys Ser Arg Ala Gly Gly Asn Cys Cys
 355 360 365
 Lys Lys Cys Thr Leu Thr His Asp Ala Met Cys Ser Asp Gly Leu Cys
 370 375 380
 Cys Arg Arg Cys Lys Tyr Glu Pro Arg Gly Val Ser Cys Arg Glu Ala 30
 385 390 395 400
 Val Asn Glu Cys Asp Ile Ala Glu Thr Cys Thr Gly Asp Ser Ser Gln
 405 410 415
 Cys Pro Pro Asn Leu His Lys Leu Asp Gly Tyr Tyr Cys Asp His Glu
 420 425 430
 Gln Gly Arg Cys Tyr Gly Arg Cys Lys Thr Arg Asp Arg Gln Cys
 435 440 445 40
 Gln Val Leu Trp Gly His Ala Ala Ala Asp Arg Phe Cys Tyr Glu Lys

450 455 460
Leu Asn Val Glu Gly Thr Glu Arg Gly Ser Cys Gly Arg Lys Gly Ser
465 470 475 480
Gly Trp Val Gln Cys Ser Lys Gln
485 488 .

【 0 0 5 0 】

配列番号 : 2

10

配列の長さ : 5 2 4

配列の型 : アミノ酸

配列の種類 : タンパク質

トポロジー : 直鎖状

起源

生物名 : ホモサピエンス

直接の起源

ライブラリー名 : ヒト胎児脳 c D N A ライブラリー

配列

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

Ser Asn Ala Thr His Leu Phe Ser Gly Arg Thr Phe Gln Ser Thr Ser
 225 230 235 240
 Ser Gly Ala Ala Tyr Val Gly Gly Ile Cys Ser Leu Ser His Gly Gly
 245 250 255
 Gly Val Asn Glu Tyr Gly Asn Met Gly Ala Met Ala Val Thr Leu Ala
 260 265 270
 Gln Thr Leu Gly Gln Asn Leu Gly Met Met Trp Asn Lys His Arg Ser 10
 275 280 285
 Ser Ala Gly Asp Cys Lys Cys Pro Asp Ile Trp Leu Gly Cys Ile Met
 290 295 300
 Glu Asp Thr Gly Phe Tyr Leu Pro Arg Lys Phe Ser Arg Cys Ser Ile
 305 310 315 320
 Asp Glu Tyr Asn Gln Phe Leu Gln Glu Gly Gly Ser Cys Leu Phe
 325 330 335 20
 Asn Lys Pro Leu Lys Leu Leu Asp Pro Pro Glu Cys Gly Asn Gly Phe
 340 345 350
 Val Glu Ala Gly Glu Glu Cys Asp Cys Gly Ser Val Gln Glu Cys Ser
 355 360 365
 Arg Ala Gly Gly Asn Cys Cys Lys Cys Thr Leu Thr His Asp Ala
 370 375 380
 Met Cys Ser Asp Gly Leu Cys Cys Arg Arg Cys Lys Tyr Glu Pro Arg 30
 385 390 395 400
 Gly Val Ser Cys Arg Glu Ala Val Asn Glu Cys Asp Ile Ala Glu Thr
 405 410 415
 Cys Thr Gly Asp Ser Ser Gln Cys Pro Pro Asn Leu His Lys Leu Asp
 420 425 430
 Gly Tyr Tyr Cys Asp His Glu Gln Gly Arg Cys Tyr Gly Gly Arg Cys
 435 440 445 40
 Lys Thr Arg Asp Arg Gln Cys Gln Val Leu Trp Gly His Ala Ala Ala

450	455	460	
Asp Arg Phe Cys Tyr Glu Lys Leu Asn Val Glu Gly Thr Glu Arg Gly			
465	470	475	480
Ser Cys Gly Arg Lys Gly Ser Gly Trp Val Gln Cys Ser Lys Gln Pro			
485	490	495	
Gln Gln Gly Arg Ala Val Trp Leu Pro Pro Leu Cys Gln His Leu Trp			
500	505	510	10
Ser Ser Ser Ala Arg Gly Pro Gly Gly Arg His Gln			
515	520	524	.

【0051】

配列番号：3

配列の長さ：670

配列の型：アミノ酸

配列の種類：タンパク質

トポロジー：直鎖状

20

起源

生物名：ホモサピエンス

直接の起源

ライブラリー名：ヒト胎児脳 cDNA ライブラリー

配列

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

10

20

30

40

Ser Asn Ala Thr His Leu Phe Ser Gly Arg Thr Phe Gln Ser Thr Ser
 225 230 235 240
 Ser Gly Ala Ala Tyr Val Gly Gly Ile Cys Ser Leu Ser His Gly Gly
 245 250 255
 Gly Val Asn Glu Tyr Gly Asn Met Gly Ala Met Ala Val Thr Leu Ala
 260 265 270
 Gln Thr Leu Gly Gln Asn Leu Gly Met Met Trp Asn Lys His Arg Ser 10
 275 280 285
 Ser Ala Gly Asp Cys Lys Cys Pro Asp Ile Trp Leu Gly Cys Ile Met
 290 295 300
 Glu Asp Thr Gly Phe Tyr Leu Pro Arg Lys Phe Ser Arg Cys Ser Ile
 305 310 315 320
 Asp Glu Tyr Asn Gln Phe Leu Gln Glu Gly Gly Ser Cys Leu Phe
 325 330 335 20
 Asn Lys Pro Leu Lys Leu Leu Asp Pro Pro Glu Cys Gly Asn Gly Phe
 340 345 350
 Val Glu Ala Gly Glu Glu Cys Asp Cys Gly Ser Val Gln Glu Cys Ser
 355 360 365
 Arg Ala Gly Gly Asn Cys Cys Lys Cys Thr Leu Thr His Asp Ala
 370 375 380
 Met Cys Ser Asp Gly Leu Cys Cys Arg Arg Cys Lys Tyr Glu Pro Arg 30
 385 390 395 400
 Gly Val Ser Cys Arg Glu Ala Val Asn Glu Cys Asp Ile Ala Glu Thr
 405 410 415
 Cys Thr Gly Asp Ser Ser Gln Cys Pro Pro Asn Leu His Lys Leu Asp
 420 425 430
 Gly Tyr Tyr Cys Asp His Glu Gln Gly Arg Cys Tyr Gly Gly Arg Cys
 435 440 445 40
 Lys Thr Arg Asp Arg Gln Cys Gln Val Leu Trp Gly His Ala Ala Ala

450	455	460	
Asp Arg Phe Cys Tyr Glu Lys Leu Asn Val Glu Gly Thr Glu Arg Gly			
465	470	475	480
Ser Cys Gly Arg Lys Gly Ser Gly Trp Val Gln Cys Ser Lys Gln Asp			
485	490	495	
Val Leu Cys Gly Phe Leu Leu Cys Val Asn Ile Ser Gly Ala Pro Arg			
500	505	510	10
Leu Gly Asp Leu Val Gly Asp Ile Ser Ser Val Thr Phe Tyr His Gln			
515	520	525	
Gly Lys Glu Leu Asp Cys Arg Gly Gly His Val Gln Leu Ala Asp Gly			
530	535	540	
Ser Asp Leu Ser Tyr Val Glu Asp Gly Thr Ala Cys Gly Pro Asn Met			
545	550	555	560
Leu Cys Leu Asp His Arg Cys Leu Pro Ala Ser Ala Phe Asn Phe Ser			20
565	570	575	
Thr Cys Pro Gly Ser Gly Glu Arg Arg Ile Cys Ser His His Gly Val			
580	585	590	
Cys Ser Asn Glu Gly Lys Cys Ile Cys Gln Pro Asp Trp Thr Gly Lys			
595	600	605	
Asp Cys Ser Ile His Asn Pro Leu Pro Thr Ser Pro Pro Thr Gly Glu			
610	615	620	30
Thr Glu Arg Tyr Lys Gly Pro Ser Gly Thr Asn Ile Ile Ile Gly Ser			
625	630	635	640
Ile Ala Gly Ala Val Leu Val Ala Ala Ile Val Leu Gly Gly Thr Gly			
645	650	655	
Trp Gly Phe Lys Asn Ile Arg Arg Gly Arg Ser Gly Gly Ala			
660	665	670 .	

40

【0052】

配列番号：4

配列の長さ：769

配列の型：アミノ酸

配列の種類：タンパク質

トポロジー：直鎖状

起源

生物名：ホモサピエンス

直接の起源

ライブラリー名：ヒト胎児脳 cDNA ライブラリー

50

配列

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

Arg Gln Val Arg Arg Gly His Pro Thr Val His Ser Glu Thr Lys Tyr
 225 230 235 240
 Val Glu Leu Ile Val Ile Asn Asp His Gln Leu Phe Glu Gln Met Arg
 245 250 255
 Gln Ser Val Val Leu Thr Ser Asn Phe Ala Lys Ser Val Val Asn Leu
 260 265 270
 Ala Asp Val Ile Tyr Lys Glu Gln Leu Asn Thr Arg Ile Val Leu Val 10
 275 280 285
 Ala Met Glu Thr Trp Ala Asp Gly Asp Lys Ile Gln Val Gln Asp Asp
 290 295 300
 Leu Leu Glu Thr Leu Ala Arg Leu Met Val Tyr Arg Arg Glu Gly Leu
 305 310 315 320
 Pro Glu Pro Ser Asn Ala Thr His Leu Phe Ser Gly Arg Thr Phe Gln
 325 330 335 20
 Ser Thr Ser Ser Gly Ala Ala Tyr Val Gly Gly Ile Cys Ser Leu Ser
 340 345 350
 His Gly Gly Gly Val Asn Glu Tyr Gly Asn Met Gly Ala Met Ala Val
 355 360 365
 Thr Leu Ala Gln Thr Leu Gly Gln Asn Leu Gly Met Met Trp Asn Lys
 370 375 380
 His Arg Ser Ser Ala Gly Asp Cys Lys Cys Pro Asp Ile Trp Leu Gly 30
 385 390 395 400
 Cys Ile Met Glu Asp Thr Gly Phe Tyr Leu Pro Arg Lys Phe Ser Arg
 405 410 415
 Cys Ser Ile Asp Glu Tyr Asn Gln Phe Leu Gln Glu Gly Gly Ser
 420 425 430
 Cys Leu Phe Asn Lys Pro Leu Lys Leu Leu Asp Pro Pro Glu Cys Gly
 435 440 445 40
 Asn Gly Phe Val Glu Ala Gly Glu Glu Cys Asp Cys Gly Ser Val Gln

450	455	460	
Glu Cys Ser Arg Ala Gly Gly Asn Cys Cys Lys Lys Cys Thr Leu Thr			
465	470	475	480
His Asp Ala Met Cys Ser Asp Gly Leu Cys Cys Arg Arg Cys Lys Tyr			
485	490	495	
Glu Pro Arg Gly Val Ser Cys Arg Glu Ala Val Asn Glu Cys Asp Ile			
500	505	510	10
Ala Glu Thr Cys Thr Gly Asp Ser Ser Gln Cys Pro Pro Asn Leu His			
515	520	525	
Lys Leu Asp Gly Tyr Tyr Cys Asp His Glu Gln Gly Arg Cys Tyr Gly			
530	535	540	
Gly Arg Cys Lys Thr Arg Asp Arg Gln Cys Gln Val Leu Trp Gly His			
545	550	555	560
Ala Ala Ala Asp Arg Phe Cys Tyr Glu Lys Leu Asn Val Glu Gly Thr			20
565	570	575	
Glu Arg Gly Ser Cys Gly Arg Lys Gly Ser Gly Trp Val Gln Cys Ser			
580	585	590	
Lys Gln Asp Val Leu Cys Gly Phe Leu Leu Cys Val Asn Ile Ser Gly			
595	600	605	
Ala Pro Arg Leu Gly Asp Leu Val Gly Asp Ile Ser Ser Val Thr Phe			
610	615	620	30
Tyr His Gln Gly Lys Glu Leu Asp Cys Arg Gly Gly His Val Gln Leu			
625	630	635	640
Ala Asp Gly Ser Asp Leu Ser Tyr Val Glu Asp Gly Thr Ala Cys Gly			
645	650	655	
Pro Asn Met Leu Cys Leu Asp His Arg Cys Leu Pro Ala Ser Ala Phe			
660	665	670	
Asn Phe Ser Thr Cys Pro Gly Ser Gly Glu Arg Arg Ile Cys Ser His			40
675	680	685	

His Gly Val Cys Ser Asn Glu Gly Lys Cys Ile Cys Gln Pro Asp Trp
 690 695 700
 Thr Gly Lys Asp Cys Ser Ile His Asn Pro Leu Pro Thr Ser Pro Pro
 705 710 715 720
 Thr Gly Glu Thr Glu Arg Tyr Lys Gly Pro Ser Gly Thr Asn Ile Ile
 725 730 735
 Ile Gly Ser Ile Ala Gly Ala Val Leu Val Ala Ala Ile Val Leu Gly 10
 740 745 750
 Gly Thr Gly Trp Gly Phe Lys Asn Ile Arg Arg Gly Arg Ser Gly Gly
 755 760 765
 Ala
 769 .

【0053】

配列番号 : 5 20
 配列の長さ : 1 4 6 4
 配列の型 : 核酸
 鎮の数 : 二本鎮
 トポロジー : 直鎖状
 配列の種類 : cDNA to mRNA
 起源
 生物名 : ホモサピエンス
 直接の起源
 ライブライナー名 : ヒト胎児脳 cDNA ライブライナー
 配列の特徴 30
 特徴を表す記号 : C D S
 存在位置 : 1 . . 1 4 6 4
 特徴を決定した方法 : E

配列

CTC CTC TCC TCG CAA TAC GTG GAG CGC CAC TTC AGC CGG GAG GGG ACA		48	
Leu Leu Ser Ser Gln Tyr Val Glu Arg His Phe Ser Arg Glu Gly Thr			
1 5 10 15			
ACC CAG CAC AGC ACC GGG GCT GGA GAC CAC TGC TAC TAC CAG GGG AAG		96	
Thr Gln His Ser Thr Gly Ala Gly Asp His Cys Tyr Tyr Gln Gly Lys			
20 25 30			10
CTC CGG GGG AAC CCG CAC TCC TTC GCC GCC CTC ACC TGC CAG GGG		144	
Leu Arg Gly Asn Pro His Ser Phe Ala Ala Leu Ser Thr Cys Gln Gly			
35 40 45			
CTG CAT GGG GTC TTC TCT GAT GGG AAC TTG ACT TAC ATC GTG GAG CCC		192	
Leu His Gly Val Phe Ser Asp Gly Asn Leu Thr Tyr Ile Val Glu Pro			
50 55 60			
CAA GAG GTG GCT GGA CCT TGG GGA GCC CCT CAG GGA CCC CTT CCC CAC		240	20
Gln Glu Val Ala Gly Pro Trp Gly Ala Pro Gln Gly Pro Leu Pro His			
65 70 75 80			
CTC ATT TAC CGG ACC CCT CTC CTC CCA GAT CCC CTC GGA TGC AGG GAA		288	
Leu Ile Tyr Arg Thr Pro Leu Leu Pro Asp Pro Leu Gly Cys Arg Glu			
85 90 95			
CCA GGC TGC CTG TTT GCT GTG CCT GCC CAG TCG GCT CCT CCA AAC CGG		336	
Pro Gly Cys Leu Phe Ala Val Pro Ala Gln Ser Ala Pro Pro Asn Arg			30
100 105 110			
CCG AGG CTG AGA AGG AAA AGG CAG GTC CGC CGG GGC CAC CCT ACA GTG		384	
Pro Arg Leu Arg Arg Lys Arg Gln Val Arg Arg Gly His Pro Thr Val			
115 120 125			
CAC AGT GAA ACC AAG TAT GTG GAG CTA ATT GTG ATC AAC GAC CAC CAG		432	
His Ser Glu Thr Lys Tyr Val Glu Leu Ile Val Ile Asn Asp His Gln			
130 135 140			40
CTG TTC GAG CAG ATG CGA CAG TCG GTG GTC CTC ACC AGC AAC TTT GCC		480	

Leu Phe Glu Gln Met Arg Gln Ser Val Val Leu Thr Ser Asn Phe Ala
 145 150 155 160
 AAG TCC GTG GTG AAC CTG GCC GAT GTG ATA TAC AAG GAG CAG CTC AAC 528
 Lys Ser Val Val Asn Leu Ala Asp Val Ile Tyr Lys Glu Gln Leu Asn
 165 170 175
 ACT CGC ATC GTC CTG GTT GCC ATG GAA ACA TGG GCA GAT GGG GAC AAG 576
 Thr Arg Ile Val Leu Val Ala Met Glu Thr Trp Ala Asp Gly Asp Lys 10
 180 185 190
 ATC CAG GTG CAG GAT GAC CTC CTG GAG ACC CTG GCC CGG CTC ATG GTC 624
 Ile Gln Val Gln Asp Asp Leu Leu Glu Thr Leu Ala Arg Leu Met Val
 195 200 205
 TAC CGA CGG GAG GGT CTG CCT GAG CCC AGT AAT GCC ACC CAC CTC TTC 672
 Tyr Arg Arg Glu Gly Leu Pro Glu Pro Ser Asn Ala Thr His Leu Phe
 210 215 220 20
 TCG GGC AGG ACC TTC CAG AGC ACG AGC AGC GGG GCA GCC TAC GTG GGG 720
 Ser Gly Arg Thr Phe Gln Ser Thr Ser Ser Gly Ala Ala Tyr Val Gly
 225 230 235 240
 GGC ATA TGC TCC CTG TCC CAT GGC GGG GGT GTG AAC GAG TAC GGC AAC 768
 Gly Ile Cys Ser Leu Ser His Gly Gly Gly Val Asn Glu Tyr Gly Asn
 245 250 255
 ATG GGG GCG ATG GCC GTG ACC CTT GCC CAG ACG CTG GGA CAG AAC CTG 816 30
 Met Gly Ala Met Ala Val Thr Leu Ala Gln Thr Leu Gly Gln Asn Leu
 260 265 270
 GGC ATG ATG TGG AAC AAA CAC CGG AGC TCG GCA GGG GAC TGC AAG TGT 864
 Gly Met Met Trp Asn Lys His Arg Ser Ser Ala Gly Asp Cys Lys Cys
 275 280 285
 CCA GAC ATC TGG CTG GGC TGC ATC ATG GAG GAC ACT GGG TTC TAC CTG 912
 Pro Asp Ile Trp Leu Gly Cys Ile Met Glu Asp Thr Gly Phe Tyr Leu 40
 290 295 300

CCC CGC AAG TTC TCT CGC TGC AGC ATC GAC GAG TAC AAC CAG TTT CTG	960			
Pro Arg Lys Phe Ser Arg Cys Ser Ile Asp Glu Tyr Asn Gln Phe Leu				
305	310	315	320	
CAG GAG GGT GGT GGC AGC TGC CTC TTC AAC AAG CCC CTC AAG CTC CTG	1008			
Gln Glu Gly Gly Ser Cys Leu Phe Asn Lys Pro Leu Lys Leu Leu				
325	330	335		
GAC CCC CCA GAG TGC GGG AAC GGC TTC GTG GAG GCA GGG GAG GAG TGC	1056	10		
Asp Pro Pro Glu Cys Gly Asn Gly Phe Val Glu Ala Gly Glu Glu Cys				
340	345	350		
GAC TGC GGC TCG GTG CAG GAG TGC AGC CGC GCA GGT GGC AAC TGC TGC	1104			
Asp Cys Gly Ser Val Gln Glu Cys Ser Arg Ala Gly Gly Asn Cys Cys				
355	360	365		
AAG AAA TGC ACC CTG ACT CAC GAC GCC ATG TGC AGC GAC GGG CTC TGC	1152			
Lys Lys Cys Thr Leu Thr His Asp Ala Met Cys Ser Asp Gly Leu Cys		20		
370	375	380		
TGT CGC CGC TGC AAG TAC GAA CCA CGG GGT GTG TCC TGC CGA GAG GCC	1200			
Cys Arg Arg Cys Lys Tyr Glu Pro Arg Gly Val Ser Cys Arg Glu Ala				
385	390	395	400	
GTG AAC GAG TGC GAC ATC GCG GAG ACC TGC ACC GGG GAC TCT AGC CAG	1248			
Val Asn Glu Cys Asp Ile Ala Glu Thr Cys Thr Gly Asp Ser Ser Gln				
405	410	415		30
TGC CCG CCT AAC CTG CAC AAG CTG GAC GGT TAC TAC TGT GAC CAT GAG	1296			
Cys Pro Pro Asn Leu His Lys Leu Asp Gly Tyr Tyr Cys Asp His Glu				
420	425	430		
CAG GGC CGC TGC TAC GGA GGT CGC TGC AAA ACC CGG GAC CGG CAG TGC	1344			
Gln Gly Arg Cys Tyr Gly Gly Arg Cys Lys Thr Arg Asp Arg Gln Cys				
435	440	445		
CAG GTT CTT TGG GGC CAT GCG GCT GCT GAT CGC TTC TGC TAC GAG AAG	1392	40		
Gln Val Leu Trp Gly His Ala Ala Ala Asp Arg Phe Cys Tyr Glu Lys				

450	455	460	
CTG AAT GTG GAG GGG ACG GAG CGT GGG AGC TGT GGG CGC AAG GGA TCC			1440
Leu Asn Val Glu Gly Thr Glu Arg Gly Ser Cys Gly Arg Lys Gly Ser			
465	470	475	480
GGC TGG GTC CAG TGC AGT AAG CAG			1464
Gly Trp Val Gln Cys Ser Lys Gln			
485	•		

10

【0054】

配列番号：6

配列の長さ：2923

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA to mRNA

起源

生物名：ホモサピエンス

20

直接の起源

ライブラリー名：ヒト胎児脳 cDNA ライブラリー

配列の特徴

特徴を表す記号：5'UTR

存在位置：1..27

特徴を決定した方法：E

特徴を表す記号：3'UTR

存在位置：1600..2923

特徴を決定した方法：E

特徴を表す記号：CDS

30

存在位置：28..1599

特徴を決定した方法：E

配列

GCGTTTACTG GCAAACCGCA TTTGTAA ATG TGC TGG CTG AGC CAC CAA CTC	51
Met Cys Trp Leu Ser His Gln Leu	
1 5	
CTC TCC TCG CAA TAC GTG GAG CGC CAC TTC AGC CGG GAG GGG ACA ACC	99
Leu Ser Ser Gln Tyr Val Glu Arg His Phe Ser Arg Glu Gly Thr Thr	
10 15 20	10
CAG CAC AGC ACC GGG GCT GGA GAC CAC TGC TAC TAC CAG GGG AAG CTC	147
Gln His Ser Thr Gly Ala Gly Asp His Cys Tyr Tyr Gln Gly Lys Leu	
25 30 35 40	
CGG GGG AAC CCG CAC TCC TTC GCC GCC CTC TCC ACC TGC CAG GGG CTG	195
Arg Gly Asn Pro His Ser Phe Ala Ala Leu Ser Thr Cys Gln Gly Leu	
45 50 55	
CAT GGG GTC TTC TCT GAT GGG AAC TTG ACT TAC ATC GTG GAG CCC CAA	243
His Gly Val Phe Ser Asp Gly Asn Leu Thr Tyr Ile Val Glu Pro Gln	
60 65 70	20
GAG GTG GCT GGA CCT TGG GGA GCC CCT CAG GGA CCC CTT CCC CAC CTC	291
Glu Val Ala Gly Pro Trp Gly Ala Pro Gln Gly Pro Leu Pro His Leu	
75 80 85	
ATT TAC CGG ACC CCT CTC CTC CCA GAT CCC CTC GGA TGC AGG GAA CCA	339
Ile Tyr Arg Thr Pro Leu Leu Pro Asp Pro Leu Gly Cys Arg Glu Pro	
90 95 100	30
GGC TGC CTG TTT GCT GTG CCT GCC CAG TCG GCT CCT CCA AAC CGG CCG	387
Gly Cys Leu Phe Ala Val Pro Ala Gln Ser Ala Pro Pro Asn Arg Pro	
105 110 115 120	
AGG CTG AGA AGG AAA AGG CAG GTC CGC CGG GGC CAC CCT ACA GTG CAC	435
Arg Leu Arg Arg Lys Arg Gln Val Arg Arg Gly His Pro Thr Val His	
125 130 135	40
AGT GAA ACC AAG TAT GTG GAG CTA ATT GTG ATC AAC GAC CAC CAG CTG	483

Ser	Glu	Thr	Lys	Tyr	Val	Glu	Leu	Ile	Val	Ile	Asn	Asp	His	Gln	Leu	
140						145					150					
TTC	GAG	CAG	ATG	CGA	CAG	TCG	GTG	GTC	CTC	ACC	AGC	AAC	TTT	GCC	AAG	531
Phe	Glu	Gln	Met	Arg	Gln	Ser	Val	Val	Leu	Thr	Ser	Asn	Phe	Ala	Lys	
155						160					165					
TCC	GTG	GTG	AAC	CTG	GCC	GAT	GTG	ATA	TAC	AAG	GAG	CAG	CTC	AAC	ACT	579
Ser	Val	Val	Asn	Leu	Ala	Asp	Val	Ile	Tyr	Lys	Glu	Gln	Leu	Asn	Thr	10
170						175				180						
CGC	ATC	GTC	CTG	GTT	GCC	ATG	GAA	ACA	TGG	GCA	GAT	GGG	GAC	AAG	ATC	627
Arg	Ile	Val	Leu	Val	Ala	Met	Glu	Thr	Trp	Ala	Asp	Gly	Asp	Lys	Ile	
185						190				195			200			
CAG	GTG	CAG	GAT	GAC	CTC	CTG	GAG	ACC	CTG	GCC	CGG	CTC	ATG	GTC	TAC	675
Gln	Val	Gln	Asp	Asp	Leu	Leu	Glu	Thr	Leu	Ala	Arg	Leu	Met	Val	Tyr	
205						210				215						20
CGA	CGG	GAG	GGT	CTG	CCT	GAG	CCC	AGT	AAT	GCC	ACC	CAC	CTC	TTC	TCG	723
Arg	Arg	Glu	Gly	Leu	Pro	Glu	Pro	Ser	Asn	Ala	Thr	His	Leu	Phe	Ser	
220						225				230						
GGC	AGG	ACC	TTC	CAG	AGC	ACG	AGC	GGG	GCA	GCC	TAC	GTG	GGG	GGC		771
Gly	Arg	Thr	Phe	Gln	Ser	Thr	Ser	Ser	Gly	Ala	Ala	Tyr	Val	Gly	Gly	
235						240				245						
ATA	TGC	TCC	CTG	TCC	CAT	GGC	GGG	GGT	GTG	AAC	GAG	TAC	GGC	AAC	ATG	819
Ile	Cys	Ser	Leu	Ser	His	Gly	Gly	Gly	Val	Asn	Glu	Tyr	Gly	Asn	Met	30
250						255				260						
GGG	GCG	ATG	GCC	GTG	ACC	CTT	GCC	CAG	ACG	CTG	GGA	CAG	AAC	CTG	GGC	867
Gly	Ala	Met	Ala	Val	Thr	Leu	Ala	Gln	Thr	Leu	Gly	Gln	Asn	Leu	Gly	
265						270				275			280			
ATG	ATG	TGG	AAC	AAA	CAC	CGG	AGC	TCG	GCA	GGG	GAC	TGC	AAG	TGT	CCA	915
Met	Met	Trp	Asn	Lys	His	Arg	Ser	Ser	Ala	Gly	Asp	Cys	Lys	Cys	Pro	40
285						290				295						

GAC ATC TGG CTG GGC TGC ATC ATG GAG GAC ACT GGG TTC TAC CTG CCC	963
Asp Ile Trp Leu Gly Cys Ile Met Glu Asp Thr Gly Phe Tyr Leu Pro	
300	305
	310
CGC AAG TTC TCT CGC TGC AGC ATC GAC GAG TAC AAC CAG TTT CTG CAG	1011
Arg Lys Phe Ser Arg Cys Ser Ile Asp Glu Tyr Asn Gln Phe Leu Gln	
315	320
	325
GAG GGT GGT GGC AGC TGC CTC TTC AAC AAG CCC CTC AAG CTC CTG GAC	1059
Glu Gly Gly Ser Cys Leu Phe Asn Lys Pro Leu Lys Leu Leu Asp	
330	335
	340
CCC CCA GAG TGC GGG AAC GGC TTC GTG GAG GCA GGG GAG GAG TGC GAC	1107
Pro Pro Glu Cys Gly Asn Gly Phe Val Glu Ala Gly Glu Glu Cys Asp	
345	350
	355
TGC GGC TCG GTG CAG GAG TGC AGC CGC GCA GGT GGC AAC TGC TGC AAG	1155
Cys Gly Ser Val Gln Glu Cys Ser Arg Ala Gly Gly Asn Cys Cys Lys	
365	370
	375
AAA TGC ACC CTG ACT CAC GAC GCC ATG TGC AGC GAC GGG CTC TGC TGT	1203
Lys Cys Thr Leu Thr His Asp Ala Met Cys Ser Asp Gly Leu Cys Cys	
380	385
	390
CGC CGC TGC AAG TAC GAA CCA CGG GGT GTG TCC TGC CGA GAG GCC GTG	1251
Arg Arg Cys Lys Tyr Glu Pro Arg Gly Val Ser Cys Arg Glu Ala Val	
395	400
	405
AAC GAG TGC GAC ATC GCG GAG ACC TGC ACC GGG GAC TCT AGC CAG TGC	1299
Asn Glu Cys Asp Ile Ala Glu Thr Cys Thr Gly Asp Ser Ser Gln Cys	
410	415
	420
CCG CCT AAC CTG CAC AAG CTG GAC GGT TAC TAC TGT GAC CAT GAG CAG	1347
Pro Pro Asn Leu His Lys Leu Asp Gly Tyr Tyr Cys Asp His Glu Gln	
425	430
	435
	440
GGC CGC TGC TAC GGA GGT CGC TGC AAA ACC CGG GAC CGG CAG TGC CAG	1395
Gly Arg Cys Tyr Gly Gly Arg Cys Lys Thr Arg Asp Arg Gln Cys Gln	
	40

445	450	455	
GTT CTT TGG GGC CAT GCG GCT GCT GAT CGC TTC TGC TAC GAG AAG CTG			1443
Val Leu Trp Gly His Ala Ala Ala Asp Arg Phe Cys Tyr Glu Lys Leu			
460	465	470	
AAT GTG GAG GGG ACG GAG CGT GGG AGC TGT GGG CGC AAG GGA TCC GGC			1491
Asn Val Glu Gly Thr Glu Arg Gly Ser Cys Gly Arg Lys Gly Ser Gly			
475	480	485	10
TGG GTC CAG TGC AGT AAG CAG CCC CAA CAG GGA CGT GCT GTG TGG CTT			1539
Trp Val Gln Cys Ser Lys Gln Pro Gln Gln Gly Arg Ala Val Trp Leu			
490	495	500	
CCT CCT CTG TGT CAA CAT CTC TGG AGC TCC TCG GCT AGG GGA CCT GGT			1587
Pro Pro Leu Cys Gln His Leu Trp Ser Ser Ser Ala Arg Gly Pro Gly			
505	510	515	520
GGG AGA CAT CAG TAGTGTCAAC TTCTACCACC AGGGCAAGGA GCTGGACTGC			1639
Gly Arg His Gln			20
AGGGGAGGCC ACGTGCAGCT GGCGGACGGC TCTGACCTGA GCTATGTGGA GGATGGCACA			1699
GCCTGCGGGC CTAACATGTT GTGCCCTGGAC CATCGCTGCC TGCCAGCTTC TGCCCTCAAC			1759
TTCAGCACCT GCCCCGGCAG TGGGGAGGCG CGGATTGCT CCCACCACGG GGTCTGCAGC			1819
AATGAAGGGA AGTGCATCTG TCAGCCAGAC TGGACAGGCA AAGACTGCAG TATCCATAAC			1879
CCCCCTGCCCA CGTCCCCACC CACGGGGGAG ACGGAGAGAT ATAAAGGTCC CAGCGGCACC			1939
AACATCATCA TTGGCTCCAT CGCTGGGGCT GTCCCTGGTG CAGCCATCGT CCTGGGGCGGC			1999
ACGGGCTGGG GATTTAAAAA CATTGCCGA GGAAGGTCCG GAGGGGCCTA AGTGCCACCC			2059
TCCTCCCTCC AAGCCTGGCA CCCACCGTCT CGGCCCTGAA CCACGAGGCT GCCCCCCATCC			2119
AGCCACGGAG GGAGGCACCA TGCAAATGTC TTCCAGGTCC AAACCCTTCA ACTCCTGGCT			2179
CCGCAGGGGT TTGGGTGGGG GCTGTGGCCC TGCCCTTGGC ACCACCAGGG TGGACCAGGC			2239
CTGGAGGGCA CTTCCCTCCAC AGTCCCCCAC CCACCTCCTG CGGCTCAGCC TTGCACACCC			2299
ACTGCCCGT GTGAATGTAG CTTCCACCTC ATGGATTGCC ACAGCTAAC TCGGGGGCAC			2359
CTGGAGGGAT GCCCCCCAGGC AGCCACCAGT GGACCTAGCC TGGATGGCCC CTCCCTGCAA			2419
CCAGGCAGCT GAGACCAGGG TCTTATCTCT CTGGGACCTA GGGGGACGGG GCTGACATCT			40 2479

ACATTTTTA AACTGAATC TTAATCGATG AATGTAAACT CGGGGGTGCT GGGGCCAGGG 2539
 CAGATGTGGG GATGTTTGA CATTACAGG AGGCCCGGA GAAACTGAGG TATGCCATG 2599
 CCCTAGACCC TCCCCAAGGA TGACCACACC CGAAGTCCTG TCACTGAGCA CAGTCAGGG 2659
 CTGGGCATCC CAGCTGCCCG 2719
 ATTCAAACCA AAGCTGCCTG TGCCATGCCCG 2779
 TGTCCCAGAT CGTCTCCAAT TCGAAAACAA CCGTCCTGCT GTCCCTGTCA GGACACATGG 2839
 ATTTTGGCAG GGCGGGGGGG 2899
 TCCCCCTTTA AAAAAAAA AAAA 2923

.

【0055】

配列番号 : 7
 配列の長さ : 2913
 配列の型 : 核酸
 鎖の数 : 二本鎖
 トポロジー : 直鎖状
 配列の種類 : cDNA to mRNA
 起源
 生物名 : ホモサピエンス
 直接の起源
 ライブライナー名 : ヒト胎児脳 cDNA ライブライナー
 配列の特徴
 特徴を表す記号 : 5'UTR
 存在位置 : 1 . . 27
 特徴を決定した方法 : E
 特徴を表す記号 : 3'UTR
 存在位置 : 2038 . . 2913
 特徴を決定した方法 : E
 特徴を表す記号 : CDS
 存在位置 : 28 . . 2037
 特徴を決定した方法 : E

10

20

30

配列

GCGTTTACTG GCAAACCGCA TTTGTAA ATG TGC TGG CTG AGC CAC CAA CTC	51
Met Cys Trp Leu Ser His Gln Leu	
1 5	
CTC TCC TCG CAA TAC GTG GAG CGC CAC TTC AGC CCG GAG GGG ACA ACC	99
Leu Ser Ser Gln Tyr Val Glu Arg His Phe Ser Arg Glu Gly Thr Thr	
10 15 20	10
CAG CAC AGC ACC GGG GCT GGA GAC CAC TGC TAC TAC CAG GGG AAG CTC	147
Gln His Ser Thr Gly Ala Gly Asp His Cys Tyr Tyr Gln Gly Lys Leu	
25 30 35 40	
CGG GGG AAC CCG CAC TCC TTC GCC GCC CTC TCC ACC TGC CAG GGG CTG	195
Arg Gly Asn Pro His Ser Phe Ala Ala Leu Ser Thr Cys Gln Gly Leu	
45 50 55	
CAT GGG GTC TTC TCT GAT GGG AAC TTG ACT TAC ATC GTG GAG CCC CAA	243
His Gly Val Phe Ser Asp Gly Asn Leu Thr Tyr Ile Val Glu Pro Gln	
60 65 70	20
GAG GTG GCT GGA CCT TGG GGA GCC CCT CAG GGA CCC CTT CCC CAC CTC	291
Glu Val Ala Gly Pro Trp Gly Ala Pro Gln Gly Pro Leu Pro His Leu	
75 80 85	
ATT TAC CGG ACC CCT CTC CTC CCA GAT CCC CTC GGA TGC AGG GAA CCA	339
Ile Tyr Arg Thr Pro Leu Leu Pro Asp Pro Leu Gly Cys Arg Glu Pro	
90 95 100	30
GGC TGC CTG TTT GCT GTG CCT GCC CAG TCG GCT CCT CCA AAC CGG CCG	387
Gly Cys Leu Phe Ala Val Pro Ala Gln Ser Ala Pro Pro Asn Arg Pro	
105 110 115 120	
AGG CTG AGA AGG AAA AGG CAG GTC CGC CGG GGC CAC CCT ACA GTG CAC	435
Arg Leu Arg Arg Lys Arg Gln Val Arg Arg Gly His Pro Thr Val His	
125 130 135	40
AGT GAA ACC AAG TAT GTG GAG CTA ATT GTG ATC AAC GAC CAC CAG CTG	483

Ser	Glu	Thr	Lys	Tyr	Val	Glu	Leu	Ile	Val	Ile	Asn	Asp	His	Gln	Leu	
140						145					150					
TTC	GAG	CAG	ATG	CGA	CAG	TCG	GTG	GTC	CTC	ACC	AGC	AAC	TTT	GCC	AAG	531
Phe	Glu	Gln	Met	Arg	Gln	Ser	Val	Val	Leu	Thr	Ser	Asn	Phe	Ala	Lys	
155						160					165					
TCC	GTG	GTG	AAC	CTG	GCC	GAT	GTG	ATA	TAC	AAG	GAG	CAG	CTC	AAC	ACT	579
Ser	Val	Val	Asn	Leu	Ala	Asp	Val	Ile	Tyr	Lys	Glu	Gln	Leu	Asn	Thr	10
170						175				180						
CGC	ATC	GTC	CTG	GTT	GCC	ATG	GAA	ACA	TGG	GCA	GAT	GGG	GAC	AAG	ATC	627
Arg	Ile	Val	Leu	Val	Ala	Met	Glu	Thr	Trp	Ala	Asp	Gly	Asp	Lys	Ile	
185						190				195			200			
CAG	GTG	CAG	GAT	GAC	CTC	CTG	GAG	ACC	CTG	GCC	CGG	CTC	ATG	GTC	TAC	675
Gln	Val	Gln	Asp	Asp	Leu	Leu	Glu	Thr	Leu	Ala	Arg	Leu	Met	Val	Tyr	
205						210				215						20
CGA	CGG	GAG	GGT	CTG	CCT	GAG	CCC	AGT	AAT	GCC	ACC	CAC	CTC	TTC	TCG	723
Arg	Arg	Glu	Gly	Leu	Pro	Glu	Pro	Ser	Asn	Ala	Thr	His	Leu	Phe	Ser	
220						225				230						
GGC	AGG	ACC	TTC	CAG	AGC	ACG	AGC	GGG	GCA	GCC	TAC	GTG	GGG	GGC		771
Gly	Arg	Thr	Phe	Gln	Ser	Thr	Ser	Ser	Gly	Ala	Ala	Tyr	Val	Gly	Gly	
235						240				245						
ATA	TGC	TCC	CTG	TCC	CAT	GGC	GGG	GGT	GTG	AAC	GAG	TAC	GGC	AAC	ATG	819
Ile	Cys	Ser	Leu	Ser	His	Gly	Gly	Gly	Val	Asn	Glu	Tyr	Gly	Asn	Met	30
250						255				260						
GGG	GCG	ATG	GCC	GTG	ACC	CTT	GCC	CAG	ACG	CTG	GGA	CAG	AAC	CTG	GGC	867
Gly	Ala	Met	Ala	Val	Thr	Leu	Ala	Gln	Thr	Leu	Gly	Gln	Asn	Leu	Gly	
265						270				275			280			
ATG	ATG	TGG	AAC	AAA	CAC	CGG	AGC	TCG	GCA	GGG	GAC	TGC	AAG	TGT	CCA	915
Met	Met	Trp	Asn	Lys	His	Arg	Ser	Ser	Ala	Gly	Asp	Cys	Lys	Cys	Pro	40
285						290				295						

GAC ATC TGG CTG GGC TGC ATC ATG GAG GAC ACT GGG TTC TAC CTG CCC	963
Asp Ile Trp Leu Gly Cys Ile Met Glu Asp Thr Gly Phe Tyr Leu Pro	
300	305
	310
CGC AAG TTC TCT CGC TGC AGC ATC GAC GAG TAC AAC CAG TTT CTG CAG	1011
Arg Lys Phe Ser Arg Cys Ser Ile Asp Glu Tyr Asn Gln Phe Leu Gln	
315	320
	325
GAG GGT GGT GGC AGC TGC CTC TTC AAC AAG CCC CTC AAG CTC CTG GAC	1059
Glu Gly Gly Ser Cys Leu Phe Asn Lys Pro Leu Lys Leu Leu Asp	
330	335
	340
CCC CCA GAG TGC GGG AAC GGC TTC GTG GAG GCA GGG GAG GAG TGC GAC	1107
Pro Pro Glu Cys Gly Asn Gly Phe Val Glu Ala Gly Glu Glu Cys Asp	
345	350
	355
TGC GGC TCG GTG CAG GAG TGC AGC CGC GCA GGT GGC AAC TGC TGC AAG	1155
Cys Gly Ser Val Gln Glu Cys Ser Arg Ala Gly Gly Asn Cys Cys Lys	
365	370
	375
AAA TGC ACC CTG ACT CAC GAC GCC ATG TGC AGC GAC GGG CTC TGC TGT	1203
Lys Cys Thr Leu Thr His Asp Ala Met Cys Ser Asp Gly Leu Cys Cys	
380	385
	390
CGC CGC TGC AAG TAC GAA CCA CGG GGT GTG TCC TGC CGA GAG GCC GTG	1251
Arg Arg Cys Lys Tyr Glu Pro Arg Gly Val Ser Cys Arg Glu Ala Val	
395	400
	405
AAC GAG TGC GAC ATC GCG GAG ACC TGC ACC GGG GAC TCT AGC CAG TGC	1299
Asn Glu Cys Asp Ile Ala Glu Thr Cys Thr Gly Asp Ser Ser Gln Cys	
410	415
	420
CCG CCT AAC CTG CAC AAG CTG GAC GGT TAC TAC TGT GAC CAT GAG CAG	1347
Pro Pro Asn Leu His Lys Leu Asp Gly Tyr Tyr Cys Asp His Glu Gln	
425	430
	435
	440
GGC CGC TGC TAC GGA GGT CGC TGC AAA ACC CGG GAC CGG CAG TGC CAG	1395
Gly Arg Cys Tyr Gly Gly Arg Cys Lys Thr Arg Asp Arg Gln Cys Gln	
	40

445	450	455	
GTT CTT TGG GGC CAT GCG GCT GCT GAT CGC TTC TGC TAC GAG AAG CTG			1443
Val Leu Trp Gly His Ala Ala Ala Asp Arg Phe Cys Tyr Glu Lys Leu			
460	465	470	
AAT GTG GAG GGG ACG GAG CGT GGG AGC TGT GGG CGC AAG GGA TCC GGC			1491
Asn Val Glu Gly Thr Glu Arg Gly Ser Cys Gly Arg Lys Gly Ser Gly			
475	480	485	10
TGG GTC CAG TGC AGT AAG CAG GAC GTG CTG TGT GGC TTC CTC CTC TGT			1539
Trp Val Gln Cys Ser Lys Gln Asp Val Leu Cys Gly Phe Leu Leu Cys			
490	495	500	
GTC AAC ATC TCT GGA GCT CCT CGG CTA GGG GAC CTG GTG GGA GAC ATC			1587
Val Asn Ile Ser Gly Ala Pro Arg Leu Gly Asp Leu Val Gly Asp Ile			
505	510	515	520
AGT AGT GTC ACC TTC TAC CAC CAG GGC AAG GAG CTG GAC TGC AGG GGA			1635
Ser Ser Val Thr Phe Tyr His Gln Gly Lys Glu Leu Asp Cys Arg Gly			
525	530	535	
GGC CAC GTG CAG CTG GCG GAC GGC TCT GAC CTG AGC TAT GTG GAG GAT			1683
Gly His Val Gln Leu Ala Asp Gly Ser Asp Leu Ser Tyr Val Glu Asp			
540	545	550	
GGC ACA GCC TGC GGG CCT AAC ATG TTG TGC CTG GAC CAT CGC TGC CTG			1731
Gly Thr Ala Cys Gly Pro Asn Met Leu Cys Leu Asp His Arg Cys Leu			
555	560	565	
CCA GCT TCT GCC TTC AAC TTC AGC ACC TGC CCC GGC AGT GGG GAG CGC			1779
Pro Ala Ser Ala Phe Asn Phe Ser Thr Cys Pro Gly Ser Gly Glu Arg			
570	575	580	
CGG ATT TGC TCC CAC CAC GGG GTC TGC AGC AAT GAA GGG AAG TGC ATC			1827
Arg Ile Cys Ser His His Gly Val Cys Ser Asn Glu Gly Lys Cys Ile			
585	590	595	600
TGT CAG CCA GAC TGG ACA GGC AAA GAC TGC AGT ATC CAT AAC CCC CTG			40
			1875

Cys Gln Pro Asp Trp Thr Gly Lys Asp Cys Ser Ile His Asn Pro Leu
 605 610 615
 CCC ACG TCC CCA CCC ACG GGG GAG ACG GAG AGA TAT AAA GGT CCC AGC 1923
 Pro Thr Ser Pro Pro Thr Gly Glu Thr Glu Arg Tyr Lys Gly Pro Ser
 620 625 630
 GGC ACC AAC ATC ATC ATT GGC TCC ATC GCT GGG GCT GTC CTG GTT GCA 1971
 Gly Thr Asn Ile Ile Ile Gly Ser Ile Ala Gly Ala Val Leu Val Ala 10
 635 640 645
 GCC TAC GTC CTG GGC GGC ACG GGC TGG GGA TTT AAA AAC ATT CGC CGA 2019
 Ala Ile Val Leu Gly Gly Thr Gly Trp Gly Phe Lys Asn Ile Arg Arg
 650 655 660
 GGA AGG TCC GGA GGG GCC TAAGTGCCAC CCTCCTCCCT CCAAGCCTGG 2067
 Gly Arg Ser Gly Gly Ala
 665 670 20
 CACCCACCGT CTCGGCCCTG AACCACGAGG CTGCCCAT CCAGCCACGG AGGGAGGCAC 2127
 CATGCAAATG TCTTCCAGGT CAAACCCCTT CAACTCCTGG CTCCGCAGGG GTTGGGTGG 2187
 GGGCTGTGGC CCTGCCCTTG GCACCACCAAG GGTGGACCAG GCCTGGAGGG CACTTCCTCC 2247
 ACAGTCCCCC ACCCACCTCC TGCGGCTCAG CCTTGCACAC CCACTGCCCT GTGTGAATGT 2307
 AGCTTCCACC TCATGGATTG CCACAGCTCA ACTCGGGGGC ACCTGGAGGG ATGCCCTCAG 2367
 GCAGGCCACCA GTGGACCTAG CCTGGATGGC CCCTCCTTGC AACCAAGGCAG CTGAGACCAG 2427
 GGTCTTATCT CTCTGGGACC TAGGGGGACG GGGCTGACAT CTACATTTT TAAAATGAA 2487 30
 TCTTAATCGA TGAATGTAAA CTCGGGGGTG CTGGGGCCAG GGCAGATGTG GGGATGTTT 2547
 GACATTTACA GGAGGGCCCCG GAGAAACTGA GGTATGGCCA TGCCCTAGAC CCTCCCCAAG 2607
 GATGACCACA CCCGAAGTCC TGTCACTGAG CACAGTCAGG GGCTGGGCAT CCCAGCTTGC 2667
 CCCCCTTAG CCCCCCTGAG CTTGGAGGAA GTATGAGTGC TGATTCAAAC CAAAGCTGCC 2727
 TGTGCCATGC CCAAGGCCTA GGTTATGGGT ACGGCAACCA CATGTCCCAG ATCGTCTCCA 2787
 ATTGAAAAC AACCGTCCTG CTGTCCCTGT CAGGACACAT GGATTTGGC AGGGCGGGGG 2847
 GGGGTTCTAG AAAATATAGG TTCCTATAAT AAAATGGCAC CTTCCCCCTT TAAAAAAA 2907 40
 AAAAAA 2913

-

【0056】

配列番号：8

配列の長さ：3183

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA to mRNA

起源

生物名：ホモサピエンス

直接の起源

ライブラリー名：ヒト脳 c DNA ライブラリー

配列の特徴

特徴を表す記号：3' UTR

存在位置：2308..3183

特徴を決定した方法：E

10

特徴を表す記号：CDS

存在位置：1..2307

特徴を決定した方法：E

配列

ATG AGG CTG CTG CGG CGC TGG GCG TTC GCG GCT CTG CTG CTG TCG CTG	48
Met Arg Leu Leu Arg Arg Trp Ala Phe Ala Ala Leu Leu Ser Leu	
1 5 10 15	
CTC CCC ACG CCC GGT CTT GGG ACC CAA GGT ccT GCT GGA GCT CTG Cga	96
Leu Pro Thr Pro Gly Leu Gly Thr Gln Gly Pro Ala Gly Ala Leu Arg	
20 25 30	10
TGG GGG GGC TTA CCC CAG CTG GGA GGC CCA GGA GCC CCT GAG GTC ACG	144
Trp Gly Gly Leu Pro Gln Leu Gly Gly Pro Gly Ala Pro Glu Val Thr	
35 40 45	
GAA CCC AGC CGT CTG GTT AGG GAG AGC TCC GGG GGA GAG GTC CGA AAG	192
Glu Pro Ser Arg Leu Val Arg Glu Ser Ser Gly Gly Glu Val Arg Lys	
50 55 60	
CAG CAG CTG GAC ACA AGG GTC CGC CAG GAG CCA CCA GGG GGC CCG CCT	240
Gln Gln Leu Asp Thr Arg Val Arg Gln Glu Pro Pro Gly Gly Pro Pro	
65 70 75 80	20
GTC CAT CTG GCC CAG GTG AGT TTC GTC ATC CCA GCC TTC AAC TCA AAC	288
Val His Leu Ala Gln Val Ser Phe Val Ile Pro Ala Phe Asn Ser Asn	
85 90 95	
TTC ACC CTG GAC CTG GAG CTG AAC CAC CAC CTC CTC TCC TCG CAA TAC	336
Phe Thr Leu Asp Leu Glu Leu Asn His His Leu Leu Ser Ser Gln Tyr	
100 105 110	30
GTG GAG CGC CAC TTC AGC CGG GAG GGG ACA ACC CAG CAC AGC ACC GGG	384
Val Glu Arg His Phe Ser Arg Glu Gly Thr Thr Gln His Ser Thr Gly	
115 120 125	
GCT GGA GAC CAC TGC TAC TAC CAG GGG AAG CTC CGG GGG AAC CCG CAC	432
Ala Gly Asp His Cys Tyr Tyr Gln Gly Lys Leu Arg Gly Asn Pro His	
130 135 140	40
TCC TTC GCC GCC CTC TCC ACC TGC CAG GGG CTG CAT GGG GTC TTC TCT	480

Ser Phe Ala Ala Leu Ser Thr Cys Gln Gly Leu His Gly Val Phe Ser
 145 150 155 160
 GAT GGG AAC TTG ACT TAC ATC GTG GAG CCC CAA GAG GTG GCT GGA CCT 528
 Asp Gly Asn Leu Thr Tyr Ile Val Glu Pro Gln Glu Val Ala Gly Pro
 165 170 175
 TGG GGA GCC CCT CAG GGA CCC CTT CCC CAC CTC ATT TAC CGG ACC CCT 576
 Trp Gly Ala Pro Gln Gly Pro Leu Pro His Leu Ile Tyr Arg Thr Pro
 180 185 190
 CTC CTC CCA GAT CCC CTC GGA TGC AGG GAA CCA GGC TGC CTG TTT GCT 624
 Leu Leu Pro Asp Pro Leu Gly Cys Arg Glu Pro Gly Cys Leu Phe Ala
 195 200 205
 GTG CCT GCC CAG TCG GCT CCT CCA AAC CGG CCG AGG CTG AGA AGG AAA 672
 Val Pro Ala Gln Ser Ala Pro Pro Asn Arg Pro Arg Leu Arg Arg Lys
 210 215 220 20
 AGG CAG GTC CGC CGG GGC CAC CCT ACA GTG CAC AGT GAA ACC AAG TAT 720
 Arg Gln Val Arg Arg Gly His Pro Thr Val His Ser Glu Thr Lys Tyr
 225 230 235 240
 GTG GAG CTA ATT GTG ATC AAC GAC CAC CAG CTG TTC GAG CAG ATG CGA 768
 Val Glu Leu Ile Val Ile Asn Asp His Gln Leu Phe Glu Gln Met Arg
 245 250 255
 CAG TCG GTG GTC CTC ACC AGC AAC TTT GCC AAG TCC GTG GTG AAC CTG 816 30
 Gln Ser Val Val Leu Thr Ser Asn Phe Ala Lys Ser Val Val Asn Leu
 260 265 270
 GCC GAT GTG ATA TAC AAG GAG CAG CTC AAC ACT CGC ATC GTC CTG GTT 864
 Ala Asp Val Ile Tyr Lys Glu Gln Leu Asn Thr Arg Ile Val Leu Val
 275 280 285
 GCC ATG GAA ACA TGG GCA GAT GGG GAC AAG ATC CAG GTG CAG GAT GAC 912
 Ala Met Glu Thr Trp Ala Asp Gly Asp Lys Ile Gln Val Gln Asp Asp 40
 290 295 300

CTC	CTG	GAG	ACC	CTG	GCC	CGG	CTC	ATG	GTC	TAC	CGA	CGG	GAG	GGT	CTG	960
Leu	Leu	Glu	Thr	Leu	Ala	Arg	Leu	Met	Val	Tyr	Arg	Arg	Glu	Gly	Leu	
305		310					315							320		
CCT	GAG	CCC	AGT	AAT	GCC	ACC	CAC	CTC	TTC	TCG	GGC	AGG	ACC	TTC	CAG	1008
Pro	Glu	Pro	Ser	Asn	Ala	Thr	His	Leu	Phe	Ser	Gly	Arg	Thr	Phe	Gln	
		325					330							335		
AGC	ACG	AGC	AGC	GGG	GCA	GCC	TAC	GTG	GGG	GGC	ATA	TGC	TCC	CTG	TCC	1056
Ser	Thr	Ser	Ser	Gly	Ala	Ala	Tyr	Val	Gly	Gly	Ile	Cys	Ser	Leu	Ser	
		340					345							350		
CAT	GGC	GGG	GGT	GTG	AAC	GAG	TAC	GGC	AAC	ATG	GGG	GCG	ATG	GCC	GTG	1104
His	Gly	Gly	Gly	Val	Asn	Glu	Tyr	Gly	Asn	Met	Gly	Ala	Met	Ala	Val	
		355					360							365		
ACC	CTT	GCC	CAG	ACG	CTG	GGA	CAG	AAC	CTG	GGC	ATG	ATG	TGG	AAC	AAA	1152
Thr	Leu	Ala	Gln	Thr	Leu	Gly	Gln	Asn	Leu	Gly	Met	Met	Trp	Asn	Lys	
		370					375							380		
CAC	CGG	AGC	TCG	GCA	GGG	GAC	TGC	AAG	TGT	CCA	GAC	ATC	TGG	CTG	GGC	1200
His	Arg	Ser	Ser	Ala	Gly	Asp	Cys	Lys	Cys	Pro	Asp	Ile	Trp	Leu	Gly	
		385					390							395		400
TGC	ATC	ATG	GAG	GAC	ACT	GGG	TTC	TAC	CTG	CCC	CGC	AAG	TTC	TCT	CGC	1248
Cys	Ile	Met	Glu	Asp	Thr	Gly	Phe	Tyr	Leu	Pro	Arg	Lys	Phe	Ser	Arg	
		405					410							415		
TGC	AGC	ATC	GAC	GAG	TAC	AAC	CAG	TTT	CTG	CAG	GAG	GGT	GGT	GGC	AGC	1296
Cys	Ser	Ile	Asp	Glu	Tyr	Asn	Gln	Phe	Leu	Gln	Glu	Gly	Gly	Ser		
		420					425							430		
TGC	CTC	TTC	AAC	AAG	CCC	CTC	AAG	CTC	CTG	GAC	CCC	CCA	GAG	TGC	GGG	1344
Cys	Leu	Phe	Asn	Lys	Pro	Leu	Lys	Leu	Leu	Asp	Pro	Pro	Glu	Cys	Gly	
		435					440							445		
AAC	GGC	TTC	GTG	GAG	GCA	GGG	GAG	GAG	TGC	GAC	TGC	GGC	TCG	GTG	CAG	1392
Asn	Gly	Phe	Val	Glu	Ala	Gly	Glu	Glu	Cys	Asp	Cys	Gly	Ser	Val	Gln	

450	455	460	
GAG TGC AGC CGC GCA GGT GGC AAC TGC TGC AAG AAA TGC ACC CTG ACT			1440
Glu Cys Ser Arg Ala Gly Gly Asn Cys Cys Lys Lys Cys Thr Leu Thr			
465	470	475	480
CAC GAC GCC ATG TGC AGC GAC GGG CTC TGC TGT CGC CGC TGC AAG TAC			1488
His Asp Ala Met Cys Ser Asp Gly Leu Cys Cys Arg Arg Cys Lys Tyr			
485	490	495	10
GAA CCA CGG GGT GTG TCC TGC CGA GAG GCC GTG AAC GAG TGC GAC ATC			1536
Glu Pro Arg Gly Val Ser Cys Arg Glu Ala Val Asn Glu Cys Asp Ile			
500	505	510	
GCG GAG ACC TGC ACC GGG GAC TCT AGC CAG TGC CCG CCT AAC CTG CAC			1584
Ala Glu Thr Cys Thr Gly Asp Ser Ser Gln Cys Pro Pro Asn Leu His			
515	520	525	
AAG CTG GAC GGT TAC TAC TGT GAC CAT GAG CAG GGC CGC TGC TAC GGA			1632
Lys Leu Asp Gly Tyr Tyr Cys Asp His Glu Gln Gly Arg Cys Tyr Gly			
530	535	540	
GGT CGC TGC AAA ACC CGG GAC CGG CAG TGC CAG GTT CTT TGG GGC CAT			1680
Gly Arg Cys Lys Thr Arg Asp Arg Gln Cys Gln Val Leu Trp Gly His			
545	550	555	560
GCG GCT GCT GAT CGC TTC TGC TAC GAG AAG CTG AAT GTG GAG GGG ACG			1728
Ala Ala Ala Asp Arg Phe Cys Tyr Glu Lys Leu Asn Val Glu Gly Thr			
565	570	575	
GAG CGT GGG AGC TGT GGG CGC AAG GGA TCC GGC TGG GTC CAG TGC AGT			1776
Glu Arg Gly Ser Cys Gly Arg Lys Gly Ser Gly Trp Val Gln Cys Ser			
580	585	590	
AAG CAG GAC GTG CTG TGT GGC TTC CTC CTC TGT GTC AAC ATC TCT GGA			1824
Lys Gln Asp Val Leu Cys Gly Phe Leu Leu Cys Val Asn Ile Ser Gly			
595	600	605	40
GCT CCT CGG CTA GGG GAC CTG GTG GGA GAC ATC AGT AGT GTC ACC TTC			1872

Ala Pro Arg Leu Gly Asp Leu Val Gly Asp Ile Ser Ser Val Thr Phe
 610 615 620
 TAC CAC CAG GGC AAG GAG CTG GAC TGC AGG GGA GGC CAC GTG CAG CTG 1920
 Tyr His Gln Gly Lys Glu Leu Asp Cys Arg Gly Gly His Val Gln Leu
 625 630 635 640
 GCG GAC GGC TCT GAC CTG AGC TAT GTG GAG GAT GGC ACA GCC TGC GGG 1968
 Ala Asp Gly Ser Asp Leu Ser Tyr Val Glu Asp Gly Thr Ala Cys Gly
 645 650 655
 CCT AAC ATG TTG TGC CTG GAC CAT CGC TGC CTG CCA GCT TCT GCC TTC 2016
 Pro Asn Met Leu Cys Leu Asp His Arg Cys Leu Pro Ala Ser Ala Phe
 660 665 670
 AAC TTC AGC ACC TGC CCC GGC AGT GGG GAG CGC CGG ATT TGC TCC CAC 2064
 Asn Phe Ser Thr Cys Pro Gly Ser Gly Glu Arg Arg Ile Cys Ser His
 675 680 685 20
 CAC GGG GTC TGC AGC AAT GAA GGG AAG TGC ATC TGT CAG CCA GAC TGG 2112
 His Gly Val Cys Ser Asn Glu Gly Lys Cys Ile Cys Gln Pro Asp Trp
 690 695 700
 ACA GGC AAA GAC TGC AGT ATC CAT AAC CCC CTG CCC ACG TCC CCA CCC 2160
 Thr Gly Lys Asp Cys Ser Ile His Asn Pro Leu Pro Thr Ser Pro Pro
 705 710 715 720
 ACG GGG GAG ACG GAG AGA TAT AAA GGT CCC AGC GGC ACC AAC ATC ATC 2208 30
 Thr Gly Glu Thr Glu Arg Tyr Lys Gly Pro Ser Gly Thr Asn Ile Ile
 725 730 735
 ATT GGC TCC ATC GCT GGG GCT GTC CTG GTT GCA GCC ATC GTC CTG GGC 2256
 Ile Gly Ser Ile Ala Gly Ala Val Leu Val Ala Ala Ile Val Leu Gly
 740 745 750
 GGC ACG GGC TGG GGA TTT AAA AAC ATT CGC CGA GGA AGG TCC GGA GGG 2304
 Gly Thr Gly Trp Gly Phe Lys Asn Ile Arg Arg Gly Arg Ser Gly Gly 40
 755 760 765

GCC TAAGTGCAC CCTCCTCCCT CCAAGCCTGG CACCCACCGT CTCGGCCCTG	2357
Ala	
AACCACGAGG CTGCCCAT CCAGCCACGG AGGGAGGCAC CATGCAAATG TCTTCAGGT	2417
CCAAACCCCT CAACCTCTGG CTCCGCAGGG GTTTGGGTGG GGGCTGTGGC CCTGCCCTG	2477
GCACCACCAAG GGTGGACCAAG GCCTGGAGGG CACTCCTCC ACAGTCCCC ACCCACCTCC	2537
TGCGGCTCAG CCTTGACAC CCACTGCCCT GTGTGAATGT AGCTTCCACC TCATGGATTG	2597
CCACAGCTCA ACTCGGGGGC ACCTGGAGGG ATGCCCGAG GCAGCCACCA GTGGACCTAG	2657
CCTGGATGGC CCCTCCTGC AACCAGGCAG CTGAGACCAAG GGTCTTATCT CTCTGGGACC	2717
TAGGGGGACG GGGCTGACAT CTACATTTT TAAAATGAA TCTTAATCGA TGAATGTAAA	2777
CTCGGGGGTG CTGGGCCAG GGCAGATGTG GGGATGTTT GACATTACA GGAGGCCCCG	2837
GAGAAACTGA GGTATGGCCA TGCCCTAGAC CCTCCCCAAG GATGACCACA CCCGAAGTCC	2897
TGTCACTGAG CACAGTCAGG GGCTGGGCAT CCCAGCTTGC CCCCCTTAG CCCCCTGAG	2957
CTTGGAGGAA GTATGAGTGC TGATTCAAAC CAAAGCTGCC TGTGCCATGC CCAAGGCCTA	3017
GGTTATGGGT ACGGCAACCA CATGTCCCAG ATCGTCTCCA ATTCAAAAC AACCGTCCTG	3077
CTGTCCCTGT CAGGACACAT GGATTTGGC AGGGCGGGGG GGGGTTCTAG AAAATATAGG	3137
TCCTATAAT AAAATGGCAC CTTCCCCCTT TAAAAAAA AAAAAA	3183

•

【0057】

配列番号 : 9
 配列の長さ : 9278
 配列の型 : 核酸
 鎮の数 : 二本鎮
 トポロジー : 直鎖状
 配列の種類 : Genomic DNA
 起源
 生物名 : ホモサピエンス
 直接の起源
 ライブライナー名 : ヒトDNAコスミドライブライナー
 配列の特徴
 特徴を表す記号 : exon 1
 存在位置 : 28 . . 44
 特徴を決定した方法 : E
 特徴を表す記号 : exon 2
 存在位置 : 308 . . 374
 特徴を決定した方法 : E
 特徴を表す記号 : exon 3
 存在位置 : 909 . . 994
 特徴を決定した方法 : E
 特徴を表す記号 : exon 4
 存在位置 : 1081 . . 1156
 特徴を決定した方法 : E
 特徴を表す記号 : exon 5

10

20

30

40

50

存在位置：1 5 9 1 . . 1 6 5 7
 特徴を決定した方法：E
 特徴を表す記号：exon 6
 存在位置：1 7 2 5 . . 1 7 9 2
 特徴を決定した方法：E
 特徴を表す記号：exon 7
 存在位置：2 1 8 2 . . 2 2 5 6
 特徴を決定した方法：E
 特徴を表す記号：exon 8
 存在位置：2 3 3 9 . . 2 4 1 0 10
 特徴を決定した方法：E
 特徴を表す記号：exon 9
 存在位置：2 5 8 8 . . 2 7 5 4
 特徴を決定した方法：E
 特徴を表す記号：exon 10
 存在位置：3 2 4 8 . . 3 3 3 2
 特徴を決定した方法：E
 特徴を表す記号：exon 11
 存在位置：3 4 4 5 . . 3 5 3 5
 特徴を決定した方法：E 20
 特徴を表す記号：exon 12
 存在位置：3 6 4 5 . . 3 6 9 6
 特徴を決定した方法：E
 特徴を表す記号：exon 13
 存在位置：4 0 1 4 . . 4 1 1 3
 特徴を決定した方法：E
 特徴を表す記号：exon 14
 存在位置：4 1 9 6 . . 4 2 6 7
 特徴を決定した方法：E
 特徴を表す記号：exon 15 30
 存在位置：4 3 8 6 . . 4 4 7 8
 特徴を決定した方法：E
 特徴を表す記号：exon 16
 存在位置：4 9 2 0 . . 5 0 0 0
 特徴を決定した方法：E
 特徴を表す記号：exon 17
 存在位置：5 3 4 7 . . 5 3 9 7
 特徴を決定した方法：E
 特徴を表す記号：exon 18
 存在位置：5 5 0 1 . . 5 5 6 4 40
 特徴を決定した方法：E
 特徴を表す記号：exon 19
 存在位置：5 7 6 7 . . 5 8 6 6
 特徴を決定した方法：E
 特徴を表す記号：exon 20
 存在位置：6 0 7 3 . . 6 2 0 2
 特徴を決定した方法：E
 特徴を表す記号：exon 21
 存在位置：6 3 0 0 . . 6 4 6 8
 特徴を決定した方法：E 50

特徴を表す記号 : exon 22

存在位置 : 6 5 5 7 . . 6 6 7 1

特徴を決定した方法 : E

特徴を表す記号 : exon 23

存在位置 : 6 7 5 6 . . 6 8 4 6

特徴を決定した方法 : E

特徴を表す記号 : exon 24

存在位置 : 7 8 2 9 . . 7 8 4 6

特徴を決定した方法 : E

特徴を表す記号 : exon 25

存在位置 : 8 1 6 5 . . 9 0 3 8

特徴を決定した方法 : E

配列

GCGTTTACTG GCAAACCGCA TTTGTAA	ATG TGC TGG CTG AGC CA NNNNNNNNNN	54
	Met Cys Trp Leu Ser His	
1	5	
NNNNCCAGGT GAGTTTCGTC ATCCAGCCTT CAACTCAAAC TTCACCCCTGG ACCTGGAGCT	114	
GAACCAAGTGA GNNTGGCCTT GAGCCAAGA GGAAGGGCAG TGGTGGNNNG GGGGAGACAT	174	
GGCTAGGGCC TGGCTGCTGG GGGTCTGGGG GTTGGGCCTG GCGAGAGGGG ACCTGGGTCC	234	10
TGACCTGAGG CGAGCCTAAA GCCCGACCTC ACCTCGCCCG TGACCCCCCT TCCTGCTGCC	294	
CCCTCTGTCT CAG C CAA CTC CTC TCC TCG CAA TAC GTG GAG CGC CAC TTC	344	
Gln Leu Leu Ser Ser Gln Tyr Val Glu Arg His Phe		
10	15	
AGC CGG GAG GGG ACA ACC CAG CAC AGC ACC GTGAGTGCCA CTGCTGGGA	394	
Ser Arg Glu Gly Thr Thr Gln His Ser Thr		
20	25	20
CCGGGGCCGG GGATGGAAGG GAGGTGCTGT TTCTGTGGTT CTGTGGTCAC AGGTGTAGGG	454	
ACAGGTGGCC ACTGGAGATG GGGTCCTGGG CCTGGCCCT CAGCACCTTC CCTCTCTCCC	514	
GACCCAGGAG GCTCTGAGGG TGGACAGTGG GCAGCTTAGT GCATAGGGCC CTGAAGTCCC	574	
CTCACTTGGC CCCAGAGCTC TGACCCCCAG CCAGCCCACG TGGGGCCTAC AGGGACACTC	634	
GTTCCGAGCA GGCTGCCAGG ATCCNNNNNN NNNNNNATAG ATGACGTGAA GGAGGCCCCAG	694	
AGTTCCCTAA CCCCAGAGGG CTAGGAACCT GCCCAGGGTG GCACGGCAA TTAGGAGCAC	754	
CAGCCATCTA GAAACAGGCT CCAGAGCCCC AGGNATAACCC AGGGATNGTG GCCACCTGCA	814	30
CACAGGGCAG CTTCACTGTC CCCCCAAAAG CCTTGAGGCC CATTGGCTGC CCCCCGGCCTC	874	
ATGCCAGCGT TCTGCTCACT GTTCTGCTCC TTAG GGG GCT GGA GAC CAC TGC TAC	929	
Gly Ala Gly Asp His Cys Tyr		
30	35	
TAC CAG GGG AAG CTC CGG GGG AAC CCG CAC TCC TTC GCC GCC CTC TCC	977	
Tyr Gln Gly Lys Leu Arg Gly Asn Pro His Ser Phe Ala Ala Leu Ser		
40	45	40
ACC TGC CAG GGG CTG CA GTGAGTATGG GGAGGGGCCG GGCAGCTGGG	1024	

Thr Cys Gln Gly Leu His

55

AGAAGCCTCT GGCCCAGGCC TGGGGACGGA GGGGAGCTGC GCCTCTCTCT CCACAG T 1081

GGG GTC TTC TCT GAT GGG AAC TTG ACT TAC ATC GTG GAG CCC CAA GAG 1129

Gly Val Phe Ser Asp Gly Asn Leu Thr Tyr Ile Val Glu Pro Gln Glu

60

65

70

GTG GCT GGA CCT TGG GGA GCC CCT CAG GTAAGCCCCA ACAACCCCT 1176

Val Ala Gly Pro Trp Gly Ala Pro Gln

75

80

TGCCATCCTC TCTGGTGGCC CTGCCAAGCT TGTCCAACA GCTGTTGCTG CCACCTCTC 1236

CTCCTCCGGC TCCTCCCTCA GTAACCCCAG CCTCACTGCC CTCTTCAGTG ACCCCAGCTC 1396

TGGTTCCCTC CCTCCTGTGC CCCAGCTCCC CCTGTGCCCC CAGCTCCAAT GTCCCATCTG 1356

TCCCATAAGT GACCTCCCAT TGGGCTCCAA TGTCTTTGC CCCTGTCTCT CAGGGTGCCC 1416

CCAGGTCTTG ACCCCCGAAT CTGAGCATCT GGGAGATCAG ATCCGACATG GGAGCTGTGG 1476

CCAGTTCTGG GTCACCCCAG GGTGGGGTGG AGGCGAGGGC TGGATCTGGC CCCCGCCAAG 1536

TGGCCTGGAG CAGGCCAGT TGGCACCCCA AGAACTAATT TCCCCTCATT GCAG GGA 1593

Gly

CCC CTT CCC CAC CTC ATT TAC CGG ACC CCT CTC CTC CCA GAT CCC CTC 1641

Pro Leu Pro His Leu Ile Tyr Arg Thr Pro Leu Leu Pro Asp Pro Leu

85

90

95

GGA TGC AGG GAA CCA G GTAAGGGAGG GGAGGGGGGG TGAGGGAGGGG CCNGGCTGTG 1697

Gly Cys Arg Glu Pro Gly

100

CCCCCCTCAC CTGCCCTCC CCGACAG GC TGC CTG TTT GCT GTG CCT GCC CAG 1750

Cys Leu Phe Ala Val Pro Ala Gln

105

110

TCG GCT CCT CCA AAC CGG CCG AGG CTG AGA AGG AAA AGG CAG

1792

Ser Ala Pro Pro Asn Arg Pro Arg Leu Arg Arg Lys Arg Gln

115

120

125

10

20

30

40

GTACGGGGGC CCGCACAGAC CTCGGGCTGC AGAGACCTCG GGCTGCAGAG AGACCTCGC	1852		
CGTGGCCCAG AGCAGGAGGG CACCCATC TATGGCTGGG GCGAAGGAAG GCTCAGATGG	1912		
ATGTGGCTGG GGGCCAGGG ACGTGTCTGG GAGAAGCCCC CACCCCTTCC CTAATGCTGG	1972		
CATCTACAGA GGCCCCATCC TGGGCAAACC GAGGCTGCCT GCCCTCATTC CAAAGCTGAG	2032		
GAAGGACAGG ACCCTCTGCC ACTGGGGAGC TGGCACTGTC CCTGGCTGGA GTCCAGACCC	2092		
CCCCATCCCC ACCGAGTCTG TTCCTGGCTT GGCCATGAGA TCAGTCAGAC ATGGAAGGGA	2152		
CTGATTCCAA GTGCCAACCC ACCCCCCAG GTC CGC CGG GGC CAC CCT ACA GTG	2205	10	
	Val Arg Arg Gly His Pro Thr Val		
	130	135	
CAC AGT GAA ACC AAG TAT GTG GAG CTA ATT GTG ATC AAC GAC CAC CAG	2253		
His Ser Glu Thr Lys Tyr Val Glu Leu Ile Val Ile Asn Asp His Gln			
140	145	150	
CTG GTGAGTGCCA GGGCAGGGAC AGGGCGTGAC ACTGGGAGGC CCCTGAGGAG	2306		
Leu			20
CCTGGCCCTC CTCCCATTCT TCTCTCTCCC AG TTC GAG CAG ATG CGA CAG TCG	2359		
	Phe Glu Gln Met Arg Gln Ser		
	155		
GTG GTC CTC ACC AGC AAC TTT GCC AAG TCC GTG GTG AAC CTG GCC GAT	2407		
Val Val Leu Thr Ser Asn Phe Ala Lys Ser Val Val Asn Leu Ala Asp			
160	165	170	175
GTG GTAAGCAGCT CTCCCTCCCT CCCTCCCTC CTCCCTCATGC CCCCCCACCC	2460	30	
Val			
CACCAACACAC ATTAGGGGGC ACTGTAGGCC CCTGGCTCCC ACTTCCTGGA GAGAACAGAC	2520		
AGGCCCTCCT CCAGCCCTGG CCCAACACC CACTCCCACC CTCCAGCCCC CCTCATCTTC	2580		
TCCCCAG ATA TAC AAG GAG CAG CTC AAC ACT CGC ATC GTC CTG GTT GCC	2629		
	Ile Tyr Lys Glu Gln Leu Asn Thr Arg Ile Val Leu Val Ala		
	180	185	190
ATG GAA ACA TGG GCA GAT GGG GAC AAG ATC CAG GTG CAG GAT GAC CTC	2677	40	
Met Glu Thr Trp Ala Asp Gly Asp Lys Ile Gln Val Gln Asp Asp Leu			

195	200	205	
CTG GAG ACC CTG GCC CGG CTC ATG GTC TAC CGA CGG GAG GGT CTG CCT			2725
Leu Glu Thr Leu Ala Arg Leu Met Val Tyr Arg Arg Glu Gly Leu Pro			
210	215	220	
GAG CCC AGT AAT GCC ACC CAC CTC TTC TC	GTGAGTCCCC	CACCCTGCAC	2774
Glu Pro Ser Asn Ala Thr His Leu Phe Ser			
225	230		10
CTCCCTGCCAG CCTCTGCTAG TTGCTACAGT GCTTGGGATT ACTTAACACC TGCCCTGTGC			2834
TGGCTGCTCC TCTCAGAGTC TGGGGACTGG GCTCACCTTG CACCTGCCAC CTACCCCCAG			2894
CCACATGCAA CAGCTGGCA TCATCCCCTG AATCTGAGGT TGATGCCCT GTCTTAGCCC			2954
TGGTGGTCCT CTTCTGCCTC TCACCTCCCC TTAGTTCTGT CTTTCCCTTC AACTGTCCCN			3014
NNNNNNNNN NAGAGTGAAA CTCTGTCTCA AAAGAAAAAN AAAANAAAAG AAGAAAAAAA			3074
AGAACCCAAG GAGCGGGGGA AGGGTCTTGC CTGGGGTCAC CAAGGCTGAT GTAAAGGGCC			3134
AGGCTCACCT CCTGAGGAAG GACTCTAGTG TGAGGGGCTC CCCAAGGCC CACCACCAAC			3194
CGGGGAGCCA CAGGGGAGGG CAGAAGCCAT CCTGACAGCG CACTCCCTTC CAG G GGC			3251
		Gly	
AGG ACC TTC CAG AGC ACG AGC AGC GGG GCA GCC TAC GTG GGG GGC ATA			3299
Arg Thr Phe Gln Ser Thr Ser Ser Gly Ala Ala Tyr Val Gly Gly Ile			
235	240	245	
TGC TCC CTG TCC CAT GGC GGG GGT GTG AAC GAG GTGAGCAGTG			3342
Cys Ser Leu Ser His Gly Gly Val Asn Glu			
250	255	260	30
GGGGGACATG GCTGGGTGG CGGCTGAGGG AAAGGGGCTT AGGGGCACGA CGTGCCTGNT			3402
TGGAAGATGT AGACATCTGT GCCCATCTT CCCCCACCCCC AG TAC GGC AAC ATG			3456
		Tyr Gly Asn Met	
GGG GCG ATG GCC GTG ACC CTT GCC CAG ACG CTG GGA CAG AAC CTG GGC			3504
Gly Ala Met Ala Val Thr Leu Ala Gln Thr Leu Gly Gln Asn Leu Gly			
265	270	275	40
ATG ATG TGG AAC AAA CAC CGG AGC TCG GCA G GTATCCTCCC CCAGAGGCC			3555

Met Met Trp Asn Lys His Arg Ser Ser Ala Gly
 285 290
 CCGTGTGGCC CAGCAGCTCT GGAACGGGAG GGTGACAGTG GGAGGGTGG TCCTTGGCCT 3615
 CCCTCATATC CGCCTGGCTC ACCCCTCAG GG GAC TGC AAG TGT CCA GAC ATC 3667
 Asp Cys Lys Cys Pro Asp Ile
 295
 TGG CTG GGC TGC ATC ATG GAG GAC ACT GG GTGAGTTCTT GGGGACAACC 3716 10
 Trp Leu Gly Cys Ile Met Glu Asp Thr Gly
 300 305
 GGGGAAAGGT CTTGGCGAG GGGAGTCTTA GAGCGAGCAT TGTGAGTCAG TCTGGACCAG 3776
 GGGNNNNNNN NNNNNGAACA CACCTTCCT TCCAGGCCGG CTTGCGAGTC CCAGGTTCAA 3836
 GCGAGGGATG GGAGCGACAA GGGACAAGGC GGAGGATTCT GGTGCAATCC CGGGGCAGAT 3896
 CCTCCGCCTC CTCGCGATGG TGACGAAGTC CCCAGTGTA CCCCCCTCCCC AGCCTTGAGA 3956
 GGGGTGAGGG TGGGTGGAG GGGAGCAGCC AGCAGCACCT CCCCCTGCCCT TATCCAG G 4014 20
 TTC TAC CTG CCC CGC AAG TTC TCT CGC TGC AGC ATC GAC GAG TAC AAC 4062
 Phe Tyr Leu Pro Arg Lys Phe Ser Arg Cys Ser Ile Asp Glu Tyr Asn
 310 315 320
 CAG TTT CTG CAG GAG GGT GGT GGC AGC TGC CTC TTC AAC AAG CCC CTC 4110
 Gln Phe Leu Gln Glu Gly Gly Ser Cys Leu Phe Asn Lys Pro Leu
 325 330 335 340
 AAG GTACCAGCCC CGCGGGGGGG AGCATGGGAG CGGGCCCTGG GCGGGGTCCG 4163 30
 Lys
 GCCCAGACTC CCGACCTGTC CTCCCGGTCC AG CTC CTG GAC CCC CCA GAG TGC 4216
 Leu Leu Asp Pro Pro Glu Cys
 345
 GGG AAC GGC TTC GTG GAG GCA GGG GAG GAG TGC GAC TGC GGC TCG GTG 4264
 Gly Asn Gly Phe Val Glu Ala Gly Glu Glu Cys Asp Cys Gly Ser Val
 350 355 360 40
 CAG GTGAGCGGTG GTGCGGGCGC CAGGTGGGGA ACCGGGATGC GGGGGTGGC 4317

Gln

365

ACCAGGGAGC GTCTGAGTGG GAGGATTAGG GCTCGCCCGC CTCCCTCCCC TCCTCCCGCG 4377
 TCCCTCAG GAG TGC AGC CGC GCA GGT GGC AAC TGC TGC AAG AAA TGC ACC 4427

Glu Cys Ser Arg Ala Gly Gly Asn Cys Cys Lys Lys Cys Thr

370 375

CTG ACT CAC GAC GCC ATG TGC AGC GAC GGG CTC TGC TGT CGC CGC TGC 4475

Leu Thr His Asp Ala Met Cys Ser Asp Gly Leu Cys Cys Arg Arg Cys

380 385 390 395

AAG GTAAGCAGGA CCGGCCGGGA GGCGGGGCCA GGACGCAGGA GGAGCGATTG 4528

Lys

GAGGCCTTCA TATAAGGGGT GGGAGCTAGG GAGGGAAGCG GAGCCTTCGG GGACGAAGGC 4588

CTCTGGGGCA GGGCTTGATG CGAACAGACG GCCAATGGGA GCAAGGGCGG GCTGAAGGAT 4648

GTGAAAGGCN NNNNNNNNNN NNNCGGACGG GAAGCTCCCA GAATCAAGGA GGGCGGGAAAG 4708

GTGGGCGGGC TTGGGGCGGT GCTGAGTGCCT CTGGGAGCGA GGTGGGGAGC GTTCAAGAGG 4768

TGGTGGGAGC AGGGAAATAA GAACAGGCCT AAACGGGGCC CTGGGGAGCT GGAGGGCCCG 4828

GGGATGTGGG GGTCCAGAGA GCGGGGGGCC TGGGGAGGGC AGGGCCGAGG CATCCATCCT 4888

GCCTGACTCG AGGAGCGCGT CTCTTCCCTA G TAC GAA CCA CGG GGT GTG TCC 4940

Tyr Glu Pro Arg Gly Val Ser

400

TGC CGA GAG GCC GTG AAC GAG TGC GAC ATC GCG GAG ACC TGC ACC GGG 4988

Cys Arg Glu Ala Val Asn Glu Cys Asp Ile Ala Glu Thr Cys Thr Gly

405 410 415

GAC TCT AGC CAG GTCCGCCCGG CCCCGCCGTC TTGTGGAGCC CTGGGCGAGG 5040

Asp Ser Ser Gln

420

CAACCCCTAC CCTTGTGAT TTGGTTTCC CGGACGAGTG CTCAGCACTC CCCTCCTCTC 5100

CACAGCTGGC ATCGACCTTC ACTGATCAGA CTGTTTCTT ATCTGAGAAA GGGGTTCTTC 5160

ATGCTCCTGG CCTTGTTCCT TCAATCATTA AACCGAGAATG TATCGTCTGG CTGGTATCCC 5220

10

20

30

40

AGCGCCTGGG CCCGGTGNNN NNNNNNNNTA CCCAGATTCC TCCTGGCAG CCCTCAGCTC	5280		
CAGTCCTGGG CAGCCCTCAG CCCAGTCCTG GGACTGCTCC GCTCAACCCC ACCCCTCTCT	5340		
CCACAG TGC CCG CCT AAC CTG CAC AAG CTG GAC GGT TAC TAC TGT GAC	5388		
Cys Pro Pro Asn Leu His Lys Leu Asp Gly Tyr Tyr Cys Asp			
425	430	435	
CAT GAG CAG GTATGATGGC TGCCCCCTGA GCCTGGGATT CAGGGCAGTC	5437		
His Glu Gln		10	
440			
TCTTATCTCC ACTCTGACCA CTCAGCATCT CCATCCCTTG CCTCTTAATT CTTGGACTCT	5497		
CAG GGC CGC TGC TAC GGA GGT CGC TGC AAA ACC CGG GAC CGG CAG TGC	5545		
Gly Arg Cys Tyr Gly Arg Cys Lys Thr Arg Asp Arg Gln Cys			
445	450	455	
CAG GTT CTT TGG GGC CAT G GTGAGTCTGC TAGGGCTGGA GTGGGACTCC	5594		
Gln Val Leu Trp Gly His Ala		20	
460			
GGAGGAGCCC AGAGCTGAGA AGCTGGGGAG AGTGGGTTCC AGCTGAACAG GCCCCCAAGT	5654		
GTGTAGCTCC CCAGGATCTC AGGGAGCCA GGCAGAGTGT GGGAGATGCA GGCCTGAGGT	5714		
CTTGGGGTGG GTCCTGGGGC ACGTGGGTC ACTTGGCATC CTCTCCCCAC AG CG GCT	5771		
Ala			
GCT GAT CGC TTC TGC TAC GAG AAG CTG AAT GTG GAG GGG ACG GAG CGT	5819		
Ala Asp Arg Phe Cys Tyr Glu Lys Leu Asn Val Glu Gly Thr Glu Arg		30	
465	470	475	
GGG AGC TGT GGG CGC AAG GGA TCC GGC TGG GTC CAG TGC AGT AAG CA	5866		
Gly Ser Cys Gly Arg Lys Gly Ser Gly Trp Val Gln Cys Ser Lys Gln			
480	485	490	495
GTGAGTACTG AGGCTCCCAG AGGGCCTCTC AGCTCCAGGG CAGGTGTGAG ACTTTCAAGA	5926		
GATGGGGTAG TAGGTTCTCC CAGGAGGAGC CTGTCAGTCC CAATGGCGG GCACGTGGCA	5986		
AATGAGGTGG CAGGGTGCAG GGTGAGGGCA GATTAGAGTT CAGTAGTTGA GTCTGAGGTC	6046		
AAACTTGGGG CTCACTGTCT CTATAT G CCC CAA CAG GGA CGT GCT GTG TGG	6097		
		40	

GGGCAGGGGC CACCCAAGCC AGGCATGTGT CCTCCAGTCT CCAGTTCCA CCAGCCTATA 7520
 CTCCCTTGTC CGTGTCTAAG TTTGGGTCC TTGTGCTGG TCTTACCCCC CTTAATGTGC 7580
 AGAGGGAGGA ACCCACGGCC CAAGGTACA TGATTGAGTT AGTAGCAGAG TCAGAGCTGG 7640
 AACCGGGACG CATTGGTGTG GGTGCCCTGG GTAATTCTCC CTGGCCCTTA CATTAGTGTG 7700
 CAGGCCCGG GGACCCCGGC CCCGCTCTGG GGCAAGGGT CGCATGGCAG CCAAAGGCC 7760
 CTCCCTGAGA GAAGCAAAAG GTCAGATGTC TCCTTTCTC CTCCCCTTCC ACCATCCTCC 7820
 CCCTGCAGAA ACATTGCG AGGAAGGTAC GACCCGACCC AGCTGGGGC AGTGTGATGC 7880 10
 CGGCCACGTC ATCCCTCCCG CTGTCCCTGT CTCCTCCATC TCATTCGTCA CCCGCGTTCT 7940
 GTTGATGGGG TGCGGGGCCG ATCCCACCT GCCTGCCNNN NNNNNNNNNN ATCTGTTTG 8000
 TCTTCCATAT CACCACTGTC TGACCTCCCG CAGATCCCTT CCCTGGCCAG CCTGTGACTT 8060
 GCCGCCTGCC TCCAGGGCCC AGAACTGAGC TCCGGGGCCC TGCTGGGGG CTCTCCCCGA 8120
 GGCCTCTGCT CACGTCCCTCC CCTGATGCC CCTCTCCGTT CCAGGTCCGG AGGGGCCTAA 8180
 GTGCCACCCCT CCTCCCTCCA AGCCTGGCAC CCACCGTCTC GGCCCTGAAC CACGAGGCTG 8240
 CCCCCATCCA GCCACGGAGG GAGGCACCAT GCAAATGTCT TCCAGGTCCA AACCCCTCAA 8300 20
 CTCCCTGGCTC CGCAGGGGTT TGGGTGGGGG CTGTGGCCCT GCCCTTGGCA CCACCAGGGT 8360
 GGACCAAGGCC TGGAGGGCAC TTCCCTCCACA GTCCCCCACC CACCTCCTGC GGCTCAGCCT 8420
 TGCACACCCCA CTGCCCGTG TGAATGTAGC TTCCACCTCA TGGATTGCCA CAGCTCAACT 8480
 CGGGGGCACC TGGAGGGATG CCCCCAGGCA GCCACCAAGTG GACCTAGCCT GGATGGCCCC 8540
 TCCTTGCAAC CAGGCAGCTG AGACCAGGGT CTTATCTCTC TGGGACCTAG GGGGACGGGG 8600
 CTGACATCTA CATTTTTAA AACTGAATCT TAATCGATGA ATGTAAACTC GGGGGTGCTG 8660
 GGGCCAGGGC AGATGTGGGG ATGTTTGAC ATTACAGGA GGCCCCGGAG AAACGTGAGGT 8720 30
 ATGGCCATGC CCTAGACCCCT CCCCCAAGGAT GACCACACCC GAAGTCCTGT CACTGAGCAC 8780
 AGTCAGGGGC TGGGCATCCC AGCTTGCCCC CGCTTAGCCC CGCTGAGCTT GGAGGAAGTA 8840
 TGAGTGCTGA TTCAAACCAA AGCTGCCTGT GCCATGCCA AGGCCTAGGT TATGGGTACG 8900
 GCAACCACAT GTCCCAGATC GTCTCCAATT CGAAAACAAC CGTCCTGCTG TCCCTGTCAG 8960
 GACACATGGA TTTTGGCAGG GCGGGGGGGG GTTCTAGAAA ATATAGGTTCTATAATAAA 9020
 ATGGCACCTT CCCCCCTTNN NNNNNNNNNN NNNNGGATAC CTCTGAATAT GGGTATCTGG 9080
 GGCTGGATAT GGGTGGGACA TGAGACTTCC TGTGACCAGC CACCCCTGGCT CCCAGCTCTC 9140 40
 TGTATCCTCC TGCCCCGCC TGGGGGGTGC CTACCCCTGGN AGAACCCAGG GAGGAGTGG 9200
 GGCTGCCTCT GCCTGGGCCT CCACACAGCA TCCTGACATA CGCCACCTGG GGTGGGGGTG 9260
 GGGAGGCAGG GCCAGGAG 9278

【図面の簡単な説明】

【図1】342個のコスミド・クローンの第17番染色体上の位置を示した図である。クローン名はクローン番号のみで示してある。

【図2】卵巣癌における第17番染色体長腕の部分的欠失を示した図である。黒丸はヘテロ接合性の消失(LOH)、白丸は保持を表している。2カ所の共通欠失領域は傍線で示した。

【図3】乳癌における第17番染色体長腕の部分的欠失を示した図である。黒丸はヘテロ接合性の消失(LOH)、白丸は保持を表している。2カ所の共通欠失領域は傍線で示した。

【図4】第17番染色体長腕21.3領域に位置づけられたマーカーから該遺伝子の単離に至る過程、および乳癌組織で遺伝子再構成の起きている箇所(斜線の矩形)を示した図である。クローニ名はクローニ番号のみで示してある。

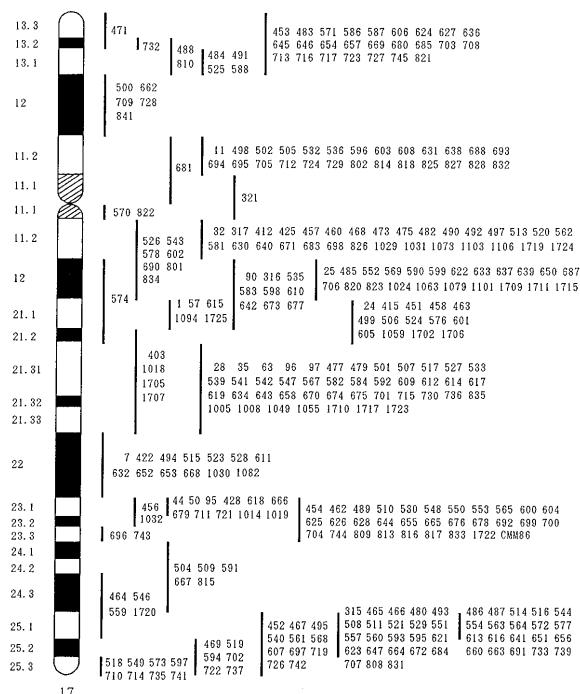
【図5】乳癌における遺伝子再構成のサザンプロットによる検出を示した図であり、Nは正常組織のDNA、Tは癌組織DNAを示す。 10

【図6】乳癌における遺伝子再構成のサザンプロットによる検出を示した図であり、Nは正常組織のDNA、Tは癌組織DNAを示す。

【図7】乳癌における遺伝子再構成のサザンプロットによる検出を示した図であり、Nは正常組織のDNA、Tは癌組織DNAを示す。

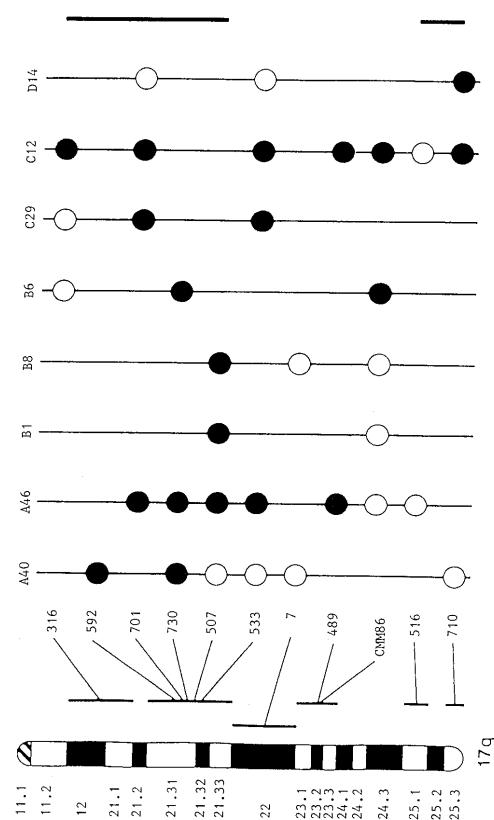
【図8】モノクローナル抗体およびウサギポリクローナル抗体でのELISA法によるMDA蛋白質の濃度測定検量線の図である。

【図1】

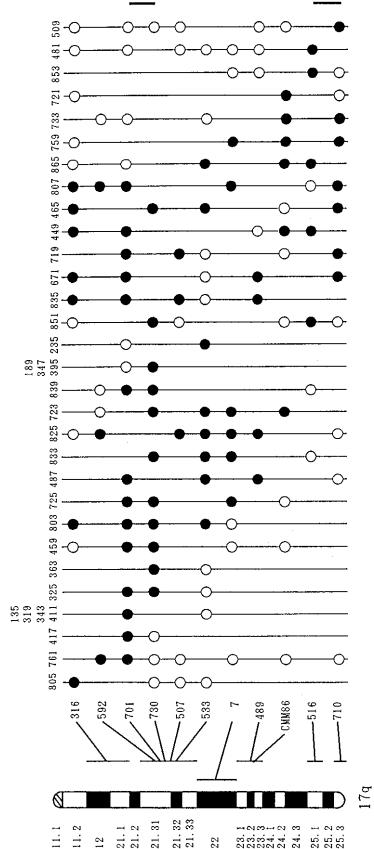


17

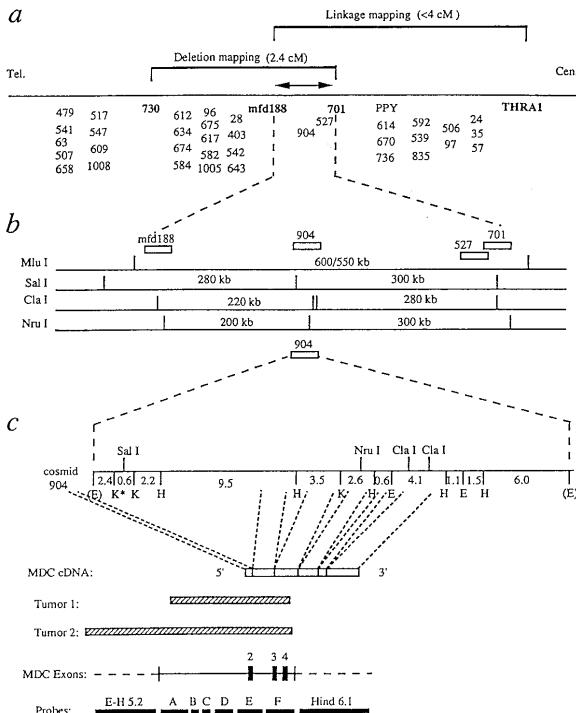
【図2】



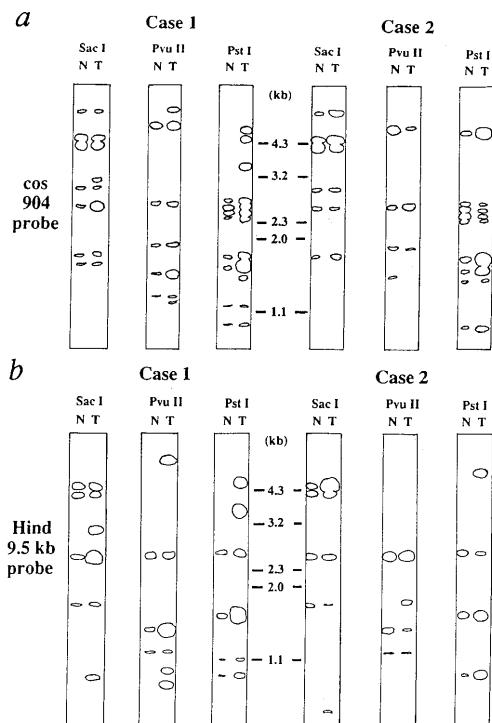
【図3】



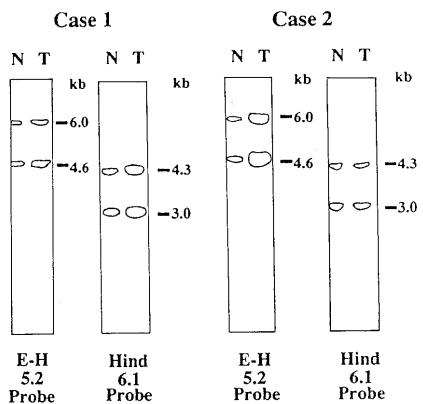
【図4】



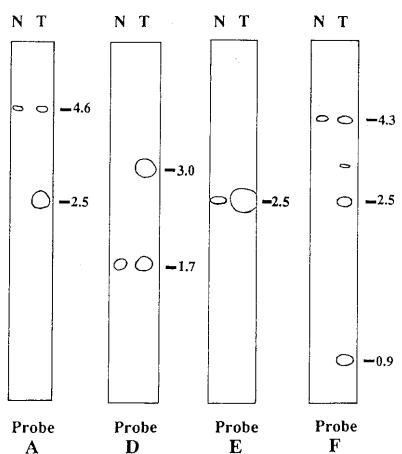
【図5】



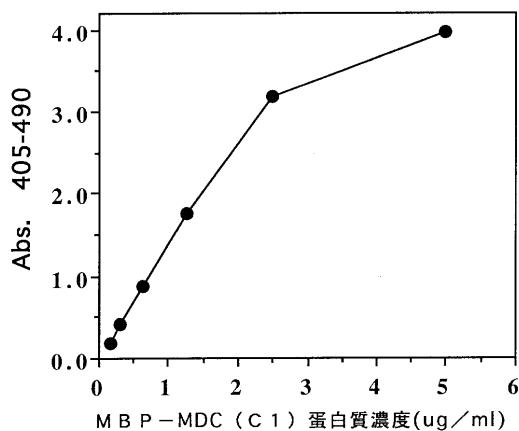
【図6】



【図7】



【図8】



フロントページの続き

(51) Int.Cl.⁷ F I
C 1 2 P 21/08 C 1 2 Q 1/68 A
C 1 2 Q 1/68 C 1 2 N 15/00 Z N A A

(31) 優先権主張番号 特願平6-73328

(32) 優先日 平成6年4月12日(1994.4.12)

(33) 優先権主張国 日本国(JP)

前置審査

(72) 発明者 江見 充
東京都北区滝野川6 - 1 - 11 - 106

審査官 深草 亜子

(56) 参考文献 J.Biol.Chem. , 1990年, Vol.265 , p.16068-16073
Nature Genet. , 1993年10月 , Vol.5 , p.151-157

(58) 調査した分野(Int.Cl.⁷, DB名)

C12N 15/09
GenBank/EMBL/DDBJ/PIR/Swissprot/GeneSeq