

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) Int. Cl.⁷
C07K 14/705

(11) 공개번호 특2001-0031120
(43) 공개일자 2001년04월16일

(21) 출원번호	10-2000-7004011	(87) 국제공개번호	WO 1999/19354
(22) 출원일자	2000년04월14일	(87) 국제공개일자	1999년04월22일
번역문제출일자	2000년04월14일		
(86) 국제출원번호	PCT/SE 1998/01548		
(86) 국제출원출원일자	1998년08월31일		
(81) 지정국	AP ARIPO특허 : 케냐 레소토 말라위 수단 스와질랜드 우간다 가나 감비아 짐바브웨 EA 유라시아특허 : 아르메니아 아제르바이잔 벨라루스 키르기즈 카자 흐스탄 몰도바 러시아 타지키스탄 투르크메니스탄 EP 유럽특허 : 오스트리아 벨기에 스위스 독일 덴마크 스페인 프랑 스 영국 그리스 아일랜드 이탈리아 룩셈부르크 모나코 네덜란드 포 르투갈 스웨덴 핀란드 사이프러스 OA OAPI특허 : 부르키나파소 베냉 중앙아프리카 콩고 코트디부와르 카메룬 가봉 기네 말리 모리타니 니제르 세네갈 차드 토고 기네비 쓰 국내특허 : 알바니아 아르메니아 오스트리아 오스트레일리아 아제르바 이잔 보스니아-헤르체고비나 바베이도스 불가리아 브라질 벨라루스 캐나다 스위스 중국 쿠바 체코 독일 덴마크 에스토니아 스페인 핀 란드 영국 그루지야 헝가리 이스라엘 아이슬란드 일본 케냐 키르기 즈 북한 대한민국 카자흐스탄 세인트루시아 스리랑카 라이베리아 레 소토 리투아니아 룩셈부르크 라트비아 몰도바 마다가스카르 마케도니 아 몽고 말라위 멕시코 노르웨이 뉴질랜드 슬로베니아 슬로바키아 타지키스탄 투르크메니스탄 터어키 트리니다드토바고 우크라이나 우간 다 미국 우즈베키스탄 베트남 폴란드 포르투갈 루마니아 러시아 수 단 스웨덴 싱가포르 인도네시아 가나 감비아 시에라리온 크로아티아 유고슬라비아 짐바브웨		
(30) 우선권주장	9703745-1 1997년10월14일 스웨덴(SE) 9801148-9 1998년03월31일 스웨덴(SE)		
(71) 출원인	파마시아 앤드 업존 에이비 크리스터 발스트룀, 프레드릭 베르그, 하랄 트 알름		
(72) 발명자	스웨덴 에스-112 87 스톡홀름 린드하겐스가탄 13 베르켄스탐안데르스 스웨덴에스-11733스톡홀름렐홀름스가탄11 달베르그마츠 스웨덴에스-11287스톡홀름상트괴란스가탄64		
(74) 대리인	김창세, 장성구		

심사청구 : 없음

(54) 신규한 비타민 D 수용체 연관된 폴리펩티드, 이를인코딩하는 핵산 서열 및 이의 용도

요약

본 발명은 신규한 비타민 D 수용체 연관된(VDRR) 폴리펩티드, 및 이를 함유하는 조성물에 관한 것이다. VDRR을 인코딩하는 핵산 서열, 이런 서열을 함유하는 발현 벡터 및 이런 발현 벡터로 형질전환되는 숙주 세포, 또한 본 발명의 VDRR 폴리펩티드를 발현시키는 방법이 또한 개시되어 있다. 본 발명은 또한 약제로서의 VDRR 폴리펩티드의 용도, 및 대사성, 증식성 또는 염증성 증상의 치료를 위한 약제의 제조를 위한 VDRR 신호 전달에 영향을 주는 물질의 용도에 관한 것이다. 본 발명은 또한 VDRR 폴리펩티드를 인코딩하는 클론을 확인하는 방법, VDRR에 대한 리간드를 확인하는 방법 및 VDRR 폴리펩티드에 의해 영향을 받는 증상의 치료를 위한 물질을 확인하기 위한 방법에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 신규한 VDRR 폴리펩티드는 핵 수용체에 대해 공지된 리간드와 구조적으로 유사한 임의의 작은 화학 분자에 의해 조절될 수 있는 VDRR γ 폴리펩티드일 수 있다.

대표도

도1

명세서

기술분야

본 발명은 신규한 비타민 D 수용체 연관된(VDRR) 폴리펩티드에 관한 것이다. 이를 인코딩하는 핵산 서열, 이런 서열들을 함유하는 발현 벡터 및 이런 발현 벡터로 형질전환된 숙주 세포, 및 또한 본 발명의 신규한 VDRR 폴리펩티드를 발현시키는 방법 및 이의 용도가 또한 개시되어 있다.

배경기술

핵 호르몬 수용체는 환경적으로 조절되는 전사 인자의 큰 그룹이다. 이들 수용체는 스테로이드, 비타민 D3, 레티노이드, 에이코사노이드(프로스타노이드), 갑상선 호르몬 및 콜레스테롤 유도체를 포함하는 다양한 작은 화학 분자(리간드)의 결합에 반응하여 목표 유전자 발현을 활성화 및 조절한다.

아직 리간드가 확인되지 않은 구조적으로 연관된 수용체들의 수가 증가하는 것으로 확인되어 왔다. 수용체의 이러한 그룹은 오판(orphan) 핵 수용체(ONR)로 언급된다. ONR에 대한 개론은 본원에 참고로 인용되어 있는 엔마크(Enmark) 등의 문헌[Mol. Endo., 제 10 권, 제 11 호(1996) 1293 내지 1307면]에서 찾을 수 있다. 물질대사 항상성, 세포 분화 및 발육과 같은 과정에 대한 다수의 ONR의 중추적 중요성은 생화학적 및 유전적 기술 둘 다에 의해 증명되어왔다. 또한, 여러 ONR은 당뇨병, 비만, 염증성 증상 및 증식성 질병과 같은 다양한 통상적인 질병 및 질환에서 중요한 인자로서 예상되어 왔다.

이들 발견에 근거하여 신규한 ONR이 통상적인 질병의 치료 발명을 위해 잠재성이 있는 약물 목표가 되고 있는 것으로 일반적으로 생각된다. 따라서, 이런 수용체를 확인하는 것은 매우 중요하다.

발명의 요약

본 발명은 신규한 비타민 D 수용체 연관된(VDRR) 폴리펩티드, 및 이를 함유하는 조성물에 관한 것이다. VDRR을 인코딩하는 핵산 서열, 이런 서열을 함유하는 발현 벡터 및 이런 발현 벡터로 형질전환되는 숙주 세포, 또한 본 발명의 VDRR 폴리펩티드를 발현시키는 방법이 또한 개시되어 있다. 본 발명은 또한 약제로서의 VDRR 폴리펩티드의 용도, 및 대사성, 증식성 또는 염증성 증상의 치료를 위한 약제의 제조를 위한 VDRR 신호 전달에 영향을 주는 물질의 용도에 관한 것이다. 본 발명은 또한 VDRR 폴리펩티드를 인코딩하는 클론을 확인하는 방법, VDRR에 대한 리간드를 확인하는 방법 및 VDRR 폴리펩티드에 의해 영향을 받는 증상의 치료를 위한 물질을 확인하기 위한 방법에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 신규한 VDRR 폴리펩티드는 핵 수용체에 대해 공지된 리간드와 구조적으로 유사한 임의의 작은 화학 분자에 의해 조절될 수 있는 VDRR γ 폴리펩티드일 수 있다.

도면의 간단한 설명

도 1은 신규한 비타민 D 수용체 연관된 핵 수용체 폴리펩티드 감마(VDRR γ)를 인코딩하는 cDNA 서열이다.

도 2는 DBD(DNA 결합 도메인)-HMM 배열로서 나타나는 VDRR γ 에 대한 진화적으로 연관된 계통도이다.

도 3은 LBD(리간드 결합 도메인)-HMM 배열로서 나타나는 VDRR γ 에 대한 진화적으로 연관된 계통도이다.

도 4는 VDRR γ 의 추론된 아미노산 서열을 나타낸다.

도 5는 성인 조직에서 VDRR γ 의 발현을 나타낸다. 우측의 숫자는 mRNA의 킬로염기쌍을 의미한다.

도 6은 CV-1 세포의 일시적 형질감염에서 비타민 D3가 GLA4-DBD/VDR-LBD 융합 단백질을 트랜스활성화시키지만 GAL4-DBD/VDRR γ -LBD 융합 단백질은 활성화시키지않음을 나타낸다. 좌측의 숫자는 GAL-4-루시퍼라제 리포터 유전자의 상대적 루시퍼라제 활성을 나타낸다.

도 7은 VDRR γ 에 비해 다르게 스플리싱된(spliced) 5'-말단을 갖는 VDRR γ -2를 인코딩하는 cDNA 서열을 나타낸다.

도 8은 VDRR γ -2의 추론된 아미노산 서열을 나타낸다.

도 9는 레티노이드 X 수용체(RXR)와의 VDRR γ 의 이종이량체화를 나타낸다.

도 10은 VDRR γ 의 활성화제로서의 프레그네놀론 유도체의 효과를 나타낸다.

도 11은 VDRR γ 의 활성화제로서의 프레그네놀론 16 α -카보니트릴(PCN), 텍사메타손 및 안티프로게스틴(RU468)의 효과를 나타낸다.

도 12는 신규한 유전자 VDRR γ -1 및 VDRR γ -2와 공지된 유전자 XOR-6, HVDR, CAR-1 및 CAR-2와의 유사성 비율을 나타낸다.

도 13은 신규한 유전자 VDRR γ -1 및 VDRR γ -2와 공지된 유전자 XOR-6, HVDR, CAR-1 및 CAR-2와의 동일성 비율을 나타낸다.

발명의 상세한 설명

상기 목적은 비타민 D 수용체 연관된(VDRR) 폴리펩티드를 인코딩하는 인접하는 핵산 서열을 포함하는 포

유동물, 바람직하게는 인간의 분리되거나 또는 재조합된 핵산에 관한 본 발명에 의해 만족된다. VDRR 폴리펩티드는 적합한 기원(origin)을 갖는다.

본 발명의 바람직한 양태에서, VDRR 폴리펩티드를 인코딩하는 핵산은 9개의 시스테인 잔기를 갖는 약 77 개의 아미노산을 포함하는 DNA-결합 도메인(DBD)을 함유한다. DBD는 또한 인간 비타민 D 수용체(hVDR) 및 제노퍼스 라에비스(*Xenopus laevis*)로부터 분리된 오판 핵 수용체 1(xONR1 = XOR-6) 각각의 DBD에 대해 하기의 아미노산 서열 유사성을 가짐을 특징으로 한다:

- (i) hVDR의 DBD와 약 60% 이상의 아미노산 서열 유사성; 및
- (ii) xONR1의 DBD와 약 65% 이상의 아미노산 서열 유사성.

보다 구체적으로, hVDR 및 xONR1 각각에 대한 아미노산 서열 유사성은

- (i) hVDR의 DBD와 약 65%의 아미노산 서열 유사성; 및
- (ii) xONR1의 DBD와 약 71%의 아미노산 서열 유사성이다.

본 발명의 바람직한 양태에서, VDRR 폴리펩티드를 인코딩하는 핵산은 hVDR 및 xONR1 각각의 LBD에 대해 하기의 아미노산 서열 유사성을 가짐을 특징으로 하는 리간드-결합 도메인(LBD)을 함유한다:

- (i) hVDR의 LBD와 약 30% 이상, 적합하게는 약 35% 이상의 아미노산 서열 유사성; 및
- (ii) xONR1의 LBD와 약 40% 이상, 적합하게는 약 45% 이상의 아미노산 서열 유사성.

보다 구체적으로 hVDR 및 xONR1 각각의 LBD에 대한 아미노산 서열 유사성은

- (i) hVDR의 LBD와 약 42%의 아미노산 서열 유사성; 및
- (ii) xONR1의 LBD와 약 54%의 아미노산 서열 유사성이다.

"아미노산 서열 유사성"은 $100 \times \text{컨센서스(consensus) 길이} / [\text{컨센서스 길이} + \text{미스매치길이} + \text{간격}]$ 로서 나타낸다.

아미노산 서열 동일성이란 용어를 또한 사용할 수 있다. 아미노산 서열 동일성은 절대적인 아미노산 잔기 동일성을 비교함으로써 계산된다. 도 13에서는 신규한 유전자 VDRR γ -1 및 VDRR γ -2와 공지된 유전자 사이의 아미노산 서열 동일성이 나타나있다.

특히 바람직한 양태에서는, 본 발명의 핵산 서열은 도 1 또는 도 7에 제공된 것과 실질적으로 동일하거나, 동일하거나 그의 대립유전자이다.

본 발명은 또한 시료중에서 VDRR 폴리펩티드를 인코딩하는 핵산 서열을 검출하기 위한 핵산 프로브(probe)에 관한 것이다. 적합하게는, 프로브는 도 1 또는 도 7에 도시된 핵산 서열의 14개 이상, 바람직하게는 28개 이상의 인접하는 뉴클레오타이드를 포함한다. 핵산 프로브는 VDRR 폴리펩티드를 인코딩하는 클론을 확인하기 위한 방법에 사용될 수 있는데, 이때 상기 방법은 낮은 엄격성의 하이브리드화 조건하에서 프로브를 이용하여 게놈 또는 cDNA 라이브러리를 스크리닝하는 (screening) 단계, 및 상기 프로브에 대해 실질적으로 하이브리드 형성을 나타내는 클론을 확인하는 단계를 포함한다.

추가로, 본 발명은 분리되거나 재조합된 VDRR 폴리펩티드에 관한 것이다. 폴리펩티드는 완전한 길이일 수 있고, 여기서 아미노산의 서열은 통상 포유동물, 특히 인간에서 발견되는 상응하는 서열과 동일하다. 본 발명에서, 폴리펩티드는 또한 완전한 길이의 폴리펩티드의 절단되거나, 연장되거나, 변형된 형태일 수 있다. 절단되고 연장된 형태는, 하나 이상의 아미노산이 폴리펩티드 채의 N-말단에서 각각 소실되거나 첨가된 VDRR 폴리펩티드에 관한 것이다. 변형된 형태는 하나 이상의 아미노산이 또 다른 아미노산에 의해 치환된 VDRR 폴리펩티드에 관한 것이다. 적합하게는, 분리되거나 재조합된 VDRR 폴리펩티드는 도 4 또는 도 8에 제공된 아미노산 서열을 나타낸다.

본 발명의 VDRR 폴리펩티드의 아미노산 서열 뿐만 아니라, VDRR 폴리펩티드를 인코딩하는 본 발명의 핵산의 N-말단 서열은 다양할 수 있다. 따라서, 다양한 N-말단 아이소폼(isoform)이 예컨대 문헌[Transcription Factors 3: nuclear receptors, Protein Profile, 제 2 권, 제 11 호(1995), 1173 내지 1235면]의 도 7B에 개시된 바와 같은 $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\beta 1$, $\beta 2$, $\beta 3$, $\beta 4$, $\gamma 1$ 또는 $\gamma 2$ 종의 임의의 것으로 생각될 수 있다. 핵 수용체에 대한 이러한 검토내용은 본원에 참고로 인용되어 있다. 보다 구체적으로, 비타민 D 수용체 및 관련된 오판, 예컨대 ONR1은 1191 내지 1992면에 논의되어 있다.

추가로, 본 발명은 분리되거나 재조합된 VDRR 폴리펩티드, 및 하나 이상의 치료학적으로 허용가능한 부형제를 포함하는 약학 조성물에 관한 것이다. 사용될 수 있는 부형제의 예는 탄수화물, 예컨대 단당류, 이당류 및 당 알콜, 예컨대 사카로오스 및 소르비톨이다. 추가의 예로는 아미노산, 예컨대 히스티딘 및 아르기닌, 계면활성제, 예컨대 폴리옥시에틸렌 소르비탄 지방산 에스테르, 무기 염, 예컨대 염화나트륨 및 염화칼슘 및 착화제, 예컨대 EDTA 및 시트르산이 있다.

본 발명의 조성물은 사용 준비된 수용액 형태, 또는 건조된 형태, 특히 동결건조된 형태일 수 있다. 후자의 경우, 조성물은 사용 전에 액체, 예컨대 멸균수 또는 염수로 재구성된다.

추가로, 본 발명은 비타민 D 수용체 관련된(VDRR) 폴리펩티드를 인코딩하는 인접한 핵산 서열을 포함하는 분리되거나 재조합된 핵산을 포함하는 발현 벡터에 관한 것이다. 본 발명은 또한 이러한 발현 벡터를 함유하는 세포에 관한 것이다.

추가로, 본 발명은 비타민 D 수용체 관련된(VDRR) 폴리펩티드를 인코딩하는 인접한 핵산 서열을 포함하는 청구된 핵산을 함유하는 세포에 관한 것이다.

추가로, 본 발명은 청구된 분리되거나 재조합된 인접한 핵산 서열(이는 비타민 D 수용체 관련된(VDRR)

폴리펩티드를 인코딩한다)을 적합한 숙주 세포, 바람직하게는 진핵 세포에서 발현시킴으로써 VDRR 폴리펩티드의 재조합체를 생성하는 방법에 관한 것이다.

추가로, 본 발명은 예컨대 세포에 근거한 리포터 검정법, 형질전이 동물 리포터 검정법 또는 시험관내 결합 검정법에 의해 VDRR에 대한 리간드를 확인하는 방법에 관한 것이다. 또한, 대사성, 증식성 또는 염증성 증상을 치료하기 위해 사용되는 VDRR 폴리펩티드 신호 전달에 대한 작용물질 또는 길항물질을 스크리닝함을 포함하는, VDRR 폴리펩티드에 의해 영향을 받는 증상의 치료를 위한 물질을 확인하는 방법에 관한 것이다.

추가로, 본 발명은 대사성, 증식성 또는 염증성 증상을 치료하기 위한 약제의 제조를 위한, VDRR 신호 전달에 영향을 주는 물질의 용도 뿐만 아니라, 약제로서 사용하기 위한 VDRR 폴리펩티드에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 본 발명은 비만, 당뇨, 식욕 감퇴, 지단백질 결핍, 과지질혈증, 과콜레스테롤혈증 또는 과지단백질혈증을 치료하기 위한 약제의 제조에 사용될 수 있다. 본 발명은 또한 골다공증, 류마티스 관절염, 양성 종양 및 악성 종양, 과증식성 피부 질환 또는 부갑상선항진증을 치료하기 위한 약제의 제조에 사용될 수 있다.

추가로, 본 발명은 VDRR 폴리펩티드의 발현을 위해 인코딩하는 핵산 벡터를 포유동물내로 도입함으로써 대사성, 증식성, 또는 염증성 증상을 치료하는 방법에 관한 것이다. 핵산 벡터는 생체내 세포를 형질전환시킬 수 있고, 상기 폴리펩티드를 상기 형질전환된 세포내에서 발현시킬 수 있다.

추가로, 본 발명은 VDRR 신호 전달에 영향을 주는 물질, 구체적으로 VDRR 폴리펩티드의 치료 효과량을 투여함으로써 대사성, 증식성 또는 염증성 증상을 치료하는 방법에 관한 것이다.

본 발명에서, VDRR 폴리펩티드 또는 이를 인코딩하는 핵산과 관련하여 "단리된"이란 용어는 인간의 간, 소장 또는 결장 등의 천연 공급원으로부터 단리된 핵산 또는 폴리펩티드를 말한다. 본 발명의 단리된 VDRR 폴리펩티드 또는 핵산은 이들이 자연적으로 순수하거나 분리된 형태로 발견되지 않는다는 점에서 특별하다. "단리된"이란 용어의 사용은 자연적으로 발생하는 서열이 그의 일반적인 세포 환경으로부터 제거되었음을 나타낸다. 따라서, 서열은 세포가 없는 환경에서 존재할 수 있거나 상이한 세포 환경에서 존재할 수 있다. 이 용어는 서열이 단지 핵산 또는 아미노산 서열이 아니라, 이것이 우세한 핵산 또는 아미노산 서열임을 내포다. 추가로, 핵산 또는 폴리펩티드는 각 생성물과 본래 결합된 비-아미노산 또는 비-핵산 물질이 본질적으로 없음을 의미한다. 이와 관련하여, 본질적으로 없다는 것은 80% 이상, 보다 적절하게는 90% 이상, 가장 바람직하게는 95% 이상의 순도를 가짐을 말한다.

"실질적으로 동일한"이란 용어는, 도 1 또는 도 7에서의 핵산 서열, 및 도 4 또는 도 8에서의 아미노산 서열에 대하여 언급될 경우, 이들이 도면에 제공된 서열로부터 유도되고 이들과 동일한 기능을 가짐을 의미한다.

본 발명의 발명자들은 놀랍게도 신규한 핵산, 및 상기 핵산 서열에 의해 인코딩되는 폴리펩티드를 단리하였다. 따라서, VDRR γ 로 표시되는 폴리펩티드를 인코딩하는 신규한 cDNA는 클로닝되고 특성화된다. 상기 폴리펩티드는 아미노산 서열의 유사성을 기준으로 하여 핵 (호르몬) 수용체 초유전자 계열의 신규한 일원이다. 연관된 계통도 방법(neighbor-joining tree method) 및 다른 통계적 연관분석 등의 계통 발생적 분석과 연관된 히든 마코브 모델(Hidden Markov Models; HMMs)는, 국제공개특허공보 제 W096/22390호에서와 같이 VDRR γ 가 비타민 D 수용체(VDR) 및 제노퍼스 라에비스로부터의 xONR1으로 표시된 VDR-유사 수용체[스미스(Smith) 등의 문헌 "Nucl. Acids Res.", 22(1994), No. 1, 66 내지 71면" 참조] 또는 XOR-6의 하위-계열에 속함을 보여준다. 따라서, VDRR γ 는 비타민 D 수용체 관련된(VDRR) 폴리펩티드의 계열의 일원이다.

매우 밀접하게 연관된 수용체 XOR-6, hVDR 및 CAR(국제공개특허공보 제 W093/17041호)에 비교하여 VDRR γ 의 DBD 및 LBD에서의 아미노산 유사성 정도는 그 외의 개별적이지만 관련된 핵 수용체 사이의 관계와 유사하다(도 12 참조). 갑상선 호르몬(TRb) 및 레티노산 수용체(RARb)는 DBD 및 LBD에서의 아미노산 농도에 있어서 각각 약 60% 및 40% 동일하다. 이와 대조적으로, 인간 RARa 및 RARb 핵 수용체를 인코딩하는 매우 연관되지만 특별한 유전자는 DBD 및 LBD에서 각각 97% 및 82% 동일하다.

핵 수용체의 분야의 숙련가라면 인식할 수 있듯이, DBD는 상이한 핵 수용체(paralogous)사이 및 상이한 종류(orthologues)로부터의 동일한 수용체 사이 둘다에서 가장 높은 전환도(아미노산 동일성)를 나타낸다. DBD에서 두 개의 "아연 핑거(zinc-finger)"는 두 개의 진화적으로 뒤바뀐 아미노산 모티프(motif), 즉 Cys-X2-Cys-X13-Cys-X2-Cys(아미노-말단 또는 제 1 아연-핑거) 및 Cys-Xn-Cys-X9-Cys-X2-Cys(카복시-말단 또는 제 2 아연-핑거)에 의해 생성되고, 여기서 두 쌍의 시스테인은 아연 이온상에서 킬레이트화된다. 대다수의 핵 수용체는 제 2 아연-핑거(Cys-X5-Cys-X9-Cys-X2-Cys)에서 처음의 두 개의 Cys 잔기 사이에 5개의 아미노산 잔기를 갖는다. 보다 상세한 내용은 그론메이어(Gronemeyer) 및 라우데트(Laudet)의 문헌 "Protein Profile 1995, 2, 제 11 호"를 참조한다. 이러한 규정에 대해 현재 유일하게 공지된 예외물질은 3개의 아미노산(Cys-X3-Cys-X9-Cys-X2-Cys) 잔기를 갖는 PPAR 및 7개의 아미노산(Cys-X7-Cys-X9-Cys-X2-Cys) 잔기를 갖는 수용체의 TLL 그룹이다. 본원에 기술된 신규한 VDRR γ 폴리펩티드를 특징짓는 또 다른 특징은 DBD의 상기 부분중의 아미노산 잔기의 수가 도 4 및 도 8에 도시된 바와 같이 6개(Cys-X6-Cys-X9-Cys-X2-Cys)라는 것이다. 현재, 두 개의 cys 잔기 사이의 아미노산 잔기의 동일한 수를 갖는 트렘블(TREMBLE) 데이터 베이스에서 발견되는 서열과 유사한 다른 유일한 핵 수용체는 연충 씨. 엘레강스(C. elegans)(Q20097 및 Q18155)로부터의 두 개의 서열(Q20097 및 Q18155)이다. 그러나, 이러한 추정적인 씨. 엘레강스 핵 수용체의 전체 DBD는 DVRRg의 DBD과 단지 거리를 두고 관련된다. 이와 함께, 본원에 기술된 핵 수용체 VDRR γ 의 DBD 및 LBD의 비교(도 12 참조)는, 상기 수용체가, ONR-1(스미스 등의 문헌 "Nucleic Acids Res. 22, 66 내지 71면, 1994) 또는 XOR-6(국제공개특허공보 제 W096/22390 호), hVDR 및 CAR(국제공개특허공보 제 W0 93/17041호)을 비롯한 VDRR γ 와 가장 밀접하게 관련되는 다른 공지된 핵 수용체로부터 구별되는 핵 수용체 초유전자 계열의 신규한 일원임을 분명히 입증한다.

인간 VDRR γ (간, 소장, 및 결장의 점막)에 대해 본 발명자들이 밝혀낸 고도로 제한된 발현 패턴과 함께, 퍼옥시솜 다생산체-활성화된 수용체(PPAR) 등의 조직 특이적 발현 패턴을 나타내는 다른 핵 수용체와 유사한 상기의 발견은, VDRR γ 가 간, 소장 및 결장에서 중요한 생리적 기능을 수행함을 제한한다. 따라서, VDRR γ 는 지질, 탄수화물 또는 아미노산 대사/항상성에 영향을 주는 주요 대사 경로의 중요한 센서인 것으로 보인다. 또한, 고도로 선택적인 조직 특이적 발현 패턴은 VDRR γ 가 이들 조직의 세포 분화 및 발달에 참여할 수 있음을 제한한다.

다르게 스플리싱된 5'-말단을 갖는 추가의 인간 VDRR γ cDNA가 확인되었다(도 7 참조). 따라서 VDRR γ cDNA는 도 4에 도시된 VDRR γ 폴리펩티드 뿐만 아니라, 하나 이상의 다른 N-말단 변이체(도 8)를 인코딩할 수 있다. ROR α 및 RAR α 와 같은 핵 수용체 초유전자 계열의 다른 구성원과 유사하게, VDRR γ 의 N-말단 아이소폼은 DNA-결합 특이성 및/또는 프로모터 특이적 활성화를 비롯한 상이한 기능을 규정할 수 있다(그로메이어 및 라우데트, 1995).

본 명세서에서, VDRR γ 란 용어는 VDRR γ -1 및 VDRR γ -2를 비롯한 상이하게 스플리싱된 VDRR γ cDNA에 상응하는 다양한 폴리펩티드에 관한 것이다. 그러나, 도 1 및 도 4를 참조하면, VDRR γ cDNA 및 VDRR γ 는 특히 VDRR γ -1 cDNA 및 VDRR γ -1과 각각 관련된다. 이와 동일하게, 도 7 및 도 8을 참조하면, VDRR γ cDNA 및 VDRR γ 는 특히 VDRR γ -2 cDNA 및 VDRR γ -2와 각각 관련된다.

VDRR γ -2 cDNA와 대조적으로, VDRR γ -1 cDNA는 고유의 AUG 개시 코돈을 함유하지 않고 그 대신 대안의 CUG 코돈에서 개시할 수 있다. 이러한 추정적인 비-AUG 출발 부위는, 다른 출발 부위로부터 효과적으로 개시하기 위해 선호적인 서열 관계로 위치되고, 전체 오픈 리딩 프레임(open reading frame)에 상응하고(in frame) 정지 코돈 앞에 위치한다.

이와 함께, 일반적인 VDRR 및 보다 상세하게는 VDRR γ 는

- 1) 비만, 당뇨병(I 및 II 유형), 지단백질 장애 등의 대사성 질환,
- 2) 소장 및 결장의 종양(양성 및 악성) 등의 증식성 증상,
- 3) 소장 및 결장의 궤양-염증성 질환, 예컨대 크론병(Crohn's disease) 및 궤양성 대장염,
- 4) 소장 및 대장의 울혈성 이상증에서 중요할 수 있다.

DNA-결합 도메인(DBD) 및 리간드-결합 도메인(LBD) 둘다에서 VDRR γ 과 VDR의 높은 아미노산 서열 동일성은 이들 두 수용체들이 또한 중복적이거나 구별되는 기능적 특징들을 가질 수 도 있음을 나타낸다. 유추하여, 레티노산 수용체(RAR) 및 레티노이드 X 수용체(RXR)는 VDR 및 VDRR γ 와 마찬가지로 DBD와 LBD 영역에서 유사 아미노산 서열 동일성을 갖는다. RAR 및 RXR은 두 수용체가 9-시스 레티노산에 결합하고 중복된 DNA-결합 특이성을 갖고 따라서 중복된 유전자 조직망을 조절하도록 별도의 기능적 유사성을 갖는 것으로 보여진다. 이러한 발견을 기초로 하여, VDRR γ 는 1α ,25-디히드록시 비타민 D3 수용체에 대한 리간드와 필수적으로 동일하지는 않지만 핵 수용체에 대해 공지된 리간드와 구조면에서 유사한 작은 화학 분자에 의해 조절될 수 있다. 추가로, VDRR γ 는 비타민 D 반응성 요소 (VDRE)-유사 DNA 서열에 결합함으로써 비타민 D3 반응성 유전자 조직망을 조절할 수 있다. 본원에서, 1α ,25-디히드록시 비타민 D3 수용체는 비타민 D 수용체(VDR)로 약칭한다.

본 발명에서, VDRR 신호 전달에 영향을 주는 물질은 천연 또는 합성 기원의 임의의 작은 화학 분자, 예컨대 방향족 화합물 등과 같은 탄수화물일 수 있다. 작은 분자는 약 100 내지 약 500Da 이하의 분자량을 가질 수 있다. 적합하게는, 작은 화학 분자는 200 내지 400Da 이하의 분자량을 갖는다. 바람직하게는, 작은 화학 분자는 약 300Da의 분자량을 갖는다.

VDRR γ -1 및 VDRR γ -2를 비롯한 인간 VDRR γ 폴리펩티드는 예를 들면 프레그네놀론 및 에스트라디올에 의해 (약하게) 활성화되지만, 임의의 다른 스테로이드 호르몬, 예컨대 코르티솔, 알도스테론, 프로게스테론 및 에스트로겐에 의해 활성화되지 않으며, 특히 프로게스틴 및 글루코코르티코이드에 의해서 활성화되지 않는 것으로 보인다. 따라서, 인간 VDRR γ 는 프레그네놀론 16α -카보니트릴(PCN), 즉 글루코코르티코이드 길항물질에 의해 활성화되지 않는다. 이러한 이유로, 인간 VDRR γ 는 또한 인간 프레그네놀론 활성화된(핵) 수용체(hPAR)로도 표시될 수 있다. 프레그네놀론에 대한 정보는 문헌[Merck Index, 제 11 판, Merck & Co., Inc. Rahway, N.J., USA, 7735면, 1989]에서 찾아볼 수 있다.

VDRR γ -1 및 VDRR γ -2를 비롯한 인간 VDRR γ 폴리펩티드에 대한 활성화제(각각, hPAR-1 및 hPAR-2)는 한정하는 것은 아니지만 프레그네놀론, 예컨대 프레그난-온, 프레그난-디온, 프레그난-트리온 및 프레그난-디올, 및 안드로스탄, 예컨대 안드로스탄-올 및 안드로스탄-디올을 포함한다. 적합하게는, 프레그네놀론은 비-평면성이고, 구체적으로 5β -프레그난이다.

VDRR γ -1 및 VDRR γ -2를 비롯한 인간 VDRR γ 폴리펩티드를 위한 활성화제 및 가능한 리간드의 구체적인 예는 다음 화합물과 같으며, 이들 화합물은 스웨덴 소재의 시그마-알드리치(Sigma-Aldrich)에 의해 시판 중이다:

- i) 5β -프레그난-3,20-디온
- ii) 3α -히드록시- 5β -프레그난-11,20-디온 메탄설포네이트
- iii) 5β -프레그난- 3α ,20 β -디올
- iv) 프레그네놀론
- v) 프레그난-4-에노[16,17- δ][2]이속사졸린-3,20-디온, 6α -메틸-3'-페닐-, 에틸 에테르 용매화물
- vi) 프레그난-1,4,9(11)-트리엔-3,20-디온, 21-[4-[6-메톡시-2-(4-모르폴리닐)-4-피리미디닐]-1-피페라

지닐]-16-메틸-, (16 α)-

vii) 에스트란-3-올, 17-[[[3-(트리플루오로메틸)페닐]메틸]아미노]-, (E)-2-부텐디오에이트(1:1)(염)

viii) 9 α -플루오로-5 α -안드로스탄-11 β , 17 β -디올

ix) 스피로[5 α -안드로스탄-3,2'-벤조티아졸린]-11-온, 17 β -히드록시-17-메틸-

x) 스피로[프레그난-3,2'-티아졸리딘]-4'-카복실산, 11 α -히드록시-20-옥소-, 나트륨 염

xi) 17 β -디메틸아미노-17-에티닐-5 α -안드로스탄-11 β -올

xii) 6 β -히드록시-3,5-사이클로-5 α -프레그난-20-온, 니트라이드

xiii) 3 α -히드록시-5 β -프레그난-11,20-디온, 아세테이트, 20-O-(메틸설포닐)-옥심

xiv) 17 α -메틸-5 α -안드로스탄-11 β , 17-디올

xv) 5 β -프레그난-3,11,20-트리온, 트리옥심

xvi) 3 α -히드록시-5 β -프레그난-11,20-디온, 20-하이다존과 1-(카복시메틸)피리디늄 클로라이드

VDRR γ 길항물질을 다른 의약, 예를 들면 비제한적으로 HIV 프로테아제 억제제 및 사이클로스포린과 함께 상승적으로 함께 투여하여 CYP3A4의 발현을 억제하고 따라서 CYP3A4 대사에 기인한 열등한 약동학으로 의약의 생분해성을 증가시키는 용도로 VDRR γ 길항물질을 사용할 수 있다. 폴리펩티드를 위한 유전자 코딩[예: 인간 비타민 D 수용체 연관된 감마(hVDRR γ)]은 폴리펩티드를 코딩하는 DNA 단편을 재조합 DNA 비히클(예: 벡터)로 도입하고 적절한 원핵 또는 진핵 숙주 세포로 형질변환시켜 클로닝할 수 있다. 이러한 재조합 DNA 기술은 잘 공지되어 있으며 예를 들면 다음 문헌에 개시되어 있다[참조: Methods in Enzymology, Academic Press, San Diego, CA, USA(1994), 제 65 권 및 제 68 권(1979), 및 제 100 권 및 제 101 권(1983)].

본 발명에 사용하기 위한 숙주 세포는 원핵 또는 진핵, 바람직하게는 진핵 세포이다. 적절한 진핵 세포 숙주는 비제한적으로 이스트, 예를 들면 사카로마이스(Sacchomyces)로부터의 세포, 곤충 세포 및 포유류 세포[예: 차이니즈 햄스터 난소(Chinese Hamster Ovary; CHO), 베이비 햄스터 키드니(Baby Hamster Kidney; BHK), COS 등]를 포함한다. 적절한 원핵 숙주 세포는 비제한적으로 엔테로박테리아세아(Enterobacteriaceae)(예: E.coli, Bacillus 및 Streptomyces)로부터의 세포를 포함한다.

실시예

하기 실시예는 단지 설명할 목적으로 제공되는 것이며 첨부된 청구의 범위에 의해 정의되는 본 발명의 범주를 어떤 식으로든 제한하고자 함이 아니다.

실시예 1

인간 VDRR γ cDNA의 확인 및 단리

발현된 서열 Tag(expressed sequence Tag; EST) 데이터베이스를 핵 수용체의 DNA-결합 도메인(DBD)을 갖는 핵 수용체 연관된 서열에 대해 스크리닝하였다. 이러한 조사 프로파일은 선택된 세트의 핵 수용체 서브-도메인을 다중 배열시키고 통계적으로 계산하여 핵 수용체 슈퍼유전자 패밀리중 상이한 서브패밀리 구성원의 소위 히든 마르코브 모델(Hidden Markov Model; HMM)을 수득함으로써 제작되었다. 확인된 핵 수용체 연관된 EST 서열중 하나의 cDNA(Incyte 클론 No. 2211526)를 서열화에 의해 상세히 분석하였다. 전체 Incyte cDNA 클론의 DNA 서열화 후(약 2200 염기쌍), 클론은 추정 리간드-결합 도메인(LBD)을 인코딩하고 54% 및 44%가 각각 xONR-1 및 비타민 D 수용체(VDR)와 유사한 것으로 발견되었다. Incyte 클론의 cDNA는 완전한 길이가 아니고 완전한 DBD에 상응하는 서열을 인코딩하지 않았다.

인간의 간 RNA(InVitrogen)으로부터의 랜덤 프라이머 cDNA를 5'-RACE(cDNA 말단의 신속한 증폭; rapid amplification of cDNA ends)한 후 클로닝하고 DNA 서열화하면, Incyte 클론에 상응하는 cDNA의 5'-부분이 핵 수용체를 위한 DBD 특성부를 인코딩하고 71% 및 65% 서열이 각각 xONR-1 및 VDR과 유사하다는 것을 알 수 있었다. 진화적인 인접-계통도 분석과 조합된 다중 배열로 cDNA에 의해 인코딩된 폴리펩티드(도 1에서 구체화됨)가 VDRs(도 2 및 도 3)의 그룹임을 확인하였고, 이를 인간 비타민 D 수용체 연관된 감마(VDRR γ)로 지칭하였다. VDRR γ 의 유도된 아미노산 서열은 도 4에 나타낸다.

실시예 2

인간 조직에서 VDRR γ mRNA의 발현

복합 조직 노던 블롯(multiple tissue northern blot; Clontech)을 사용하여 성인 인간 조직에서 VDRR γ 의 발현 패턴을 측정하였다. 도 5에 나타난 바와 같이, VDRR γ 는 소장, 결장의 점액성 내층 및 간에서 풍부하게 발현되지만, 비장, 흉선, 전립선, 고환, 난소, 말초 혈 백혈구, 심장, 뇌, 태반, 폐, 골격근육, 신장 및 체장과 같은 몇가지 다른 조직에서는 그렇지 않다. VDRR γ 이 검사된 다른 조직중 어느 곳에서도 낮은 양으로 발현되는지를 조사하기 위해, 필터를 장시간 동안 노출시켰다(1주일 노출과 밤새 노출을 비교함). 이러한 장시간 노출 후에도(데이터가 나타나지 않음), 발현은 동일한 조직에서만 검지될 뿐 검사된 다른 조직중 어느 곳에서도 발견되지 않았다. VDRR γ 의 제한된 발현 패턴은 이러한 수용체가 간 및 장에서 중요한 조절 기능을 갖기 쉽다는 것을 제안한다.

실시예 3

비타민 D3를 사용하는 GAL4-DBD/VDRR γ -LBD 융합 단백질의 일시적인 형질감염

비타민 D3가 VDR γ 폴리펩티드를 활성화시키는지 여부를 분석하기 위해 일시적인 형질감염을 수행하였다. 말기에 CV-1 세포의 일시적인 동시-형질감염을, VDR 또는 VDR γ 의 LBD에 융합된 GAL4-DBD의 융합 단백질질을 인코딩하는 발현 플라스미드와 발광효소 유전자의 5개의 GAL4 반응성 구성요소 업스트림을 함유하는 수용체-플라스미드와 함께 수행하였다. 형질감염 후, 세포를 비히클(DMSO) 단독으로 또는 비타민 D3와 함께 48시간 동안 처리한 후 세포를 수거하고 세포 추출물중의 발광효소 활성을 측정하였다. 도 6에 나타난 바와 같이, 비타민 D3(1 μ M)는 GAL4-DBD/VDR-LBD를 형질활성화시키지만 이러한 조건하에 상응하는 GAL4-DBD-VDR γ -LBD 폴리펩티드를 형질활성화시키지는 않는다. 이는 2개의 수용체가 구별되는 리간드-결합 특이성을 가질 수 있음을 나타낸다.

실시예 4

다중 N-말단 아이소폼을 인코딩하는 인간 VDR γ cDNA의 확인 및 단리

인간 간 RNA로부터의 cDNA를 5'-RACE(실시예 1 참조)한 후 클로닝 및 DNA 서열화하여 선택적으로 스플리싱된 5'-말단을 포함하는 추가의 인간 VDR γ cDNA를 확인하였다(도 7 참조). 따라서, VDR γ cDNA는 도 4에 도시된 VDR γ 폴리펩티드에 덧붙여 하나 이상의 교호적인 N-말단 변이체(도 8)를 인코딩할 수 있다. 상이하게 쪼개진 VDR γ cDNA에 상응하는 도 4 및 도 8에 개시된 폴리펩티드는 각각 VDR γ -1 및 VDR γ -2로서 지칭된다.

실시예 5

VDR γ 는 RXR와 이중이량체화하고 3 또는 4개의 뉴클레오티드에 의해 이격된 직접 반복단위(DRs)에 결합한다

VDR γ 또는 RXR β cDNA를 함유하는 발현 플라스미드는 생체외로 TNT 망상적혈구 리세이트(미국 위스콘신 매디슨 프로메가) 안에서 T7 폴리머라제를 사용하여 전사되고 번역되었다. VDR γ 의 DNA-결합 특이성을 조사하기 위해, 천연 겔 유동성 시험을 다음 문헌에 필수적으로 기재된 바와 같이 수행한 후(참조: Berkenstam 등, Cell, 제 69 권, 401 내지 412면, 1992), 생체외의 번역된 VDR γ 를 생체외 번역된 XR β 의 존재 또는 부재하에 도 9에 나타난 바와 상이한 32P-표지된 직접 반복단위(DR-1 내지 DR-5)와 함께 향온처리하였다. 직접 반복단위가 RAR- β 2 촉진제중의 DR-5 구성요소로부터 유도되었고(de The 등, Nature, 제 343 권, 177 내지 180면, 1990) 변형되어 1 내지 5개의 뉴클레오티드에 의해 단리되었다(Pettersson 등, Mechanisms of Dev., 제 54 권, 1 내지 13면, 1995). 단백질-DNA 착화합물은 천연 5% 폴리아크릴-아미드/0.25 $\times$ TBE 겔상에 단리시킨 후 자기방사기록하였다. 도 9에 도시된 바와 같이, 5개의 DRs중에 시험된 효과적인 VDR γ 결합은 3 또는 4개의 뉴클레오티드에 의해 단리된 DRs를 사용하고 RXR의 존재하에서만 감지될 수 있었다. 그러나, 더 약한 RXR-의존성 결합은 또한 DR-2 및 DR-1 구성요소에서 발견될 수 있었다. 이러한 결과로서 VDR γ 이 DRs의 특이적 서브세트에 효과적으로 DNA-결합되기 위해서는 RXR 이중이량체화가 요구된다는 것이 입증되었다. 그러나, 이러한 결과는 VDR γ 가 공단량체, 이량체 또는 이중이량체로서 구별되지만 연관된 DNA-서열에 결합할 가능성을 배제하는 것은 아니다. 중요하게는, 이러한 결과는 VDR γ 및 그 밖의 핵 수용체, 예를 들면 VDR(예: Markose, E.R. 등, Proc.Natl.Acad.Sci.USA, 제 87 권, 1701 내지 1705면, 1990), THR(예: Gronemeyer, H 및 Moras, D., Nature, 제 375 권, 190 내지 191면, 1995), LXR(예: Willy, P.J. 등, Genes.Dev., 제 9 권, 1033 내지 1045면, 1995)가 구별되지만 겹치는 DNA-서열을 갖고 따라서 겹치는 유전자 네트워크를 조절할 수 있음을 입증한다. 흥미롭게도, ONR-1(Smith 등, 1994, Nucleic Acid Res., 제 22 권, 66 내지 71면) 또는 XOR-6(국제공개특허공보 제 WO 96/22390호)로 칭하는 가장 밀접하게 연관된 핵 수용체는 레틴산 반응 구성요소, 즉 bRARE에 잘 결합하는 것으로 보고되었다(p.11, line 30, 국제공개특허공보 제 WO 96/22390호). 그러나, 본원에서 기록된 신규한 핵 수용체 VDR γ 는 XOR-6와 비교하여 DBD에서 71% 아미노산 유사성을 갖고(도 12), VDR γ 는 동일한 bRARE 서열에 결합하는 것으로 보이지 않는다(DR-5, 도 9).

실시예 6

VDR γ 의 활성화제로서의 프레그네놀론 유도체

VDR γ 을 위한 활성화제 또는 리간드를 확인하게 위해, 핵 수용체를 위한 상이한 부류의 활성화제 및 리간드를 향해 구조적으로 바이어싱된 물질 자료를 시험하였다. VDR γ 의 활성화를 일시적인 Caco-2(TC7) 세포에서 리포터 유전자 검정법으로 분석하였다(Carriere 등, 1994). 이러한 초기 스크린시, VDR γ 을 활성화시키는 능력을 갖는 합성 물질은 프레그네놀론과 구조적으로 유사한 것으로 밝혀졌다(데이타는 도시되지 않음). 이러한 결과를 기초로 하여, 천연적으로 발생하는 프레그네놀론 유도체를 VDR γ 의 활성화에 대해 검사하였다. 결과를 도 10에 나타낸다. 도 10으로부터 명백하듯이, VDR γ 는 프레그네놀론, 5 β -프레그난-3,20-디온, 5 β -프레그난-3 α ,20 β -디올 및 3 α -히드록시-5 β -프레그난-11,20-디온 메탄설포네이트에 의해 약 5 내지 12배 활성화되었다. 5 β -프레그난-3,20-디온에 의해 관찰된 효과적인 활성화와 대조적으로, 상응하는 평면상 스테로이드유도체 5 α -프레그난-3,20-디온은 수용체를 활성화하지 않았다. 다른 5 β -프레그난은 또한 VDR γ 을 도 10으로부터 명백한 바와 같이, 시험된 모든 평면상 프레그네놀론 유도체와 반대로 효율적으로 활성화하였다.

실시예 7

VDR γ 의 활성화제로서 프레그네놀론 16 α -카보니트릴(PCN), 맥사메타손 및 안티프로게스틴(RU486)

추가 실험을 수행하여 프레그네놀론 16 α -카보니트릴(PCN), 글루코코르티코이드 길항물질 또는 맥사메타손이 VDR γ 의 활성화제인지 여부를 발견하였다. 이러한 취지로, Caco-2 세포를 상기한 바와 같이 VDR γ 로 형질감염시키고 활성화를 세포를 10 μ M PCN 또는 맥사메타손으로 처리한 후 분석하였다. 결과를 도 11에 나타낸다. 도 11로부터 명백하듯이, VDR γ 은 이들 물질에 의해 활성화되지 않았고, 이는 VDR γ 가 인간 PCN 수용체가 아님을 지시한다. 이러한 제안은 안티프로게스틴 RU486만이 도 11로부터 명백하듯이, VDR γ 매개된 리포터 유전자 활성화에서 약간의 증가(2배)를 유발했다는 사실을 관찰함으로써

써 입증된다. 부틸 4-NH₂ 벤조에이트와 같은 XOR-6의 활성화제(도 3, 국제공개특허공보 제 WO 96/22390호)는 국제공개특허공보 제 WO 96/22390호에 사용된 바와 유사한 리포터 검정법에서 VDRR γ를 활성화시키지 않았다(도시되지 않음).

- <110> Pharmacia & Upjohn AB
- <120> Novel vitamin D receptor related polypeptides, nucleic acid sequence encoding the same and uses thereof
- <130> 6
- <150> SE 9703745-1
- <151> 1997-10-14
- <150> SE 9801148-9
- <151> 1998-03-31
- <160> 5
- <170> KOPATIN 1.5
- <210> 1
- <211> 2905
- <212> DNA
- <213> Homo sapiens
- <400> 1

cctctgaagg tcttagaatc gatagtgaat tcgtgggacg ggaagaggaa gcactgcctt	60
tacttcagtg ggaatctcgg cctcagcctg caagccaagt gttcacagtg aaaaaagcaa	120
gagaataagc taatactcct gtcctgaaca aggcagcggc tccttggtaa agctactcct	180
tgatcgatcc ttgtcaccgg attgttcaaa gtggacccca ggggagaagt cggagcaaag	240
aacttaccac caagcagtcc aagaggccca gaagcaaacc tggaggtag acccaaagaa	300
agctggaacc atgctgactt tgtacactgt gaggacacag agtctgttcc tggaaagccc	360
agtgtcaacg cagatgagga agtcggaggt ccccaaatct gccgtgtatg tggggacaag	420
gccactggct atcacttcaa tgtcatgaca tgtgaaggat gcaagggcctt tttcaggagg	480
gccatgaaac gcaacgcccg gctgaggtag cccttcggga agggcgccctg cgagatcacc	540
cggaagaccc ggcgacagtg ccaggcctgc cgcctgcgca agtcctgga gagcgcatg	600
aagaaggaga tgatcatgtc cgacgaggcc gtggaggaga ggcgggcctt gatcaagcgg	660
aagaaaagtg aacggacagg gactcagcca ctgggagtgc aggggctgac agaggagcag	720
cggaatgatga tcaggagagt gatggacgct cagatgaaa cctttgacac taccttctcc	780
catttcaaga atttccggct gccaggggtg cttagcagtg gctgcgagtt gccagagtct	840
ctgcaggccc catcgaggga agaagctgcc aagtggagcc aggtccggaa agatctgtgc	900
tctttgaagg tctctctgca gctgcggggg gaggatggca gtgtctggaa ctacaaaccc	960
ccagccgaca gtggcgggaa agagatcttc tccctgctgc cccacatggc tgacatgtca	1020
acctacatgt tcaaaggcat catcagcttt gccaaagtca tctcctactt cagggacttg	1080
cccatcgagg accagatctc cctgctgaag ggggccgctt tcgagctgtg tcaactgaga	1140
ttcaacacag tgttcaacgc ggagactgga acctgggagt gtggccggct gtcctactgc	1200
ttggaagaca ctgcaggtgg cttccagcaa cttctactgg agcccatgct gaaattccac	1260
tacatgctga agaagctgca gctgcatgag gaggagtatg tgctgatgca ggccatctcc	1320
ctcttctccc cagaccgccc aggtgtgtct cagcaccgcg tggtaggaca gctgcaggag	1380
caattcgcca ttactctgaa gtcctacatt gaatgcaatc ggccccagcc tgctcatagg	1440
ttcttggtcc tgaagatcat ggctatgtct accgagctcc gcagcatcaa tgctcagcac	1500
accagcggc tgctgcgcat ccaggacata caccctttg ctacgccct catgcaggag	1560
ttgttcggca tcacaggtag ctgagcggct gcccttgggt gacacctccg agaggcagcc	1620

agaccagag ccctctgagc cgccactccc gggccaagac agatggacac tgccaagagc 1680
cgacaatgcc ctgctggcct gtctccctag ggaattcctg ctatgacagc tggctagcat 1740
tcctcaggaa ggacatgggt gccccccacc ccagttcag tctgtagga gtgaagccac 1800
agactcttac gtggagagt cactgacctg taggtcagga ccatcagaga ggcaagggtg 1860
ccctttcctt ttaaaaggcc ctgtgggtctg gggagaaatc cctcagatcc cactaaagtg 1920
tcaagggtgtg gaagggacca agcgaccaag gataggccat ctggggtcta tgcccacata 1980
cccacgtttg ttgccttctt gagtcttttc attgctacct ctaatagtcc tgtctccac 2040
ttcccactcg ttcccctcct ctccgagct gctttgtggg ctcaaggcct gtactcatcg 2100
gcaggtgcat gagtatctgt gggagtcctc tagagagatg agaagccagg aggcctgcac 2160
caaatgtcag aagcttgga tgacctatt ccggccacat cattctgtgt ctctgcatcc 2220
atttgaacac attattaagc actgataata ggtagcctgc tgtggggtat acagcattga 2280
ctcagatata gatcctgagc tcacagagtt tatagttaa aaaacaaaca gaaacacaaa 2340
caatttggat caaaaggaga aatgataag tgacaaaagc agcacaagga atttccctgt 2400
gtggatgctg agctgtgatg gcaggcactg ggtacccaag tgaagggtcc cgaggacatg 2460
agtctgtagg agcaaggga caaactgcag ctgtgagtgc gtgtgtgtga tttggtgtag 2520
gtaggctgtt ttgccacttg atggggcctg ggtttgttcc tggggctgga atgctgggta 2580
tgctctgtga caaggctacg ctgacaatca gttaaacaca ccggagaaga accatttaca 2640
tgcaccttat atttctgtgt acacatctat tctcaaagct aaagggtatg aaagtgcctg 2700
ccttgtttat agccacttgt gagtaaaat ttttttgcatt tttcacaaat tatactttat 2760
ataaggcatt ccacaccta gaactagttt tgggaaatgt agccctgggt ttaatgtcaa 2820
atcaaggcaa aaggaattaa ataatgtact ttgggctaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2880
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaa 2905

<210> 2
<211> 437
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 2

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

130	135	140	
Glu Glu Gln Arg Met Met Ile Arg Glu Leu Met Asp Ala Gln Met Lys			
145	150	155	160
Thr Phe Asp Thr Thr Phe Ser His Phe Lys Asn Phe Arg Leu Pro Gly			
	165	170	175
Val Leu Ser Ser Gly Cys Glu Leu Pro Glu Ser Leu Gln Ala Pro Ser			
	180	185	190
Arg Glu Glu Ala Ala Lys Trp Ser Gln Val Arg Lys Asp Leu Cys Ser			
	195	200	205
Leu Lys Val Ser Leu Gln Leu Arg Gly Glu Asp Gly Ser Val Trp Asn			
	210	215	220
Tyr Lys Pro Pro Ala Asp Ser Gly Gly Lys Glu Ile Phe Ser Leu Leu			
225	230	235	240
Pro His Met Ala Asp Met Ser Thr Tyr Met Phe Lys Gly Ile Ile Ser			
	245	250	255
Phe Ala Lys Val Ile Ser Tyr Phe Arg Asp Leu Pro Ile Glu Asp Gln			
	260	265	270
Ile Ser Leu Leu Lys Gly Ala Ala Phe Glu Leu Cys Gln Leu Arg Phe			
	275	280	285
Asn Thr Val Phe Asn Ala Glu Thr Gly Thr Trp Glu Cys Gly Arg Leu			
	290	295	300
Ser Tyr Cys Leu Glu Asp Thr Ala Gly Gly Phe Gln Gln Leu Leu Leu			
305	310	315	320
Glu Pro Met Leu Lys Phe His Tyr Met Leu Lys Lys Leu Gln Leu His			
	325	330	335
Glu Glu Glu Tyr Val Leu Met Gln Ala Ile Ser Leu Phe Ser Pro Asp			
	340	345	350
Arg Pro Gly Val Leu Gln His Arg Val Val Asp Gln Leu Gln Glu Gln			
	355	360	365
Phe Ala Ile Thr Leu Lys Ser Tyr Ile Glu Cys Asn Arg Pro Gln Pro			
	370	375	380
Ala His Arg Phe Leu Phe Leu Lys Ile Met Ala Met Leu Thr Glu Leu			
385	390	395	400
Arg Ser Ile Asn Ala Gln His Thr Gln Arg Leu Leu Arg Ile Gln Asp			
	405	410	415
Ile His Pro Phe Ala Thr Pro Leu Met Gln Glu Leu Phe Gly Ile Thr			
	420	425	430
Gly Ser Phe Ile Gly			
	435		

- <210> 3
- <211> 2802
- <212> DNA
- <213> Homo sapiens
- <400> 3

tgaattcgtg ggccctgctgg gttagtgtcg gcagccccc tgaggccaag gacagcagca	60
tgacagtac caggactcac cacttcaagg aggggtccct cagagcacct gccatacccc	120
tgcacagtgc tgcggctgag ttggcttcaa accatccaag agggccagaa gcaaacctgg	180
aggtgagacc caaagaaagc tggaaacatg ctgactttgt acactgtgag gacacagagt	240
ctgttcctgg aaagcccagt gtcaacgcag atgaggaagt cggagggtccc caaatctgcc	300
gtgtatgtgg ggacaaggcc actggctatc acttcaatgt catgacatgt gaaggatgca	360
agggcttttt caggagggcc atgaaacgca acgcccggct gaggtgcccc ttccggaagg	420
gcgcctgcga gatcacccgg aagacccggc gacagtgcc ggccgtccgc ctgcgcaagt	480
gcctggagag cggcatgaag aaggagatga tcatgtccga cgaggccgtg gaggagaggc	540
gggccttgat caagcggaag aaaagtgaac ggacaggac tcagccactg ggagtgcagg	600
ggctgacaga ggagcagcgg atgatgatca gggagctgat ggacgctcag atgaaaacct	660
ttgacactac ctctcccat ttcaagaatt tccggctgcc aggggtgctt agcagtggct	720
gcgagttgcc agagtctctg caggcccat cgagggaaga agctgccaa tggagccagg	780
tccggaaaga tctgtgtct ttgaaggct ctctgcagct ggggggggag gatggcagt	840
tctggaacta caaaccccca gccgacagt gcgggaaaga gatcttctcc ctgctgcccc	900
acatggctga catgtcaacc tacatgttca aaggcatcat cagctttgcc aaagtcatct	960
cctacttcag ggacttgcct atcgaggacc agatctccct gctgaaggg gccgctttcg	1020
agctgtgtca actgagattc aacacagtgt tcaacgcgga gactggaacc tgggagtgtg	1080
gccggctgtc ctactgcttg gaagacactg caggtggctt ccagcaactt ctactggagc	1140
ccatgctgaa attccactac atgtgaaga agctgcagct gcatgaggag gagtatgtgc	1200
tgatgcaggc catctccctc ttctccccc accgcccagg tgtgctgcag caccgctgg	1260
tggaccagct gcaggagcaa ttgcctatta ctctgaagtc ctacattgaa tgcaatcggc	1320
cccagcctgc tcataggttc ttgttctga agatcatggc tatgctcacc gagctccgca	1380
gcatcaatgc tcagcacacc cagcggctgc tgcgcatcca ggacatacac ccctttgcta	1440
cgccctcat gcaggagtgg ttccgcatca caggtagctg agcggctgcc ctgggtgac	1500
acctccgaga ggcagccaga cccagagccc tctgagccgc cactccggg ccaagacaga	1560
tggacactgc caagagccga caatgccctg ctggcctgtc tccctagga attcctgcta	1620
tgacagctgg ctgacttcc tcaggaagga catgggtgcc cccaccccc agttcagtct	1680
gtaggagtg aagccacaga ctcttacgtg gagagtgcac tgacctgtag gtcaggacca	1740
tcagagaggc aaggttgcct ttctctttta aaaggccctg tggctgtggg agaaatccct	1800
cagatccac taaagtgtca aggtgtgga gggaccaagc gaccaaggat aggccatctg	1860
gggtctatgc ccacatcccc acgtttgttc gcttctgag tcttttcatt gctacctta	1920
atagtctgt ctccacttc ccactcgttc ccctctctt ccgagctgct ttgtgggctc	1980
aaggcctgta ctcatcgga ggtgcatgag tatctgtggg agtcctctag agagatgaga	2040
agccaggagg cctgcaccaa atgtcagaag ctggcatga cctattccg gccacatcat	2100
tctgtgtctc tgcatccatt tgaacacatt attagcact gataatagg agcctgctgt	2160
gggtatata gcaattgact agatatagat cctgagctca cagagtttat agttaaaaa	2220
acaacagaa acacaacaa ttggatcaa aaggagaaaa tgataagtga caaaagcagc	2280
acaagggaatt tcctgtgtg gatgctgagc tgtgatggc ggcaactggg acccaagtga	2340
aggttcccga ggacatgagt ctgtaggagc aagggcacaa actgcagctg tgagtgcgtg	2400
tgtgtgattt ggtgtaggta ggtctgttt ccacttgatg gggcctgggt ttgttctgg	2460
ggctggaatg ctgggtatgc tctgtgacaa ggctacgctg acaatcagtt aaacacaccg	2520
gagaagaacc atttcatgc acctatatt tctgtgtaca catctattct caaagctaaa	2580
gggtatgaaa gtgcctgcct tgtttatagc cacttgtgag taaaatttt ttgcatttt	2640

cacaaattat actttatata aggcattcca cacctaagaa ctagttttgg gaaatgtagc 2700
cctgggttta atgtcaaatc aaggcaaaag gaattaaata atgtactttt ggctaaaaaa 2760
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aa 2802

<210> 4
<211> 473
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 4

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

Met Phe Lys Gly Ile Ile Ser Phe Ala Lys Val Ile Ser Tyr Phe Arg
 290 295 300
 Asp Leu Pro Ile Glu Asp Gln Ile Ser Leu Leu Lys Gly Ala Ala Phe
 305 310 315 320
 Glu Leu Cys Gln Leu Arg Phe Asn Thr Val Phe Asn Ala Glu Thr Gly
 325 330 335
 Thr Trp Glu Cys Gly Arg Leu Ser Tyr Cys Leu Glu Asp Thr Ala Gly
 340 345 350
 Gly Phe Gln Gln Leu Leu Leu Glu Pro Met Leu Lys Phe His Tyr Met
 355 360 365
 Leu Lys Lys Leu Gln Leu His Glu Glu Glu Tyr Val Leu Met Gln Ala
 370 375 380
 Ile Ser Leu Phe Ser Pro Asp Arg Pro Gly Val Leu Gln His Arg Val
 385 390 395 400
 Val Asp Gln Leu Gln Glu Gln Phe Ala Ile Thr Leu Lys Ser Tyr Ile
 405 410 415
 Glu Cys Asn Arg Pro Gln Pro Ala His Arg Phe Leu Phe Leu Lys Ile
 420 425 430
 Met Ala Met Leu Thr Glu Leu Arg Ser Ile Asn Ala Gln His Thr Gln
 435 440 445
 Arg Leu Leu Arg Ile Gln Asp Ile His Pro Phe Ala Thr Pro Leu Met
 450 455 460
 Gln Glu Leu Phe Gly Ile Thr Gly Ser
 465 470
 <210> 5
 <211> 434
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 5
 Met Glu Val Arg Pro Lys Glu Ser Trp Asn His Ala Asp Phe Val His
 1 5 10 15
 Cys Glu Asp Thr Glu Ser Val Pro Gly Lys Pro Ser Val Asn Ala Asp
 20 25 30
 Glu Glu Val Gly Gly Pro Gln Ile Cys Arg Val Cys Gly Asp Lys Ala
 35 40 45
 Thr Gly Tyr His Phe Asn Val Met Thr Cys Glu Gly Cys Lys Gly Phe
 50 55 60
 Phe Arg Arg Ala Met Lys Arg Asn Ala Arg Leu Arg Cys Pro Phe Arg
 65 70 75 80
 Lys Gly Ala Cys Glu Ile Thr Arg Lys Thr Arg Arg Gln Cys Gln Ala
 85 90 95
 Cys Arg Leu Arg Lys Cys Leu Glu Ser Gly Met Lys Lys Glu Met Ile
 100 105 110
 Met Ser Asp Glu Ala Val Glu Glu Arg Arg Ala Leu Ile Lys Arg Lys

115	120	125
Lys Ser Glu Arg Thr Gly Thr Gln Pro Leu Gly Val Gln Gly Leu Thr		
130	135	140
Glu Glu Gln Arg Met Met Ile Arg Glu Leu Met Asp Ala Gln Met Lys		
145	150	155
Thr Phe Asp Thr Thr Phe Ser His Phe Lys Asn Phe Arg Leu Pro Gly		
165	170	175
Val Leu Ser Ser Gly Cys Glu Leu Pro Glu Ser Leu Gln Ala Pro Ser		
180	185	190
Arg Glu Glu Ala Ala Lys Trp Ser Gln Val Arg Lys Asp Leu Cys Ser		
195	200	205
Leu Lys Val Ser Leu Gln Leu Arg Gly Glu Asp Gly Ser Val Trp Asn		
210	215	220
Tyr Lys Pro Pro Ala Asp Ser Gly Gly Lys Glu Ile Phe Ser Leu Leu		
225	230	235
Pro His Met Ala Asp Met Ser Thr Tyr Met Phe Lys Gly Ile Ile Ser		
245	250	255
Phe Ala Lys Val Ile Ser Tyr Phe Arg Asp Leu Pro Ile Glu Asp Gln		
260	265	270
Ile Ser Leu Leu Lys Gly Ala Ala Phe Glu Leu Cys Gln Leu Arg Phe		
275	280	285
Asn Thr Val Phe Asn Ala Glu Thr Gly Thr Trp Glu Cys Gly Arg Leu		
290	295	300
Ser Tyr Cys Leu Glu Asp Thr Ala Gly Gly Phe Gln Gln Leu Leu Leu		
305	310	315
Glu Pro Met Leu Lys Phe His Tyr Met Leu Lys Lys Leu Gln Leu His		
325	330	335
Glu Glu Glu Tyr Val Leu Met Gln Ala Ile Ser Leu Phe Ser Pro Asp		
340	345	350
Arg Pro Gly Val Leu Gln His Arg Val Val Asp Gln Leu Gln Glu Gln		
355	360	365
Phe Ala Ile Thr Leu Lys Ser Tyr Ile Glu Cys Asn Arg Pro Gln Pro		
370	375	380
Ala His Arg Phe Leu Phe Leu Lys Ile Met Ala Met Leu Thr Glu Leu		
385	390	395
Arg Ser Ile Asn Ala Gln His Thr Gln Arg Leu Leu Arg Ile Gln Asp		
405	410	415
Ile His Pro Phe Ala Thr Pro Leu Met Gln Glu Leu Phe Gly Ile Thr		
420	425	430
Gly Ser		

(57) 청구의 범위

청구항 1

비타민 D 수용체 연관된(VDRR) 폴리펩티드를 인코딩하는 인접하는 핵산 서열을 포함하는 포유동물, 바람직하게는 인간의 단리되거나 재조합된 핵산.

청구항 2

신규한 VDRR 폴리펩티드를 인코딩하는 도 1 또는 도 7의 단리되거나 재조합된 DNA/핵산 또는 그의 대립 유전자.

청구항 3

제 1 항 또는 제 2 항에 있어서,

9개의 시스테인 잔기를 갖는 약 77개의 아미노산을 포함하는 DNA-결합 도메인(DBD)을 함유하는 VDRR 폴리펩티드를 인코딩하고, 이때 상기 DBD가 (i) 인간 비타민 D 수용체(hVDR)의 DBD와 약 60% 이상의 아미노산 서열 유사성; 및 (ii) 제노퍼스 라에비스(*Xenopus laevis*)로부터 단리된 오판(orphan) 핵 수용체 1(xONR1)의 DBD와 약 65% 이상의 아미노산 서열 유사성을 가짐을 특징으로 하는 핵산.

청구항 4

제 3 항에 있어서,

DBD가 (i) hVDR의 DBD와 약 65%의 아미노산 서열 유사성; 및 (ii) xONR1의 DBD와 약 71%의 아미노산 서열 유사성을 가짐을 특징으로 하는 핵산.

청구항 5

제 1 항 내지 제 4 항중 어느 한 항에 있어서,

VDRR 폴리펩티드를 인코딩하고, 이때, 상기 폴리펩티드의 리간드-결합 도메인(LBD)이 hVDR 및 xONR1 각각의 LBD에 대해 (i) hVDR의 LBD와 약 30% 이상의 아미노산 서열 유사성; 및 (ii) xONR1의 LBD와 약 40% 이상의 아미노산 서열 유사성을 가짐을 특징으로 하는 핵산.

청구항 6

제 5 항에 있어서,

LBD가 (i) hVDR의 LBD와 약 35% 이상의 아미노산 서열 유사성; 및 (ii) xONR1의 LBD와 약 45% 이상의 아미노산 서열 유사성을 가짐을 특징으로 하는 핵산.

청구항 7

제 6 항에 있어서,

LBD가 (i) hVDR의 LBD와 약 42%의 아미노산 서열 유사성; 및 (ii) xONR1의 LBD와 약 54%의 아미노산 서열 유사성을 가짐을 특징으로 하는 핵산.

청구항 8

제 1 항 내지 제 7 항중 어느 한 항에 있어서,

핵산 서열이 도 1 또는 도 7에 제공된 서열이거나 이의 대립유전자인 핵산.

청구항 9

제 8 항에 있어서,

핵산 서열이 도 1 또는 도 7에 제공된 서열과 동일하거나 실질적으로 동일한 핵산.

청구항 10

시료중의 VDRR 폴리펩티드를 인코딩하는 핵산 서열의 검출을 위한 핵산 프로브.

청구항 11

제 10 항에 있어서,

도 1 또는 도 7에 제공된 핵산 서열중 14개 이상의 인접한 뉴클레오티드를 포함하는 핵산 프로브.

청구항 12

낮은 엄격성의 하이브리드화 조건하에서 제 10 항 또는 제 11 항의 핵산 프로브를 이용하여 게놈 또는 cDNA 라이브러리를 스크리닝하는 단계, 및

상기 프로브에 대해 실질적으로 하이브리드 형성을 나타내는 클론을 확인하는 단계를 포함하는,

VDRR 폴리펩티드를 인코딩하는 클론을 확인하는 방법.

청구항 13

제 1 항 내지 제 9 항중 어느 한 항의 핵산을 포함하는 발현 벡터.

청구항 14

제 1 항 내지 제 9 항중 어느 한 항의 핵산을 포함하는 세포.

청구항 15

제 14 항의 발현 벡터를 포함하는 세포.

청구항 16

제 1 항 내지 제 9 항중 어느 한 항의 핵산을 적합한 숙주 세포에서 발현시킴을 포함하는, VDRR 폴리펩티드의 재조합 생산 방법.

청구항 17

제 16 항에 있어서,
숙주 세포가 진핵세포인 방법.

청구항 18

단리되거나 재조합된 포유동물, 바람직하게는 인간의 VDRR 폴리펩티드.

청구항 19

제 18 항에 있어서,
도 4 또는 도 8에 제공된 것과 실질적으로 동일하거나 동일한 아미노산 서열을 포함하는 단리되거나 재조합된 VDRR 폴리펩티드.

청구항 20

단백질을 포유동물에 주입함을 포함하는, 제 18 항 또는 제 19 항의 폴리펩티드에 대해 특이적인 단일클론성 또는 다중클론성 항체의 제조 방법.

청구항 21

제 18 항 또는 제 19 항의 단리되거나 재조합된 VDRR 폴리펩티드 및 하나 이상의 치료학적으로 허용가능한 부형제를 포함하는 약학 조성물.

청구항 22

세포에 근거한 리포터 검정법, 형질전이 동물 리포터 검정법 또는 시험관내 결합 검정법에 의해 VDRR에 대한 리간드를 확인하는 방법.

청구항 23

대사성, 증식성 또는 염증성 증상에 이용되는 VDRR 폴리펩티드 신호 전달의 작용물질 또는 길항물질을 스크리닝함을 포함하는, VDRR 폴리펩티드에 의해 영향을 받는 증상의 치료를 위한 물질을 확인하는 방법.

청구항 24

약제로서 사용하기 위한, 제 18 항 또는 제 19 항의 포유동물, 바람직하게는 인간의 VDRR 폴리펩티드.

청구항 25

대사성, 증식성 또는 염증성 증상 치료용 약제의 제조를 위한, VDRR 폴리펩티드 신호 전달의 작용물질 또는 길항물질과 같은 VDRR 신호 전달에 영향을 주는 물질의 용도.

청구항 26

제 25 항에 있어서,
비만, 당뇨, 식욕 감퇴, 지단백질 결핍, 과지질혈증, 과콜레스테롤혈증 또는 과지단백질혈증 치료용 약제의 제조를 위한, VDRR 신호 전달에 영향을 주는 물질의 용도.

청구항 27

골다공증, 류마티스 관절염, 양성 종양 및 악성 종양, 과증식성 피부 질환 또는 부갑상선항진증 치료용 약제의 제조를 위한, VDRR 신호 전달에 영향을 주는 물질의 용도.

청구항 28

제 25 항 내지 제 27 항중 어느 한 항에 있어서,
VDRR 신호 전달에 영향을 주는 물질이 약 100 내지 약 5000a, 바람직하게는 약 3000a의 분자량을 갖는 천연 또는 합성 기원(origin)의 화학 분자인 용도.

청구항 29

VDRR 폴리펩티드의 발현을 인코딩하는 제 13 항의 핵산 벡터를 포유동물에 도입함을 포함하고, 이때 상기 핵산 벡터가 세포를 생체내 형질전환시키고 형질전환된 상기 세포에 상기 폴리펩티드를 발현시킬 수 있는,

대사성, 증식성 또는 염증성 증상의 치료 방법.

청구항 30

VDRR 신호 전달에 영향을 주는 물질을 치료 효과량으로 투여하는, 대사성, 증식성 또는 염증성 질환의 치료 방법.

청구항 31

제 30 항에 있어서,

VDRR 신호 전달에 영향을 주는 물질이 약 100 내지 약 500Da, 바람직하게는 약 300Da의 분자량을 갖는 천연 또는 합성 기원의 화학 분자인 방법.

도면

도면1

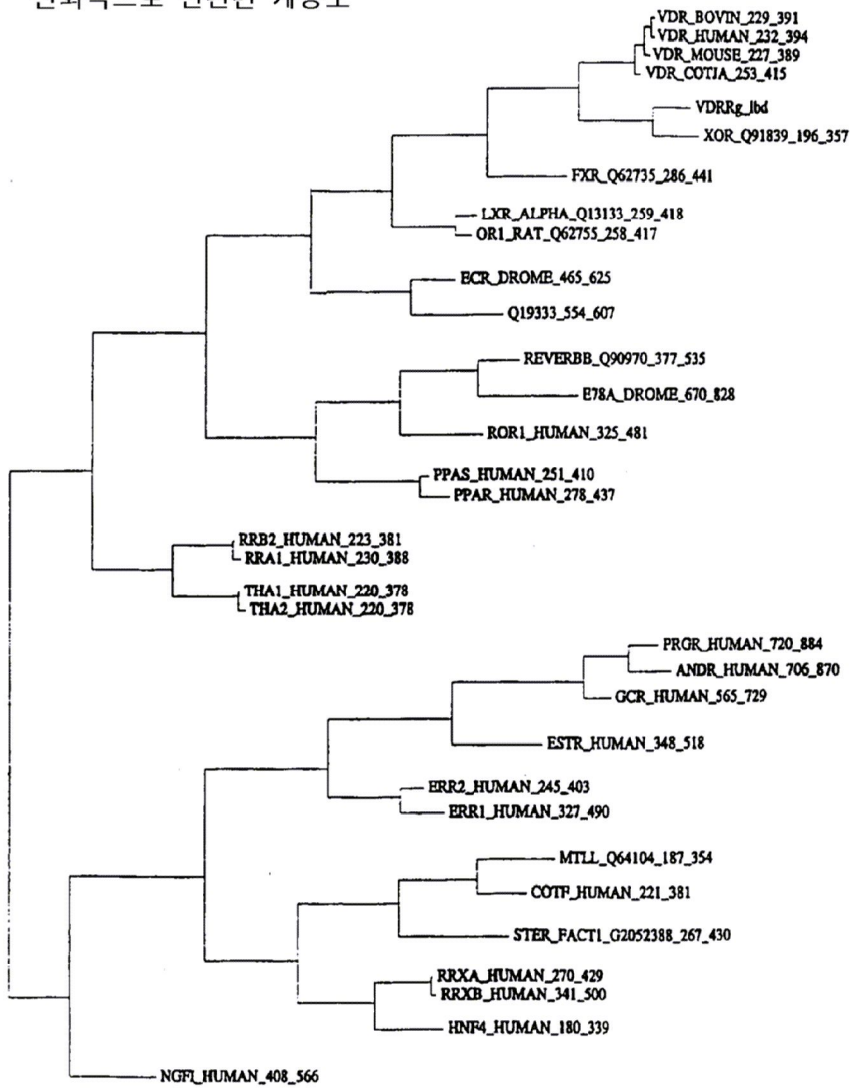
```

1  CTTCTGAAAGT TTCTAGAAATGATAGTTAAAT TCTTGGGAGG GGAAGACGAA
51  GCACCTGCCCTT TACTTCAGTG GGAATCTCTGG CTCTAGGCTCTG CAAGGCCAAGT
101  GTTCACAGTG AAAAAAGCAA GAGAAATAAGC TAATACTCTCT GTCTGAAACA
151  AGGCAGCGGC TCCTTGGTAA AGCTACTCCT TGATCGATCC TTGCAACCGG
201  ATTGTTCAAA GTGGACCCCA GGGGAGAAGT CGGAGCAAAAG AACTTACCAC
251  CAAGCAGTCC AAGAGGCCCA GAAGCAAAAC TGGAGGTGAG ACCCAAAAGAA
301  AGCTGGAAAC ATGCTGACTT TGTACACTGT GAGGACACAG AGTCTGTTCC
351  TGGAAAGCCC AGTGTCAACG CAGATGAGGA AATTGGAGGT CCCCAAATCT
401  CCGCTGTATG TGGGGACAAG GCCACTGGCT ATCACITCAA TGTCATGACA
451  TGTGAAGGAT GCAAGGGCTT TTCAAGGAGG GCCATGAAAC GCAACGCCCG
501  GCTGAGGTGC CCTTCGGGA AGGGCCCGCT CGAGATCACC CGGAAGACCC
551  GCGCAGAGTG CCAGGCCCTG CCGCTCCGCA AGTGCCCTGGA GAGCGGCATG
601  AAGAAAGGAG TGATCATGTC CGACGAGGCC GTGGAGGAGA GCGGGGCTT
651  GATCAAGCGG AAGAAAAGTG AACGGACAGG GACTCAGCCA CTGGGAGTGC
701  ACGGGCTGAC AGAGGAGCAG CCGATGATGA TCAGGGAGCT GATGGAGCT
751  CAGATGAAAA CCTTTGACAC TACCTTCTCC CATTTCAAAG ATTCCGGCT
801  GCCAGGGGTG CTTAGCAGTG GCTCCGAGTT GCCAGAGTCT CTGCAAGGCC
851  CATCGAGGGA AGAAGCTGCC AAGTGGAGCC AGGTCCGGAA AGATCTGTGC
901  TCTTTGAAGG TCTCTCTGCA GCTCCGGGGG GAGGATGGCA GTGTCTGAAA
951  CTACAAACCC CCAGCCGACA GTGGCGGAAA AGAGATCTTC TCCTCTGTC
1001  CCCACATGGC TGACATGTCA ACCTACATGT TCAAAGGCAT CATCAGCTTT
1051  GCCAAAGTCA TCTCTACTT CAGGGACTTG CCCATCGAGG ACCAGATCTC
1101  CCTGCTGAAG GGGGCCGCTT TCGAGCTGTG TCAACTGAGA TTCAACACAG
1151  TGTTCAAAGC GGAAGACTGA ACCTGGAGT GTGGCCGGCT GTCTACTGC
1201  TTGGAAGACA CTGCAAGTGG CTTCACGCAA CTCTACTGG AGCCCATGCT
1251  GAAATTCAC TACATGCTGA AGAAGCTGCA GCTGCATGAG GAGGAGTATG
1301  TGCTGATGCA GCGCATCTCC CTCTCTCC CAGACCGGCC AGGTGTGCTG
1351  CAGCACCGCG TGGTGGACCA GCTGCAGGAG CAATTGCGCA TTACTCTGAA
1401  GTCTACATT GAATGCAATC GGGCCAGCC TGCTCATAGG TTCTGTCTCC
1451  TGAAGATCAT GGCTATGCTT ACCGAGCTCC GAGGATCAA TCTCAGCAC
1501  ACCCAGCGGC TGCTGCTCAT CCAGGACATA CACCCCTTG CTACGCCCT
1551  CATGCAGGAG TTGTTCCGCA TCACAGGTAG CTGAGCGGCT GCGCTTGGGT
1601  GACACCTCCG AGAGGCGGCC AGACCCAGAG CCCTCTGAGC CGCCACTCCC
1651  GGGCCAAGAC AGATGGACAC TGCCAAGAGC CGACAAAGCC CTGCTGGCTT
1701  GTCTCCCTAG GGAAATCCTG CTATGACAGC TGCTTAGCAT TCTCAGGAA
1751  GGAGATGGGT GCGCCGCCAC CCCAGTTTCA TCTGTAGGGA GTGAAGCCAC
1801  AGACTCTTAC GTGGAGAGTG CACTGACCTG TAGGTCAAGG CATTGAGAGA
1851  GGCAAGGTTG CCCTTTCCTT TTAAGAGGCC CTGTGGTCTG GGGAGAAATC
1901  CCTCAGATCC CACTAAAGTG TCAAGGTGTG GAAGGGACCA AGCGACCAAG
1951  GATAGGCCAT CTGGGGTCTA TGCCACATA CCCACCTTG TTCGCTTCCT
2001  GAGTCTTTTC ATTGCTACCT CTAATAGTCC TGCTCCCACT TCCCACTCG
2051  TTCCCTCCT CTTCCGAGCT GCTTTGTGG CTCAAGGCCT GTACTCATCG
2101  GCAAGGTGAT GAGTATCTGT GGGAGTCTCT TAGAGAGATG AGAAGCCAGG
2151  ACGCTGCGAC CAAATGTCAO AAGCTTGGCA TGACCTCAT CCGGCCACAT
2201  CATTCTGTGT CTCTGCATCC ATTTGAACAC ATTATTAGC ACTGATAATA
2251  GGTAGCCTGC TGTGGGTAT ACAGCATTGA CTCAGATATA GATCCTGAGC
2301  TCACAGAGTT TATAGTAAA AAAACAAACA GAAACAAAA CAATTGGAT
2351  CAAAAGGAGA AAATGATAAG TGACAAAAGC AGCACAAGGA ATTTCCCTGT
2401  GTGGATGCTG AGCTGTGATG GCAGGCACTG GGTACCCAAG TGAAGGTTCC
2451  CGAGGACATG AGTCTGTAGG AGCAAGGGCA CAACTGCGAG CTGTGAGTGC
2501  GTGTGTGTGA TTTGGTGTAG GTAGGTCTGT TTGCCACTTG ATGGGGCTG
2551  GGTTTGTTCC TGGGGCTGGA ATGCTGGTA TGCTCTGTGA CAAGGCTAGC
2601  CTGACAATCA GTTAAACACA CCGGAGAGA ACCATTACA TGCACCTTAT
2651  ATTTCTGTGT ACACATCTAT TCTCAAAGCT AAAGGTATG AAAGTGCCTG
2701  CCTTGTATT AGCCACTTGT GAGTAAAAAT TTTTTCGAT TTTACAAAAT
2751  TATACTTTAT ATAAGGCATT CCACACCTAA GAACTAGTTT TGGGAAATGT
2801  AGCCCTGGGT TTAATGTCAA ATCAAAGCAA AAGGAATTA ATATGTAAT
2851  TTTGGCTAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA
2901  AAAAA

```


도면3

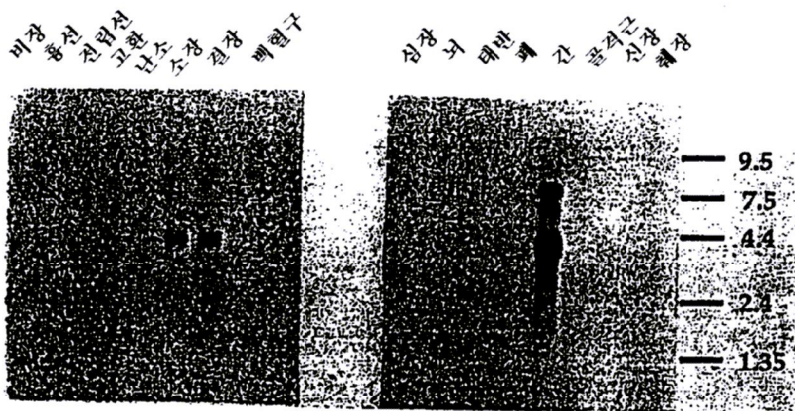
진화적으로 연관된 계통도



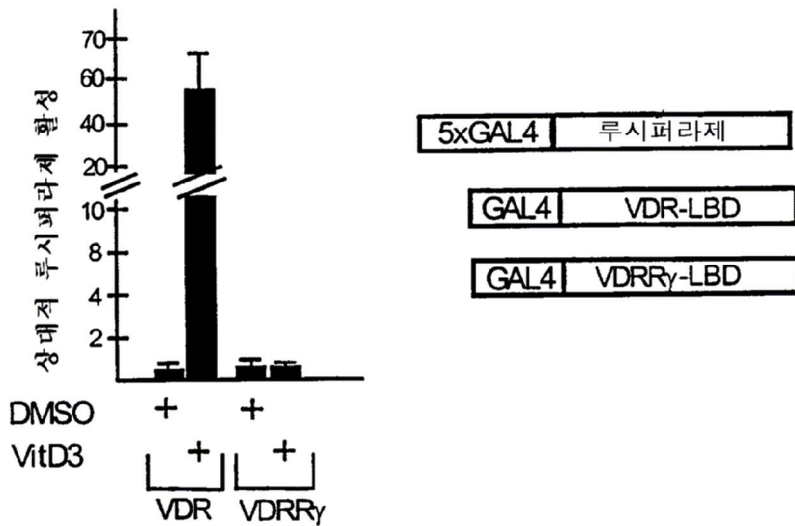
도면4

1 MEVRPKESWN HADVFHCEDT ESVPKPSVN ADEEVGGPQI CRVCGDKATG
 51 YHFNVMTC EG CKGFFRRAMK RNARLRCPFR KGACEITRKT RRQCQACRLR
 101 KCLESGMKKE MIMSDEAVEE RRALIKRKKS ERTGTQPLGV QGLTEEQRMM
 151 IRELMDAQMK TFDTTFSHK NFRLPVLS GCELPESLQA PSREEAAKWS
 201 QVRKDLCSLK VSLQLRGEDG SVWNYKPPAD SGGKEIFSLL PHMADMSTYM
 251 FKGIISFAKV ISYFRDLPIE DQISLLKGAA FELCQLRFNT VFNAETGTWE
 301 CGRLSYCLED TAGGFQQLLL EPMLKFHYML KKLQLHEEEY VLMQAISLFS
 351 PDRPGVLQHR VVDQLQEQA ITLKSYIECN RPQPAHRFLF LKIMAMLTEL
 401 RSINAQHTQR LLRIQDIHPF ATPLMQELFG ITGS

도면5



도면6



도면7a

TGAATTCTGTTGGGCTGCTGGGTATAGTGCTGGCAGXXXXXX 40
 TGAGGCCAAGGACAGCAGCATGACAGTCAACAGGACTCAC 80
 CACTTCAAGGAGGGGTCCCTCAGAGCACCTGCCATACCCC 120
 TGCACAGTGCTGGGCTGAGTTGGCTTCAAACCATCCAAAG 160
 AGGCCCAAGCAAAACCTGGAGGTGAGACCCAAAGAAAGC 200
 TGGAAACCATGCTGACTTTGTACACTGTGAGGACACAGAGT 240
 CTGTTCCTGGAAAGCCAGTGTCAACGCAGATGAGGAAGT 280
 CGGAGGTCCCCAAATCTGCCGTGTATGTGGGACAAAGGCC 320
 ACTGGCTATCACTTCAATGTTCATGACATGTGAAGGATGCA 360
 AGGGCTTTTTCAGGAGGGCCATGAAACGCAACGCCCGGCT 400
 GAGGTGCCCTTCCGGAAGGGCGCTGGCAGATCACCCGG 440
 AAGACCCGGCGACAGTCCAGGCCCTGCCGCTGCGCAAGT 480
 GCCTGGAGAGCGCATGAAGAAGGAGATGATCATGTCCGA 520
 CGAGCCGCTGGAGGAGAGGGCGGCTTGATCAAGCGGAAG 560
 AAAAGTGAACGGACAGGACTCAGCCACTGGGAGTGACAGG 600
 GCTGACAGAGGAGCAGCGATGATGATCAGGGAGCTGAT 640
 GGACGCTCAGATGAAAACCTTTGACACTACCTTCTCCCAT 680
 TTCAAGAATTTCCGGCTGCCAGGGGTGCTTAGCAGTGGCT 720
 GCGAGTTCAGAGTCTCTGACAGGCCCATCGAGGGAAGA 760
 AGCTGCCAAGTGGAGCCAGGTCCGGAAGATCTGTGCTCT 800
 TTGAAGGTCTCTCTGACAGTGGGGGGGAGGATGGCAGTG 840
 TCTGGAACTACAAACCCCGAGCCGACAGTGGCGGGAAAGA 880
 GATCTTCTCCCTGCTGCCCCACATGGCTGACATGTCAACC 920
 TACATGTTCAAAGGCATCATCAGCTTTGCCAAAGTCATCT 960
 CCTACTTCAGGGACTTGCCCATGAGGACCCAGATCTCCCT 1000
 GCTGAAGGGGGCGCTTTGGAGCTGTGTCAACTGAGATTTC 1040
 AACACAGTGTTCACCGGAGACTGGAACTGGGAGTGTG 1080
 GCCGGCTGTCTACTGCTTGGAGACACTGCAGGTGGCTT 1120
 CCAGCAACTTCTACTGGAGCCCATGCTGAAATTCCACTAC 1160
 ATGCTGAAGAAGCTGCAGCTGCATGAGGAGGAGTATGTGC 1200
 TGATGCAGGCCATCTCCCTCTCTCTCCCGAGACCGCCAGG 1240
 TGTGCTGCAGCACCGGTGGTGGACCACTGCAGGAGCAA 1280
 TTGGCCATTACTCTGAAGTCTACATGGAATGCAATCGGC 1320
 CCCAGCCTGCTCATAGGTCTTGTTCCTGAAGATCATGGC 1360
 TATGCTCACCGAGCTCCGAGCATCAATGCTCAGCACACC 1400
 CAGCGGCTGCTGGCATCCAGGACATACACCCCTTTGCTA 1440