

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第1部門第1区分

【発行日】平成16年12月24日(2004.12.24)

【公表番号】特表2003-524387(P2003-524387A)

【公表日】平成15年8月19日(2003.8.19)

【出願番号】特願2000-585407(P2000-585407)

【国際特許分類第7版】

C 1 2 N	15/09
A 6 1 P	19/02
A 6 1 P	29/00
A 6 1 P	35/00
C 0 7 K	14/78
C 0 7 K	16/18
C 0 7 K	19/00
C 1 2 N	1/19
C 1 2 N	1/21
C 1 2 N	5/10
C 1 2 P	21/02
C 1 2 P	21/08
G 0 1 N	33/15
G 0 1 N	33/50
G 0 1 N	33/53
G 0 1 N	33/577
// A 6 1 K	35/76
A 6 1 K	38/00
A 6 1 K	39/395
A 6 1 K	45/00
A 6 1 K	48/00

【F I】

C 1 2 N	15/00	A
A 6 1 P	19/02	
A 6 1 P	29/00	1 0 1
A 6 1 P	35/00	
C 0 7 K	14/78	
C 0 7 K	16/18	
C 0 7 K	19/00	
C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21	
C 1 2 P	21/02	C
C 1 2 P	21/08	
G 0 1 N	33/15	Z
G 0 1 N	33/50	P
G 0 1 N	33/50	Z
G 0 1 N	33/53	D
G 0 1 N	33/577	B
C 1 2 N	5/00	B
A 6 1 K	37/02	
A 6 1 K	35/76	
A 6 1 K	39/395	D

A 6 1 K 39/395
A 6 1 K 45/00
A 6 1 K 48/00

N

【手続補正書】

【提出日】平成13年6月4日(2001.6.4)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 1 4 1

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 1 4 1】

実施例7：ヒトPRO323をコードするcDNAクローンの単離

上記実施例1に記載したように他のEST配列に対してコンセンサスDNA配列を組み立てた。このコンセンサス配列を、ここでDNA30875と命名する。DNA30875コンセンサス配列に基づいて、1)PCRにより対象とする配列を含むcDNAライブラリを同定するため、及び2)PRO323の全長コード配列のクローンを単離するプローブとして使用するために、オリゴヌクレオチドを合成した。

PCRプライマー(正及び逆)を合成した：

正方向PCRプライマー1 5'-AGTTCTGGTCAGCCTATGTGCC-3' (配列番号：25)

正方向PCRプライマー2 5'-CGTGATGGTGTCTTGTCCATGGG-3' (配列番号：26)

)

逆方向PCRプライマー 5'-CTCCACCAATCCCGATGAACCTGG-3' (配列番号：27)

)

さらに、以下のヌクレオチド配列を持つ合成オリゴヌクレオチドハイブリッド形成プローブをコンセンサスDNA30875配列から作成した。

ハイブリッド形成プローブ

5'-GAGCAGATTGACCTCATACGCCGATGTGTGCCCTATTCTGAGCTGGA-3' (配列番号：28)

)

全長クローンの供給源について幾つかのライブラリをスクリーニングするために、ライブラリからのDNAを上で同定したPCRプライマー対でのPCR増幅によりスクリーニングした。次いで、ポジティブライブラリを、プローブオリゴヌクレオチド及びPCRプライマー対の一方を用いてPRO323遺伝子をコードするクローンを単離するのに使用した。cDNAライブラリー作成のためのRNAは、ヒト胎児肝臓組織(LIB6)から単離した。

上記のように単離したクローンのDNA配列決定により、PRO323の全長DNA配列[ここではDNA35595-1228と命名](配列番号：23)及びPRO323の誘導タンパク質配列が得られた。

DNA35595-1228の全ヌクレオチド配列をFig9(配列番号：23)に示す。クローンDNA35595-1228は、単一のオープンリーディングフレームを含み、ヌクレオチド位置110-112に見かけの翻訳開始部位を持ち、ヌクレオチド位置1409-1411の停止コドンで終端する(Fig9)。予測されるポリペプチド前駆体は433アミノ酸長である(Fig10)。Fig10に示した全長PRO323タンパク質は約47,787ダルトンの推定分子量及び約6.11のpIを有する。クローンDNA35595-1228はATCCに寄託され、ATCC寄託番号209528が付与された。

全長PRO323ポリペプチドのアミノ酸配列の分析により、それが様々なジペプチダーゼタンパク質と有意な相同性を有していることが示唆され、PRO323が新規なジペプチダーゼタンパク質であることを示している。