

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2004 年 2 月 19 日 (19.02.2004)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2004/014414 A1

(51) 国際特許分類: A61K 38/17, 31/7088, 39/395, 45/00, 48/00, A61P 3/04, 5/00, 5/38, 7/00, 9/00, 13/12, 15/00, 21/00, 21/04, 25/00, 25/02, 25/08, 25/14, 25/18, 25/20, 25/24, 27/02, 37/00, C12N 5/06, 5/10, A01K 67/027, C12Q 1/02, 1/68, C07K 14/47

(21) 国際出願番号: PCT/JP2003/010078

(22) 国際出願日: 2003 年 8 月 7 日 (07.08.2003)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2002-232684 2002 年 8 月 9 日 (09.08.2002) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 武田薬品工業株式会社 (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.) [JP/JP]; 〒541-0045 大阪府 大阪市中央区 道修町四丁目 1 番 1 号 Osaka (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてののみ): 春日 久男 (KASUGA, Hisao) [JP/JP]; 〒560-0051 大阪府 豊中市 永楽荘 1 丁目 9-5-2 15 Osaka (JP). 日沼 州司 (HINUMA, Shuji) [JP/JP]; 〒305-0821 茨城県 つくば市 春日 1 丁目 7-9-1 4 0 2 Ibaraki (JP). 宮下 英昭 (MIYASHITA, Hideaki) [JP/JP]; 〒583-0865 大阪府 羽曳野市 羽曳が丘西 1 丁目 5-3 6 Osaka (JP). 松岡 邦

夫 (MATSUOKA, Kunio) [JP/JP]; 〒564-0004 大阪府 吹田市 原町 1 丁目 1 8-6 Osaka (JP).

(74) 代理人: 高橋 秀一, 外 (TAKAHASHI, Shuichi et al.); 〒532-0024 大阪府 大阪市淀川区 十三本町 2 丁目 1 7 番 8 5 号 武田薬品工業株式会社大阪工場内 Osaka (JP).

(81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:
— 国際調査報告書

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: NOVEL USES OF RFRP AND OT7T022

(54) 発明の名称: RFRP および OT7T022 の新規用途

(57) Abstract: RFRP, OT7T022, DNAs encoding the same and an OT7T022 agonist are useful as preventives, remedies and improving agents for myopathy, adrenal dysfunction, twitching, aggressive behaviors, gait abnormality, body temperature rise, leukopenia, thrombopenia, increase in voluntary behaviors, muscular depression, etc. A nonhuman animal with the insufficient expression of an OT7T022 gene is useful in screening a preventive, a remedy or an improving drug for the above diseases.

(57) 要約: RFRP および OT7T022 またはそれらをコードする DNA や OT7T022 アゴニストは筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下などの予防・治療・改善薬として有用であり、OT7T022 遺伝子発現不全非ヒト動物は、上記疾患の予防・治療・改善薬のスクリーニングに有用である。



WO 2004/014414 A1

明 細 書

RFRPおよびOT7T022の新規用途

5 技術分野

本発明は、RFRPおよびRFRPのレセプター蛋白質であるOT7T022の新規用途に関する。

さらに、本発明は、OT7T022遺伝子が不活性化された非ヒト哺乳動物の胚幹細胞、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト哺乳動物、それらを用
10 いるスクリーニング方法およびそのスクリーニングによって得られうる予防・治療・改善薬などに関する。

背景技術

新規な受容体OT7T022とそれに結合するC末端がLPL RF
15 amide様、LPL RS amide様、LPQ RF amide様またはLPL RL amide様のペプチド(RFRP-1、RFRP-2、RFRP-3)が報告されている(WO00/29441号)。

OT7T022とRFRP-1、RFRP-2、RFRP-3がプロラクチン分泌に関与していることが報告されている(WO01/66134号)。

20 RFRP-1に対応するNP SFやRFRP-3に対応するNP VFがOT7T022に結合し、抗オピオイドに関与していることが記載されている(The Journal of Biological Chemistry, vol.276, No.40, p36961-36969, 2001)。

しかし、RFRPおよびOT7T022の生体内における機能および作用
25 機序については、さらに解明すべき点が数多く残されている。

OT7T022遺伝子が不活性化された非ヒト動物ES細胞の作製に成功すれば、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物を作出することができる。そして、得られるOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物は、OT7T0

22により誘導され得る種々の生物活性を欠失するため、OT7T022の生物活性の不活性化を原因とする疾病のモデルとなり、これらの疾病の原因究明および治療法の検討が可能となる。

5 本発明は、RFRPおよびOT7T022のさらなる機能を解明し、新たな医薬を提供することを課題とする。

発明の開示

本発明者らは、上記の課題に鑑み、鋭意研究を重ねた結果、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物を作出することに成功し、該動物の発現型として、予想外にも体温上昇、腎臓絶対重量の増加、胸腺絶対重量の増加、白血球数の減少、血小板数の減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、攻撃行動の誘発、後退歩行、筋力の低下などが起こることを見出した。本発明者らは、これらの知見に基づいて、さらに検討を重ねた結果、本発明を完成するに至った。

15 すなわち、本発明は、

〔1〕配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤、

20 〔2〕ポリペプチドが配列番号：1、配列番号：3、配列番号：5、配列番号：7、配列番号：9または配列番号：22で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチドである上記〔1〕記載の剤、

25 〔3〕部分ペプチドが、

（i）配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第88番目（Leu）～第92番目（Phe）のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、それぞれ配列番号：1または3で表わされるアミノ酸配列

の第1番目 (Met) ～第87番目 (Asn) のアミノ酸配列のC末端から数えて1～87個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるペプチド (ヒトRFRP-1)、

(ii) 配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第101番目 (Ser) ～第112番目 (Ser) のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、それぞれ配列番号：1または3で表わされるアミノ酸配列の第1番目 (Met) ～第100番目 (Arg) のアミノ酸配列のC末端から数えて1～100個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるペプチド (ヒトRFRP-2)、

10 (iii) 配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第127番目 (Leu) ～第131番目 (Phe) のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、それぞれ配列番号：1または3で表わされるアミノ酸配列の第1番目 (Met) ～第126番目 (Asn) のアミノ酸配列のC末端から数えて1～126個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるペプチド (ヒトRFRP-3)、

15 (iv) 配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第88番目 (Leu) ～第92番目 (Phe) のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第1番目 (Met) ～第87番目 (Lys) のアミノ酸配列のC末端から数えて1～87個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるペプチド (ウシRFRP-1)、

20 (v) 配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第101番目 (Ser) ～第112番目 (Leu) のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第1番目 (Met) ～第100番目 (Arg) のアミノ酸配列のC末端から数えて1～100個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるペプチド (ウシRFRP-2)、

25 (vi) 配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第127番目 (Leu) ～第131番目 (Phe) のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第1番目 (Met) ～第126番目

(Asn) のアミノ酸配列のC末端から数えて1～126個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるペプチド（ウシRFRP-3）、

- (vii) 配列番号：9で表わされるアミノ酸配列の第90番目（Leu）～第94番目（Phe）のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、配列番号：9で表わされるアミノ酸配列の第1番目（Met）～第89番目（Asn）のアミノ酸配列のC末端から数えて1～89個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるペプチド（マウスRFRP-1）、
- 5

- (viii) 配列番号：9で表わされるアミノ酸配列の第121番目（Leu）～第125番目（Phe）のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、配列番号：9で表わされるアミノ酸配列の第1番目（Met）～第120番目（Ser）のアミノ酸配列のC末端から数えて1～120個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるペプチド（マウスRFRP-3）、
- 10

- (ix) 配列番号：7または22で表わされるアミノ酸配列の第90番目（Leu）～第94番目（Phe）のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、それぞれ配列番号：7または22で表わされるアミノ酸配列の第1番目（Met）～第89番目（Val）のアミノ酸配列のC末端から数えて1～89個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるペプチド（ラットRFRP-1）、
- 15

- (x) 配列番号：7または22で表わされるアミノ酸配列の第121番目（Leu）～第125番目（Phe）のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、それぞれ配列番号：7または22で表わされるアミノ酸配列の第1番目（Met）～第120番目（Ser）のアミノ酸配列のC末端から数えて1～120個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるペプチド（ラットRFRP-3）、
- 20

- (xi) 上記（i）～（x）のペプチドのアミノ酸配列に1～5個のアミノ酸が付加したアミノ酸配列からなるペプチド、
- 25

(xii) 上記（i）～（x）のペプチドのアミノ酸配列に1～5個のアミノ酸が挿入されたアミノ酸配列からなるペプチド、

(xiii) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列中の 1 ~ 5 個のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列からなるペプチド、または

(xiv) 上記 (xi) ~ (xiii) の付加・挿入・置換を組み合わせたアミノ酸配列からなるペプチドである上記 [1] 記載の剤、

5 [4] 部分ペプチドが、

(i) 配列番号：1 または配列番号：3 で表わされるアミノ酸配列の第 5 6 番目 (Ser) ~ 第 9 2 番目 (Phe)、第 7 0 番目 (Met) ~ 第 9 2 番目 (Phe)、第 7 3 番目 (Met) ~ 第 9 2 番目 (Phe)、第 8 1 番目 (Met) ~ 第 9 2 番目 (Phe) または第 8 4 番目 (Ser) ~ 第 9 2 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド (ヒト RFRP-1)、

10 (ii) 配列番号：1 または配列番号：3 で表わされるアミノ酸配列の第 1 0 1 番目 (Ser) ~ 第 1 1 2 番目 (Ser) のアミノ酸配列からなるペプチド (ヒト RFRP-2)、

15 (iii) 配列番号：1 または配列番号：3 で表わされるアミノ酸配列の第 1 0 1 番目 (Asn) ~ 第 1 3 1 番目 (Phe)、第 1 0 4 番目 (Asn) ~ 第 1 3 1 番目 (Phe)、第 1 1 5 番目 (Asn) ~ 第 1 3 1 番目 (Phe)、第 1 2 4 番目 (Val) ~ 第 1 3 1 番目 (Phe)、第 1 2 5 番目 (Pro) ~ 第 1 3 1 番目 (Phe)、第 1 2 6 番目 (Asn) ~ 第 1 3 1 番目 (Phe) または第 1 2 7 番目 (Leu) ~ 第 1 3 1 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド (ヒト RFRP-3)、

20 (iv) 配列番号：5 で表わされるアミノ酸配列の第 5 8 番目 (Ser) ~ 第 9 2 番目 (Phe)、第 7 0 番目 (Lys) ~ 第 9 2 番目 (Phe)、第 7 3 番目 (Met) ~ 第 9 2 番目 (Phe)、第 8 1 番目 (Met) ~ 第 9 2 番目 (Phe) または第 8 4 番目 (Ser) ~ 第 9 2 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド (ウシ RFRP-1)、

25 (v) 配列番号：5 で表わされるアミノ酸配列の第 1 0 1 番目 (Ser) ~ 第 1 1 2 番目 (Leu) のアミノ酸配列からなるペプチド (ウシ RFRP-2)、

(vi) 配列番号：5 で表わされるアミノ酸配列の第 1 0 1 番目 (Ser) ~ 第 1 3 1 番目 (Phe)、第 1 0 4 番目 (Ala) ~ 第 1 3 1 番目 (Phe)、第 1 1 5 番

目 (Asn) ～第 1 3 1 番目 (Phe)、第 1 2 4 番目 (Val) ～第 1 3 1 番目 (Phe)、第 1 2 5 番目 (Pro) ～第 1 3 1 番目 (Phe)、第 1 2 6 番目 (Asn) ～第 1 3 1 番目 (Phe) または第 1 2 7 番目 (Leu) ～第 1 3 1 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド (ウシ R F R P - 3) 、

- 5 (vii) 配列番号 : 9 で表わされるアミノ酸配列の第 5 8 番目 (Ser) ～第 9 4 番目 (Phe)、第 7 2 番目 (Val) ～第 9 4 番目 (Phe)、第 7 5 番目 (Met) ～第 9 4 番目 (Phe)、第 8 3 番目 (Val) ～第 9 4 番目 (Phe) または第 8 4 番目 (Pro) ～第 9 4 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド (マウス R F R P - 1) 、

- 10 (viii) 配列番号 : 9 で表わされるアミノ酸配列の第 1 1 8 番目 (Phe) ～第 1 2 5 番目 (Phe)、第 1 1 9 番目 (Pro) ～第 1 2 5 番目 (Phe)、第 1 2 0 番目 (Ser) ～第 1 2 5 番目 (Phe) または第 1 2 1 番目 (Leu) ～第 1 2 5 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド (マウス R F R P - 3) 、

- 15 (ix) 配列番号 : 7 または 2 2 で表わされるアミノ酸配列の第 5 8 番目 (Ser) ～第 9 4 番目 (Phe)、第 7 2 番目 (Asp) ～第 9 4 番目 (Phe)、第 7 5 番目 (Met) ～第 9 4 番目 (Phe)、第 8 3 番目 (Val) ～第 9 4 番目 (Phe) または第 8 4 番目 (Pro) ～第 9 4 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド (ラット R F R P - 1) 、

- 20 (x) 配列番号 : 7 または 2 2 で表わされるアミノ酸配列の第 1 1 8 番目 (Phe) ～第 1 2 5 番目 (Phe)、第 1 1 9 番目 (Pro) ～第 1 2 5 番目 (Phe)、第 1 2 0 番目 (Ser) ～第 1 2 5 番目 (Phe) または第 1 2 1 番目 (Leu) ～第 1 2 5 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド (ラット R F R P - 3) 、

(xi) 上記 (i) ～ (x) のペプチドのアミノ酸配列中の 1 ～ 5 個のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列からなるペプチド (欠失型) 、

- 25 (xii) 上記 (i) ～ (x) のペプチドのアミノ酸配列に 1 ～ 5 個のアミノ酸が付加したアミノ酸配列からなるペプチド (付加型) 、

(xiii) 上記 (i) ～ (x) のペプチドのアミノ酸配列に 1 ～ 5 個のアミノ酸が挿入されたアミノ酸配列からなるペプチド (挿入型) 、

(xiv) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列中の 1 ~ 5 個のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列からなるペプチド (置換型)、または

(xv) 上記 (xi) ~ (xiv) の欠失・付加・挿入・置換を組み合わせたアミノ酸配列からなるペプチドである上記 [1] 記載の剤、

- 5 [5] 配列番号：1 で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードする DNA を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量 (特に、夜間自発行動量) の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤、

- 10 [6] DNA が配列番号：1、配列番号：3、配列番号：5、配列番号：7、配列番号：9 または配列番号：22 で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチドをコードする DNA である上記 [5] 記載の剤、

 [7] DNA が、

- 15 (i) 配列番号：1 または配列番号：3 で表わされるアミノ酸配列の第 56 番目 (Ser) ~ 第 92 番目 (Phe)、第 70 番目 (Met) ~ 第 92 番目 (Phe)、第 73 番目 (Met) ~ 第 92 番目 (Phe)、第 81 番目 (Met) ~ 第 92 番目 (Phe) または第 84 番目 (Ser) ~ 第 92 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド (ヒト RFRP-1)、

- 20 (ii) 配列番号：1 または配列番号：3 で表わされるアミノ酸配列の第 101 番目 (Ser) ~ 第 112 番目 (Ser) のアミノ酸配列からなるペプチド (ヒト RFRP-2)、

- 25 (iii) 配列番号：1 または配列番号：3 で表わされるアミノ酸配列の第 101 番目 (Asn) ~ 第 131 番目 (Phe)、第 104 番目 (Asn) ~ 第 131 番目 (Phe)、第 115 番目 (Asn) ~ 第 131 番目 (Phe)、第 124 番目 (Val) ~ 第 131 番目 (Phe)、第 125 番目 (Pro) ~ 第 131 番目 (Phe)、第 126 番目 (Asn) ~ 第 131 番目 (Phe) または第 127 番目 (Leu) ~ 第 131 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド (ヒト RFRP-3)、

 (iv) 配列番号：5 で表わされるアミノ酸配列の第 58 番目 (Ser) ~ 第 92

番目 (Phe)、第 70 番目 (Lys) ～第 92 番目 (Phe)、第 73 番目 (Met) ～第 92 番目 (Phe)、第 81 番目 (Met) ～第 92 番目 (Phe) または第 84 番目 (Ser) ～第 92 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド (ウシ RFRP-1)、

- 5 (v) 配列番号：5 で表わされるアミノ酸配列の第 101 番目 (Ser) ～第 112 番目 (Leu) のアミノ酸配列からなるペプチド (ウシ RFRP-2)、

- (vi) 配列番号：5 で表わされるアミノ酸配列の第 101 番目 (Ser) ～第 131 番目 (Phe)、第 104 番目 (Ala) ～第 131 番目 (Phe)、第 115 番目 (Asn) ～第 131 番目 (Phe)、第 124 番目 (Val) ～第 131 番目 (Phe)、
10 第 125 番目 (Pro) ～第 131 番目 (Phe)、第 126 番目 (Asn) ～第 131 番目 (Phe) または第 127 番目 (Leu) ～第 131 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド (ウシ RFRP-3)、

- (vii) 配列番号：9 で表わされるアミノ酸配列の第 58 番目 (Ser) ～第 94 番目 (Phe)、第 72 番目 (Val) ～第 94 番目 (Phe)、第 75 番目 (Met) ～第 94 番目 (Phe)、第 83 番目 (Val) ～第 94 番目 (Phe) または第 84 番目 (Pro) ～第 94 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド (マウス RFRP-1)、
15

- (viii) 配列番号：9 で表わされるアミノ酸配列の第 118 番目 (Phe) ～第 125 番目 (Phe)、第 119 番目 (Pro) ～第 125 番目 (Phe)、第 120 番目 (Ser) ～第 125 番目 (Phe) または第 121 番目 (Leu) ～第 125 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド (マウス RFRP-3)、
20

- (ix) 配列番号：7 または 22 で表わされるアミノ酸配列の第 58 番目 (Ser) ～第 94 番目 (Phe)、第 72 番目 (Asp) ～第 94 番目 (Phe)、第 75 番目 (Met) ～第 94 番目 (Phe)、第 83 番目 (Val) ～第 94 番目 (Phe) または第 84 番目 (Pro) ～第 94 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド (ラット RFRP-1)、
25

- (x) 配列番号：7 または 22 で表わされるアミノ酸配列の第 118 番目 (Phe) ～第 125 番目 (Phe)、第 119 番目 (Pro) ～第 125 番目 (Phe)、

- 第120番目 (Ser) ～第125番目 (Phe) または第121番目 (Leu) ～第125番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド (ラットRFRP-3)、
- (xi) 上記 (i) ～ (x) のペプチドのアミノ酸配列中の1～5個のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列からなるペプチド (欠失型)、
- 5 (xii) 上記 (i) ～ (x) のペプチドのアミノ酸配列に1～5個のアミノ酸が付加したアミノ酸配列からなるペプチド (付加型)、
- (xiii) 上記 (i) ～ (x) のペプチドのアミノ酸配列に1～5個のアミノ酸が挿入されたアミノ酸配列からなるペプチド (挿入型)、
- (xiv) 上記 (i) ～ (x) のペプチドのアミノ酸配列中の1～5個のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列からなるペプチド (置換型)、または
- 10 (xv) 上記 (xi) ～ (xiv) の欠失・付加・挿入・置換を組み合わせたアミノ酸配列からなるペプチド、
- をコードするDNAである上記〔5〕記載の剤、
- 〔8〕配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードするDNAを含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温変化、白血球数変化、血小板数変化、自発行動量 (特に、夜間自発行動量) の変化または筋力変化の診断剤、
- 15 〔9〕配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩に対する抗体を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量 (特に、夜間自発行動量) の減少の予防・治療・改善剤、
- 20 〔10〕配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩に対する抗体を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温変化、白血球数変化、血小板数変化、自発行動量 (特に、夜間自発行動量) の変化、筋力変化の診断
- 25

剤、

- 〔11〕配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードするDNAに相補的な塩基配列またはその一部を含有するアンチセンスDNA
- 5 含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少の予防・治療・改善剤、

- 〔12〕配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドの発現量を
- 10 増加させる化合物またはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤、

- 〔13〕配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドの発現量を
- 15 減少させる化合物またはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少の予防・治療・改善剤、

- 〔14〕配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペ
- 20 プチドまたはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤、

〔15〕OT7T022が配列番号：11で表されるアミノ酸配列からなるレセプター蛋白質である上記〔14〕記載の剤、

- 〔16〕配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAを含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、
- 25 攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動

量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤、

〔17〕DNAが配列番号：11で表されるアミノ酸配列からなるレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAである上記〔16〕記載の剤、

- 5 〔18〕配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAを含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温変化、白血球数変化、血小板数変化、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の変化または筋力変化の診断剤、
- 10 〔19〕配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対する抗体を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少の予防・治療・改善剤、
- 15 〔20〕配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対する抗体を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温変化、白血球数変化、血小板数変化、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の変化または筋力変化の診断剤、
- 20 〔21〕配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAに相補的な塩基配列またはその一部を含有するアンチセンスDNAを含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少の予防・治療・改善剤、
- 25 〔22〕配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対するアゴニストを含有してなる筋疾患、副腎機能障

害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤、

- 5 〔23〕配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対するアンタゴニストを含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少の予防・治療・改善剤、

- 10 〔24〕配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドの発現量を増加させる化合物またはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤、

- 15 〔25〕配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドの発現量を減少させる化合物またはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少の予防・治療・改善剤、

- 20 〔26〕哺乳動物に対して、

（i）配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩、

- 25 （ii）配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードするDNA、

（iii）配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドの発現量を増

加させる化合物またはその塩、

(iv) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩、

- 5 (v) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNA、

- (vi) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対するアゴニスト、または
- 10

- (vii) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドの発現量を増加させる化合物またはその塩の有効量を投与すること
- 15
- を特徴とする筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善方法、

〔27〕哺乳動物に対して、

- (i) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩に対する抗体、
- 20

(ii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードするDNAに相補的な塩基配列またはその一部を含有するアンチセンスDNA、

- (iii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドの発現量を減少させる化合物またはその塩、
- 25

(iv) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプ

チドまたはその塩に対する抗体、

(v) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAに相補的な塩基配列またはその一部を含有する

5 アンチセンスDNA、

(vi) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対するアンタゴニスト、または

(vii) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一
10 のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドの発現量を減少させる化合物またはその塩の有効量を投与することを特徴とする筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少の予防・治療・改善方法、

15 [28] 筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤を製造するための

(i) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミ
20 ドもしくはそのエステルまたはその塩、

(ii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードするDNA、

(iii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一の
25 アミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドの発現量を増加させる化合物またはその塩、

(iv) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプ

チドまたはその塩、

(v) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNA、

- 5 (vi) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対するアゴニスト、または

(vii) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分
10 ペプチドの発現量を増加させる化合物またはその塩の使用、

[29] 筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少の予防・治療・改善剤を製造するための

- (i) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一の
15 アミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩に対する抗体、

(ii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードするDNAに相補的な塩基配列またはその一部を含有するアンチセンスDNA、

- 20 (iii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドの発現量を減少させる化合物またはその塩、

(iv) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対する抗体、
25

(v) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAに相補的な塩基配列またはその一部を含有する

アンチセンスDNA、

(vi) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対するアンタゴニスト、または

- 5 (vii) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドの発現量を減少させる化合物またはその塩の使用、

[30] OT7T022遺伝子が不活性化された哺乳動物胚幹細胞、

[31] 薬剤耐性である上記[30]記載の胚幹細胞、

- 10 [32] 薬剤がネオマイシンである上記[29]記載の胚幹細胞、

[33] レポーター遺伝子の挿入によりOT7T022遺伝子が不活性化された上記[30]記載の胚幹細胞、

[34] レポーター遺伝子がlacZ遺伝子である上記[33]記載の胚幹細胞、

- 15 [35] 哺乳動物がマウスである上記[30]記載の胚幹細胞、

[36] OT7T022遺伝子が配列番号：12、配列番号：25、配列番号：26、配列番号：28または配列番号：32で表わされる塩基配列を含有する遺伝子である上記[30]記載の胚幹細胞、

[37] OT7T022遺伝子発現不全非ヒト哺乳動物、

- 20 [38] レポーター遺伝子の挿入によりOT7T022遺伝子が不活性化された上記[37]記載の動物、

[39] 非ヒト哺乳動物がマウスである上記[37]記載の動物、

[40] OT7T022遺伝子が配列番号：12、配列番号：28または配列番号：32で表わされる塩基配列を含有する遺伝子である上記[37]記載の動物、

- 25 [41] 野生型非ヒト哺乳動物に比べて、胸腺退縮遅延がみられる上記[37]記載の動物、

[42] 野生型非ヒト哺乳動物に比べて、後退歩行がみられる上記[37]

記載の動物、

〔43〕野生型非ヒト哺乳動物に比べて、侵害刺激（例、熱侵害刺激）に対して鈍麻がみられる上記〔37〕記載の動物、

〔44〕野生型非ヒト哺乳動物に比べて、攻撃的行動が多い上記〔37〕記載の動物、

〔45〕野生型非ヒト哺乳動物に比べて、腎臓絶対重量または胸腺絶対重量の低下がみられる上記〔37〕記載の動物、

〔46〕野生型非ヒト哺乳動物に比べて、白血球数または血小板数の減少がみられる上記〔37〕記載の動物、

〔47〕野生型非ヒト哺乳動物に比べて、筋力が低下している上記〔37〕記載の動物、

〔48〕上記〔37〕記載の動物もしくはその組織またはそれらに由来する細胞を用いることを特徴とする、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善薬のスクリーニング方法、

〔49〕上記〔37〕記載の動物もしくはその組織またはそれらに由来する細胞に試験化合物を投与することを特徴とする上記〔48〕記載のスクリーニング方法、

〔50〕上記〔48〕記載のスクリーニング方法により得られる、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善薬、

〔51〕上記〔48〕記載のスクリーニング方法により得られる予防・治療・

- 改善薬を含有してなる痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、
- 5 夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤、
- 〔5 2〕上記〔3 7〕記載の動物と他の病態モデル動物との交配によって生じる病態モデル動物、
- 〔5 3〕上記〔3 7〕記載の動物に対する薬剤誘発またはストレス負荷によって生じる病態モデル動物、
- 10 〔5 4〕上記〔5 2〕記載の動物に対する薬剤誘発またはストレス負荷によって生じる病体モデル動物、
- 〔5 5〕上記〔5 2〕～〔5 4〕のいずれかに記載の動物もしくはその組織またはそれらに由来する細胞を用いることを特徴とする、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、
- 15 摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善薬のスクリーニング方法、
- 〔5 6〕上記〔5 2〕～〔5 4〕のいずれかに記載の動物もしくはその組織
- 20 またはそれらに由来する細胞に試験化合物を投与することを特徴とする、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加
- 25 または筋力低下の予防・治療・改善薬のスクリーニング方法、
- 〔5 7〕上記〔5 5〕または〔5 6〕記載のスクリーニング方法により得られる、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、

不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善薬、

- 〔５８〕上記〔５５〕または〔５６〕記載のスクリーニング方法により得られる予防・治療・改善薬を含有してなる痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤、

- 〔５９〕上記〔３８〕記載の動物に、試験化合物を投与し、レポーター遺伝子の発現を検出することを特徴とするＯＴ７Ｔ０２２遺伝子に対するプロモーター活性を促進または阻害する化合物またはその塩のスクリーニング方法、
- 〔６０〕上記〔５９〕記載のスクリーニング方法で得られうるＯＴ７Ｔ０２２遺伝子に対するプロモーター活性を促進または阻害する化合物またはその塩、

- 〔６１〕上記〔５９〕記載のスクリーニング方法で得られうるＯＴ７Ｔ０２２遺伝子に対するプロモーター活性を促進する化合物またはその塩を含有してなる痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤、

- 〔６２〕上記〔５９〕記載のスクリーニング方法で得られうるＯＴ７Ｔ０２２遺伝子に対するプロモーター活性を阻害する化合物またはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少の予防・治療・改善剤、鎮痛剤、モルヒネの鎮痛作用促進剤、モルヒネ耐性回避剤またはモルヒネ依存性

回避剤、

- 〔63〕配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩、および（または）配列番号：11
- 5 で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩を用いることを特徴とする筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発
- 10 行動量（特に、夜間自発行動量）の減少の減少の予防・治療・改善薬のスクリーニング方法、および

- 〔64〕配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩、および（または）配列番号：11
- 15 で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、
- 20 夜間自発行動量）の減少の予防・治療・改善薬のスクリーニング用キットを提供する。

図面の簡単な説明

図1はOT7T022ターゲティングベクターの概略図を示す。

25

発明を実施するための最良の形態

本発明で用いられるRF RPは、配列番号：1で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド（以下、

RFRPと称する場合がある)であり、ヒトや温血動物(例えば、モルモット、ラット、マウス、ニワトリ、ウサギ、ブタ、ヒツジ、ウシ、サルなど)の細胞(例えば、網膜細胞、肝細胞、脾細胞、神経細胞、グリア細胞、膵臓β細胞、骨髄細胞、メサングウム細胞、ランゲルハンス細胞、表皮細胞、上皮細胞、内皮細胞、繊維芽細胞、繊維細胞、筋細胞、脂肪細胞、免疫細胞(例、マクロファージ、T細胞、B細胞、ナチュラルキラー細胞、肥満細胞、好中球、好塩基球、好酸球、単球)、巨核球、滑膜細胞、軟骨細胞、骨細胞、骨芽細胞、破骨細胞、乳腺細胞、肝細胞もしくは間質細胞、またはこれら細胞の前駆細胞、幹細胞もしくは癌細胞など)もしくはそれらの細胞が存在するあらゆる組織、例えば、脳、脳の各部位(例、網膜、嗅球、扁桃核、大脳基底球、海馬、視床、視床下部、大脳皮質、延髄、小脳)、脊髄、下垂体、胃、膵臓、腎臓、肝臓、生殖腺、甲状腺、胆のう、骨髄、副腎、皮膚、筋肉、肺、消化管(例、大腸、小腸)、血管、心臓、胸腺、脾臓、顎下腺、末梢血、前立腺、睾丸、卵巣、胎盤、子宮、骨、関節、骨格筋など、または血球系の細胞もしくはその培養細胞(例えば、MEL, M1, CTLL-2, HT-2, WEHI-3, HL-60, JOSK-1, K562, ML-1, MOLT-3, MOLT-4, MOLT-10, CCRF-CEM, TALL-1, Jurkat, CCRT-HSB-2, KE-37, SKW-3, HUT-78, HUT-102, H9, U937, THP-1, HEL, JK-1, CMK, KO-812, MEG-01など)に由来するポリペプチドであってもよく、合成ポリペプチドであってもよい。

配列番号：1で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列としては、配列番号：1で表わされるアミノ酸配列と約70%以上、好ましくは約80%以上、より好ましくは約90%以上、さらに好ましくは約95%以上の相同性を有するアミノ酸配列などがあげられる。

アミノ酸配列の相同性は、相同性計算アルゴリズムNCBI BLAST (National Center for Biotechnology Information Basic Local Alignment

Search Tool) を用い、以下の条件 (期待値 = 10 ; ギャップを許す ; マトリクス = BLOSUM62 ; フィルタリング = OFF) にて計算することができる。

例えば、配列番号 : 1 で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列としては、配列番号 : 1 で表わされるアミノ酸配列の第 22 ~ 180 番目のアミノ酸配列を有するアミノ酸配列や、配列番号 : 3、配列番号 : 5、配列番号 : 7、配列番号 : 9 または配列番号 : 22 で表されるアミノ酸配列などがあげられる。

本発明に用いられる RFRP は、具体的には、前記の配列番号 : 1 で表わされるアミノ酸配列からなるポリペプチドまたは配列番号 : 1 で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列 (例えば、配列番号 : 3、配列番号 : 5、配列番号 : 7、配列番号 : 9 または配列番号 : 22 で表されるアミノ酸配列など) を有し、配列番号 : 1 で表わされるアミノ酸配列からなるポリペプチドと実質的に同質のプロラクチン分泌促進活性などを有するポリペプチドである。

実質的に同質とは、プロラクチン分泌促進活性などが性質的に (例、生理化学的に、または薬理学的に) 同質であることを示す。従って、プロラクチン分泌促進活性が同等 (例、約 0.1 ~ 100 倍、好ましくは約 0.5 ~ 10 倍、より好ましくは 0.5 ~ 2 倍) であることが好ましいが、これらの活性の程度、ポリペプチドの分子量などの量的要素は異なってもよい。

プロラクチン分泌促進活性の測定は、自体公知の方法に準じて行なうことができるが、例えば、WO 01/66134 号の実施例 1 に従って測定することができる。

また、RFRP としては、例えば、①配列番号 : 1、配列番号 : 3、配列番号 : 5、配列番号 : 7、配列番号 : 9 または配列番号 : 22 で表わされるアミノ酸配列中の 1 ~ 20 個 (好ましくは、1 ~ 15 個、さらに好ましくは、1 ~ 5 個、より好ましくは、1 ~ 3 個) のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列、②配列番号 : 1、配列番号 : 3、配列番号 : 5、配列番号 : 7、配列番号 :

- 9 または配列番号：22で表わされるアミノ酸配列に1～20個（好ましくは、1～15個、さらに好ましくは、1～5個、より好ましくは、1～3個）のアミノ酸が付加したアミノ酸配列、③配列番号：1、配列番号：3、配列番号：5、配列番号：7、配列番号：9 または配列番号：22で表わされる
- 5 アミノ酸配列に1～20個（好ましくは、1～15個、さらに好ましくは、1～5個、より好ましくは、1～3個）のアミノ酸が挿入されたアミノ酸配列、④配列番号：1、配列番号：3、配列番号：5、配列番号：7、配列番号：9 または配列番号：22で表わされるアミノ酸配列中の1～20個（好ましくは、1～15個、さらに好ましくは、1～5個、より好ましくは、1
- 10 ～3個）のアミノ酸が他のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列、または⑤それら欠失・付加・挿入・置換を組み合わせたアミノ酸配列を有するポリペプチドも含まれる。

上記のようにアミノ酸配列が欠失、付加、挿入または置換されている場合、その欠失、付加、挿入または置換の位置は特に限定されない。

- 15 本明細書におけるポリペプチドは、ペプチド標記の慣例に従って左端がN末端（アミノ末端）、右端がC末端（カルボキシル末端）である。配列番号：1で表わされるアミノ酸配列からなるヒトRFRPをはじめとするRFRPは、C末端がカルボキシル基（ $-\text{COOH}$ ）、カルボキシレート（ $-\text{COO}^-$ ）、アミド（ $-\text{CONH}_2$ ）またはエステル（ $-\text{COOR}$ ）の何れであってもよい。
- 20 ここでエステルにおけるRとしては、例えば、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピルもしくはn-ブチルなどの C_{1-6} アルキル基、例えば、シクロペンチル、シクロヘキシルなどの C_{3-8} シクロアルキル基、例えば、フェニル、 α -ナフチルなどの C_{6-12} アリール基、例えば、ベンジル、フェネチルなどのフェニル- C_{1-2} アルキル基もしくは α -ナフチルメチルなどの α -
- 25 -ナフチル- C_{1-2} アルキル基などの C_{7-14} アラルキル基のほか、経口用エステルとして汎用されるピバロイルオキシメチル基などが用いられる。

RFRPがC末端以外にカルボキシル基（またはカルボキシレート）を有している場合、カルボキシル基がアミド化またはエステル化されているもの

も本発明でいうRFRPの範囲に含まれる。この場合のエステルとしては、例えば上記したC末端のエステルなどが用いられる。

さらに、RFRPには、N末端のアミノ酸残基（例、メチオニン残基）のアミノ基が保護基（例えば、ホルミル基、アセチル基などのC₁₋₆アルカノイルなどのC₁₋₆アシル基など）で保護されているもの、生体内で切断されて生成するN末端のグルタミル基がピログルタミン酸化したもの、分子内のアミノ酸の側鎖上の置換基（例えば-OH、-SH、アミノ基、イミダゾール基、インドール基、グアニジノ基など）が適当な保護基（例えば、ホルミル基、アセチル基などのC₁₋₆アルカノイル基などのC₁₋₆アシル基など）で保護されているもの、あるいは糖鎖が結合したいわゆる糖蛋白質などの複合蛋白質なども含まれる。以下、これらのポリペプチドを含めてRFRPと略称することもある。

本発明で用いられるRFRPの具体例としては、例えば、配列番号：1で表わされるアミノ酸配列からなるヒトRFRP、配列番号：3で表わされるアミノ酸配列からなるヒトRFRP、配列番号：5で表わされるアミノ酸配列からなるウシRFRP、配列番号：7で表わされるアミノ酸配列からなるラットRFRP、配列番号：9で表わされるアミノ酸配列からなるマウスRFRP、配列番号：22で表わされるアミノ酸配列からなるラットRFRPなどが用いられ、例えば、配列番号：1で表わされるアミノ酸配列からなるヒトRFRP、配列番号：3で表わされるアミノ酸配列からなるヒトRFRP、配列番号：5で表わされるアミノ酸配列からなるウシRFRPが好ましく用いられる。

RFRPの部分ペプチド（以下、RFRP部分ペプチドと称する場合がある）としては、前記したRFRPの部分ペプチドであって、後述するOT7T022（配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質またはその塩）に結合する能力を有するものであれば、いかなるものでもよい。

また、RFRP部分ペプチドは、そのアミノ酸配列中の1～5個（好まし

くは、1～3個のアミノ酸が欠失し、または、そのアミノ酸配列に1～5個（好ましくは、1～3個）のアミノ酸が付加し、または、そのアミノ酸配列に1～5個（好ましくは、1～3個のアミノ酸が挿入され、または、そのアミノ酸配列中の1～5個（好ましくは、1～3個のアミノ酸が他のアミノ酸

5 5で置換されたアミノ酸配列からなるものであってもよく、または、それら欠失・付加・挿入・置換を組み合わせたアミノ酸配列からなるものであってもよい。

また、R F R P部分ペプチドはC末端がカルボキシル基（ $-\text{COOH}$ ）、カルボキシレート（ $-\text{COO}^-$ ）、アミド（ $-\text{CONH}_2$ ）またはエステル（ $-\text{COOR}$ ）（Rは上記と同意義を示す）のいずれであっててもよい。なかでも、

10 C末端がアミド（ $-\text{CONH}_2$ ）であるものが好ましい。

R F R P部分ペプチドがC末端以外にカルボキシル基（またはカルボキシレート）を有している場合、カルボキシル基がアミド化またはエステル化されているものも本発明でいうR F R P部分ペプチドに含まれる。この場合の

15 エステルとしては、例えば上記したC末端のエステルなどが用いられる。

さらに、R F R P部分ペプチドには、前記したR F R Pと同様に、N末端のアミノ酸残基（例、メチオニン残基）のアミノ基が保護基で保護されているもの、N端側が生体内で切断され生成したグルタミル基がピログルタミン酸化したもの、分子内のアミノ酸の側鎖上の置換基が適当な保護基で保護

20 されているもの、あるいは糖鎖が結合したいわゆる糖ペプチドなどの複合ペプチドなども含まれる。以下、これらの部分ペプチドも含めてR F R P部分ペプチドと略称することもある。

R F R P部分ペプチドとして好ましくは、R F amide、R S amideまたはR L amide構造を有するペプチド、より好ましくは、R F amideまたはR S amide構造を有するペプチド、特に好ましくは、R F amideを有するペプチドが挙げ

25 られる。

R F amide構造とは、ペプチドのC末端がArginine（アルギニン）-Phenylalanine（フェニルアラニン） $-\text{NH}_2$ 構造になっていることをいい、R

S amide構造とは、ペプチドのC末端がArginine（アルギニン）-Serine（セリン）-NH₂構造になっていることをいい、R L amide構造とは、ペプチドのC末端がArginine（アルギニン）-Leucine（ロイシン）-NH₂構造になっていることを意味する。

5 R F R P部分ペプチドの中でも、例えば、

(i) 配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第88番目（Leu）～第92番目（Phe）のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、それぞれ配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第1番目（Met）～第87番目（Asn）のアミノ酸配列のC末端
10 から数えて1～87個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるヒトR F R P-1、

(ii) 配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第101番目（Ser）～第112番目（Ser）のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、それぞれ配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第1番目（Met）～第100番目（Arg）のアミノ酸配列のC末端
15 から数えて1～100個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるヒトR F R P-2、

(iii) 配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第127番目（Leu）～第131番目（Phe）のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、それぞれ配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第1番目（Met）～第126番目（Asn）のアミノ酸配列のC末端
20 から数えて1～126個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるヒトR F R P-3、

(iv) 配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第88番目（Leu）～第92番目（Phe）のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第1番目（Met）～第87番目（Asn）のアミノ酸配列のC末端から数えて1～87個のアミノ酸が付加していても
25 よいアミノ酸配列からなるウシR F R P-1、

- (v) 配列番号：5 で表わされるアミノ酸配列の第101番目 (Ser) ～第112番目 (Leu) のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、配列番号：5 で表わされるアミノ酸配列の第1番目 (Met) ～第100番目 (Arg) のアミノ酸配列のC末端から数えて1～100個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるウシRFRP-2、
- 5
- (vi) 配列番号：5 で表わされるアミノ酸配列の第127番目 (Leu) ～第131番目 (Phe) のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、配列番号：5 で表わされるアミノ酸配列の第1番目 (Met) ～第126番目 (Asn) のアミノ酸配列のC末端から数えて1～126個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるウシRFRP-3、
- 10
- (vii) 配列番号：9 で表わされるアミノ酸配列の第90番目 (Leu) ～第94番目 (Phe) のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、配列番号：9 で表わされるアミノ酸配列の第1番目 (Met) ～第89番目 (Asn) のアミノ酸配列のC末端から数えて1～89個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるマウスRFRP-1、
- 15
- (viii) 配列番号：9 で表わされるアミノ酸配列の第121番目 (Leu) ～第125番目 (Phe) のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、配列番号：9 で表わされるアミノ酸配列の第1番目 (Met) ～第120番目 (Ser) のアミノ酸配列のC末端から数えて1～120個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるマウスRFRP-3、
- 20
- (ix) 配列番号：7 または22 で表わされるアミノ酸配列の第90番目 (Leu) ～第94番目 (Phe) のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、配列番号：7 または22 で表わされるアミノ酸配列の第1番目 (Met) ～第89番目 (Asn) のアミノ酸配列のC末端から数えて1～89個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるラットRFRP-1、
- 25
- (x) 配列番号：7 または22 で表わされるアミノ酸配列の第121番目 (Leu) ～第125番目 (Phe) のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、配列番号：7 または22 で表わされるアミノ酸配列の第1番

目 (Met) ～第 120 番目 (Ser) のアミノ酸配列の C 末端から数えて 1 ～ 120 個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるラット RFRP-3、

5 (xi) 上記 (i) ～ (x) のペプチドのアミノ酸配列に 1 ～ 5 個のアミノ酸が付加したアミノ酸配列からなるペプチド、

(xii) 上記 (i) ～ (x) のペプチドのアミノ酸配列に 1 ～ 5 個のアミノ酸が挿入されたアミノ酸配列からなるペプチド、

(xiii) 上記 (i) ～ (x) のペプチドのアミノ酸配列中の 1 ～ 5 個のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列からなるペプチド、または

10 (xiv) 上記 (xi) ～ (xiii) の付加・挿入・置換を組み合わせたアミノ酸配列からなるペプチドなどが用いられる。

これらの RFRP 部分ペプチドの中でも、

(i) 配列番号：1 または配列番号：3 で表わされるアミノ酸配列の第 56 番目 (Ser) ～第 92 番目 (Phe)、第 70 番目 (Met) ～第 92 番目 (Phe)、
15 第 73 番目 (Met) ～第 92 番目 (Phe)、第 81 番目 (Met) ～第 92 番目 (Phe) または第 84 番目 (Ser) ～第 92 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるヒト RFRP-1、

(ii) 配列番号：1 または配列番号：3 で表わされるアミノ酸配列の第 101 番目 (Ser) ～第 112 番目 (Ser) のアミノ酸配列からなるヒト RFRP-2、
20

(iii) 配列番号：1 または配列番号：3 で表わされるアミノ酸配列の第 101 番目 (Asn) ～第 131 番目 (Phe)、第 104 番目 (Asn) ～第 131 番目 (Phe)、第 115 番目 (Asn) ～第 131 番目 (Phe)、第 124 番目 (Val) ～第 131 番目 (Phe)、第 125 番目 (Pro) ～第 131 番目 (Phe)、第 126 番目 (Asn) ～第 131 番目 (Phe) または第 127 番目 (Leu) ～第 131 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるヒト RFRP-3、
25

(iv) 配列番号：5 で表わされるアミノ酸配列の第 58 番目 (Ser) ～第 92 番目 (Phe)、第 70 番目 (Lys) ～第 92 番目 (Phe)、第 73 番目 (Met)

～第92番目 (Phe)、第81番目 (Met)～第92番目 (Phe) または第84番目 (Ser)～第92番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるウシRFRP-1、

(v) 配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第101番目 (Ser)～第112番目 (Leu) のアミノ酸配列からなるウシRFRP-2、

- 5 (vi) 配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第101番目 (Ser)～第131番目 (Phe)、第104番目 (Ala)～第131番目 (Phe)、第115番目 (Asn)～第131番目 (Phe)、第124番目 (Val)～第131番目 (Phe)、第125番目 (Pro)～第131番目 (Phe)、第126番目 (Asn)～第131番目 (Phe) または第127番目 (Leu)～第131番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるウシRFRP-3、
- 10

(vii) 配列番号：9で表わされるアミノ酸配列の第58番目 (Ser)～第94番目 (Phe)、第72番目 (Val)～第94番目 (Phe)、第75番目 (Met)～第94番目 (Phe)、第83番目 (Val)～第94番目 (Phe) または第84番目 (Pro)～第94番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるマウスRFRP-

- 15 1、

(viii) 配列番号：9で表わされるアミノ酸配列の第118番目 (Phe)～第125番目 (Phe)、第119番目 (Pro)～第125番目 (Phe)、第120番目 (Ser)～第125番目 (Phe) または第121番目 (Leu)～第125番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるマウスRFRP-3、

- 20 (ix) 配列番号：7または22で表わされるアミノ酸配列の第58番目 (Ser)～第94番目 (Phe)、第72番目 (Asp)～第94番目 (Phe)、第75番目 (Met)～第94番目 (Phe)、第83番目 (Val)～第94番目 (Phe) または第84番目 (Pro)～第94番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるラットRFRP-1、

- 25 (x) 配列番号：7または22で表わされるアミノ酸配列の第118番目 (Phe)～第125番目 (Phe)、第119番目 (Pro)～第125番目 (Phe)、第120番目 (Ser)～第125番目 (Phe) または第121番目 (Leu)～第125番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるラットRFRP-3、

(xi) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列中の 1 ~ 5 個のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列からなる欠失型ペプチド、

(xii) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列に 1 ~ 5 個のアミノ酸が付加したアミノ酸配列からなる付加型ペプチド、

5 (xiii) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列に 1 ~ 5 個のアミノ酸が挿入されたアミノ酸配列からなる挿入型ペプチド、

(xiv) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列中の 1 ~ 5 個のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列からなる置換型ペプチド、または

(xv) 上記 (xi) ~ (xiv) の欠失・付加・挿入・置換を組み合わせたアミノ酸配列からなるペプチドなどが好ましく用いられる。

特にこれらのペプチドのアミド体（好ましくは、これらペプチドの C 末端のカルボキシル基 ($-\text{COOH}$) がアミド化された ($-\text{CONH}_2$) ペプチド）が好ましい。

具体的には、配列番号：1 で表わされるアミノ酸配列の第 81 番目 (Met) ~ 第 92 番目 (Phe) のアミノ酸配列で表されるペプチドの C 末端がアミド化された ($-\text{CONH}_2$) ペプチド（配列番号：13）、配列番号：1 で表わされるアミノ酸配列の第 101 番目 (Ser) ~ 第 112 番目 (Ser) のアミノ酸配列で表されるペプチドの C 末端がアミド化された ($-\text{CONH}_2$) ペプチド（配列番号：15）および配列番号：1 で表わされるアミノ酸配列の第 124 番目 (Val) ~ 第 131 番目 (Phe) のアミノ酸配列で表されるペプチドの C 末端がアミド化された ($-\text{CONH}_2$) ペプチド（配列番号：14）などがあげられる。

RFRP または RFRP 部分ペプチドの塩としては、生理学的に許容される酸（例、無機酸、有機酸）や塩基（例、アルカリ金属塩）などとの塩が用いられ、とりわけ生理学的に許容される酸付加塩が好ましい。このような塩としては、例えば、無機酸（例えば、塩酸、リン酸、臭化水素酸、硫酸）との塩、あるいは有機酸（例えば、酢酸、ギ酸、プロピオン酸、フマル酸、マレイン酸、コハク酸、酒石酸、クエン酸、リンゴ酸、蔞酸、安息香酸、メタ

ンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸) との塩などが用いられる。

RFRPもしくはその塩またはRFRP部分ペプチドもしくはその塩は、WO 00/29441号、WO 01/66134号などに記載の方法に従って製造することができる。

- 5 RFRPをコードするDNAとしては、前述したRFRPをコードする塩基配列を含有するものであればいかなるものであってもよい。また、ゲノムDNA、ゲノムDNAライブラリー、前記した細胞・組織由来のcDNA、前記した細胞・組織由来のcDNAライブラリー、合成DNAのいずれでもよい。
- 10 ライブラリーに使用するベクターは、バクテリオファージ、プラスミド、コスミド、ファージミドなどいずれであってもよい。また、前記した細胞・組織よりtotal RNAまたはmRNA画分を調製したものを用いて直接Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction (以下、RT-PCR法と略称する) によって増幅することもできる。
- 15 RFRPをコードするDNAとしては、例えば、配列番号：2、配列番号：4、配列番号：6、配列番号：8、配列番号：10または配列番号：23で表わされる塩基配列を含有するDNA、または配列番号：2、配列番号：4、配列番号：6、配列番号：8、配列番号：10または配列番号：23で表わされる塩基配列とハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズする塩基
- 20 配列を有し、配列番号：1、配列番号：3、配列番号：5、配列番号：7、配列番号：9または配列番号：22で表されるアミノ酸配列からなるRFRPと実質的に同質の活性を有するポリペプチドをコードするDNAなどであれば何れのものでもよい。

- 配列番号：2、配列番号：4、配列番号：6、配列番号：8、配列番号：10または配列番号：23で表わされる塩基配列とハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズできるDNAとしては、例えば、それぞれ配列番号：2、配列番号：4、配列番号：6、配列番号：8、配列番号：10または配列番号：23で表わされる塩基配列と約70%以上、好ましくは約80%以
- 25

上、より好ましくは約90%以上、さらに好ましくは約95%以上の相同性を有する塩基配列を含有するDNAなどが用いられる。

塩基配列の相同性は、相同性計算アルゴリズムNCBI BLAST (National Center for Biotechnology Information Basic Local Alignment Search Tool) を用い、以下の条件(期待値=10; ギャップを許す; フィルタリング=ON; マッチスコア=1; ミスマッチスコア=-3)にて計算することができる。

ハイブリダイゼーションは、自体公知の方法あるいはそれに準じる方法、例えば、モレキュラー・クローニング(Molecular Cloning) 2nd (J. Sambrook et al., Cold Spring Harbor Lab. Press, 1989) に記載の方法などに従って行なうことができる。また、市販のライブラリーを使用する場合、添付の使用説明書に記載の方法に従って行なうことができる。より好ましくは、ハイストリンジェントな条件に従って行なうことができる。

ハイストリンジェントな条件とは、例えば、ナトリウム濃度が約19~40 mM、好ましくは約19~20 mMで、温度が約50~70℃、好ましくは約60~65℃の条件を示す。特に、ナトリウム濃度が約19 mMで温度が約65℃の場合が最も好ましい。

より具体的には、配列番号: 1 で表わされるアミノ酸配列からなるヒト RFRP をコードする DNA としては、配列番号: 2 で表わされる塩基配列からなる DNA などが用いられる。また、配列番号: 3 で表わされるアミノ酸配列からなるヒト RFRP をコードする DNA としては、配列番号: 4 で表わされる塩基配列からなる DNA などが用いられる。配列番号: 5 で表わされるアミノ酸配列からなるウシ RFRP をコードする DNA としては、配列番号: 6 で表わされる塩基配列からなる DNA などが用いられる。配列番号: 7 で表わされるアミノ酸配列からなるラット RFRP をコードする DNA としては、配列番号: 8 で表わされる塩基配列からなる DNA などが用いられる。配列番号: 9 で表わされるアミノ酸配列からなるマウス RFRP をコー

ドするDNAとしては、配列番号：10で表わされる塩基配列からなるDNAなどが用いられる。配列番号：22で表わされるアミノ酸配列からなるラットRFRRPをコードするDNAとしては、配列番号：23で表わされる塩基配列からなるDNAなどが用いられる。

- 5 RFRRP部分ペプチドをコードするDNAとしては、前述したRFRRP部分ペプチドをコードする塩基配列を含有するものであればいかなるものであってもよい。また、ゲノムDNA、ゲノムDNAライブラリー、前記した細胞・組織由来のcDNA、前記した細胞・組織由来のcDNAライブラリー、合成DNAのいずれでもよい。

- 10 RFRRP部分ペプチドをコードするDNAとしては、例えば、配列番号：2、配列番号：4、配列番号：6、配列番号：8、配列番号：10または配列番号：23で表わされる塩基配列を含有するDNAの部分塩基配列を有するDNA、または配列番号：2、配列番号：4、配列番号：6、配列番号：8、配列番号：10または配列番号：23で表わされる塩基配列とハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズする塩基配列を有し、配列番号：1、配列番号：3、配列番号：5、配列番号：7、配列番号：9または配列番号：22で表されるアミノ酸配列からなるRFRRPと実質的に同質の活性を有するポリペプチドをコードするDNAの部分塩基配列を有するDNAなどが用いられる。

- 20 配列番号：2、配列番号：4、配列番号：6、配列番号：8、配列番号：10または配列番号：23で表わされる塩基配列とハイブリダイズできるDNAは、前記と同意義を示す。

塩基配列の相同性は、前記した相同性計算アルゴリズムNCBI BLASTを用い、同様の条件にて計算することができる。

- 25 ハイブリダイゼーションの方法およびハイストリンジェントな条件は前記と同様のものが用いられる。

また、RFRRP部分ペプチドをコードするDNAとしてより具体的には、前記した具体的なRFRRP部分ペプチドをコードするDNAなどが用いられ

る。例えば、

- (i) 配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第56番目 (Ser) ～第92番目 (Phe)、第70番目 (Met) ～第92番目 (Phe)、第73番目 (Met) ～第92番目 (Phe)、第81番目 (Met) ～第92番目 (Phe) または第84番目 (Ser) ～第92番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるヒト RFRP-1 をコードするDNAとしては、それぞれ配列番号：2または配列番号：4で表わされる塩基配列の第166番目～第276番目、第208番目～第276番目、第217番目～第276番目、第241番目～第276番目または第250番目～第276番目の塩基配列からなるDNA、
- 5 (ii) 配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第101番目 (Ser) ～第112番目 (Ser) のアミノ酸配列からなるヒト RFRP-2 をコードするDNAとしては、それぞれ配列番号：2または配列番号：4で表わされる塩基配列の第301番目～第336番目の塩基配列からなるDNA、
- 10 (iii) 配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第101番目 (Asn) ～第131番目 (Phe)、第104番目 (Asn) ～第131番目 (Phe)、第115番目 (Asn) ～第131番目 (Phe)、第124番目 (Val) ～第131番目 (Phe)、第125番目 (Pro) ～第131番目 (Phe)、第126番目 (Asn) ～第131番目 (Phe) または第127番目 (Leu) ～第131番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるヒト RFRP-3 をコードするDNA
- 20 としては、それぞれ配列番号：2または配列番号：4で表わされる塩基配列の第301番目～第393番目、第310番目～第393番目、第343番目～第393番目、第370番目～第393番目、第373番目～第393番目、第376番目～第393番目または第379番目～第393番目の塩
- 25 基配列からなるDNA、
- (iv) 配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第58番目 (Ser) ～第92番目 (Phe)、第70番目 (Lys) ～第92番目 (Phe)、第73番目 (Met) ～第92番目 (Phe)、第81番目 (Met) ～第92番目 (Phe) または第84

- 番目 (Ser) ～第 9 2 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるウシ R F R P - 1 をコードする DNA としては、配列番号：6 で表わされる塩基配列の第 1 7 2 番目～第 2 7 6 番目、第 2 0 8 番目～第 2 7 6 番目、第 2 1 7 番目～第 2 7 6 番目、第 2 4 1 番目～第 2 7 6 番目または第 2 5 0 番目～第 2 7 6 番目の塩基配列からなる DNA、
- 5 (v) 配列番号：5 で表わされるアミノ酸配列の第 1 0 1 番目 (Ser) ～第 1 1 2 番目 (Leu) のアミノ酸配列からなるウシ R F R P - 2 をコードする DNA としては、配列番号：6 で表わされる塩基配列の第 3 0 1 番目～第 3 3 6 番目の塩基配列からなる DNA、
- 10 (vi) 配列番号：5 で表わされるアミノ酸配列の第 1 0 1 番目 (Ser) ～第 1 3 1 番目 (Phe)、第 1 0 4 番目 (Ala) ～第 1 3 1 番目 (Phe)、第 1 1 5 番目 (Asn) ～第 1 3 1 番目 (Phe)、第 1 2 4 番目 (Val) ～第 1 3 1 番目 (Phe)、第 1 2 5 番目 (Pro) ～第 1 3 1 番目 (Phe)、第 1 2 6 番目 (Asn) ～第 1 3 1 番目 (Phe) または第 1 2 7 番目 (Leu) ～第 1 3 1 番目 (Phe) のアミノ酸
- 15 配列からなるウシ R F R P - 3 をコードする DNA としては、配列番号：6 で表わされる塩基配列の第 3 0 1 番目～第 3 9 3 番目、第 3 1 0 番目～第 3 9 3 番目、第 3 4 3 番目～第 3 9 3 番目、第 3 7 0 番目～第 3 9 3 番目、第 3 7 3 番目～第 3 9 3 番目、第 3 7 6 番目～第 3 9 3 番目または第 3 7 9 番目～第 3 9 3 番目の塩基配列からなる DNA、
- 20 (vii) 配列番号：9 で表わされるアミノ酸配列の第 5 8 番目 (Ser) ～第 9 4 番目 (Phe)、第 7 2 番目 (Val) ～第 9 4 番目 (Phe)、第 7 5 番目 (Met) ～第 9 4 番目 (Phe)、第 8 3 番目 (Val) ～第 9 4 番目 (Phe) または第 8 4 番目 (Pro) ～第 9 4 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるマウス R F R P - 1 をコードする DNA としては、配列番号：1 0 で表わされる塩基配列の第
- 25 1 7 2 番目～第 2 8 2 番目、第 2 1 4 番目～第 2 8 2 番目、第 2 2 3 番目～第 2 8 2 番目、第 2 4 7 番目～第 2 8 2 番目または第 2 5 0 番目～第 2 8 2 番目の塩基配列からなる DNA、
- (viii) 配列番号：9 で表わされるアミノ酸配列の第 1 1 8 番目 (Phe) ～第

1 2 5 番目 (Phe)、第 1 1 9 番目 (Pro) ～第 1 2 5 番目 (Phe)、第 1 2 0
番目 (Ser) ～第 1 2 5 番目 (Phe) または第 1 2 1 番目 (Leu) ～第 1 2 5 番
目 (Phe) のアミノ酸配列からなるマウス RFRP-3 をコードする DNA と
しては、配列番号：10 で表わされる塩基配列の第 3 5 2 番目～第 3 7 5 番
5 目、第 3 5 6 番目～第 3 7 5 番目、第 3 5 8 番目～第 3 7 5 番目または第 3
6 1 番目～第 3 7 5 番目の塩基配列からなる DNA、

(ix) 配列番号：7 または 22 で表わされるアミノ酸配列の第 5 8 番目 (Ser)
～第 9 4 番目 (Phe)、第 7 2 番目 (Asp) ～第 9 4 番目 (Phe)、第 7 5 番目
(Met) ～第 9 4 番目 (Phe)、第 8 3 番目 (Val) ～第 9 4 番目 (Phe) また
10 は第 8 4 番目 (Pro) ～第 9 4 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるラット R
FRP-1 をコードする DNA としては、それぞれ配列番号：8 または 51
で表わされる塩基配列の第 1 7 2 番目～第 2 8 2 番目、第 2 1 4 番目～第 2
8 2 番目、第 2 2 3 番目～第 2 8 2 番目、第 2 4 7 番目～第 2 8 2 番目また
は第 2 5 0 番目～第 2 8 2 番目の塩基配列からなる DNA、

15 (x) 配列番号：7 または 22 で表わされるアミノ酸配列の第 1 1 8 番目
(Phe) ～第 1 2 5 番目 (Phe)、第 1 1 9 番目 (Pro) ～第 1 2 5 番目 (Phe)、
第 1 2 0 番目 (Ser) ～第 1 2 5 番目 (Phe) または第 1 2 1 番目 (Leu) ～第
1 2 5 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるラット RFRP-3 をコードする
DNA としては、それぞれ配列番号：8 または 51 で表わされる塩基配列の
20 第 3 5 2 番目～第 3 7 5 番目、第 3 5 5 番目～第 3 7 5 番目、第 3 5 8 番目
～第 3 7 5 番目または第 3 6 1 番目～第 3 7 5 番目の塩基配列からなる DN
A などが用いられる。

RFRP またはその部分ペプチドを完全にコードする DNA のクローニン
グは、WO 00/29441 号、WO 01/66134 号などに記載の方法
25 に従って行うことができる。

また、RFRP またはその部分ペプチドをコードする DNA から RFRP
またはその部分ペプチドを製造する場合、WO 00/29441 号、WO 0
1/66134 号などに記載の方法に従って行うことができる。

RFRPもしくはその部分ペプチド、後述のOT7T022もしくはその部分ペプチド、およびこれらをコードするDNAは、自体公知の方法で標識化されていてもよく、具体的にはアイソトープラベル化されたもの、蛍光標識されたもの（例えば、フルオレセインなどによる蛍光標識）、ビオチン化されたものまたは酵素標識されたものなどがあげられる。

RFRPもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩、RFRP部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩に対するレセプター蛋白質OT7T022（以下、OT7T022と略記する）としては、例えば、配列番号：11で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは

10 は実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質が用いられる。

OT7T022は、例えば、哺乳動物（例えば、ヒト、モルモット、ラット、マウス、ウサギ、ブタ、ヒツジ、ウシ、サルなど）のあらゆる細胞（例えば、脾細胞、神経細胞、グリア細胞、膵臓β細胞、骨髄細胞、メサングウム細胞、ランゲルハンス細胞、表皮細胞、上皮細胞、内皮細胞、繊維芽細胞、

15 繊維細胞、筋細胞、脂肪細胞、免疫細胞（例、マクロファージ、T細胞、B細胞、ナチュラルキラー細胞、肥満細胞、好中球、好塩基球、好酸球、単球）、巨核球、滑膜細胞、軟骨細胞、骨細胞、骨芽細胞、破骨細胞、乳腺細胞、肝細胞もしくは間質細胞、またはこれら細胞の前駆細胞、幹細胞もしくはガン細胞など）や血球系の細胞、またはそれらの細胞が存在するあらゆる組織、

20 例えば、脳、脳の各部位（例、嗅球、扁桃核、大脳基底核、海馬、視床、視床下部、視床下核、大脳皮質、延髄、小脳、後頭葉、前頭葉、側頭葉、被殻、尾状核、脳幹、黒質）、脊髄、下垂体、胃、膵臓、腎臓、肝臓、生殖腺、甲状腺、胆のう、骨髄、副腎、皮膚、筋肉、肺、消化管（例、大腸、小腸）、血管、心臓、胸腺、脾臓、顎下腺、末梢血、末梢血球、前立腺、睾丸、精巣、

25 卵巣、胎盤、子宮、骨、関節、骨格筋など（特に、脳や脳の各部位）に由来する蛋白質であってもよく、また合成蛋白質であってもよい。

配列番号：11で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列としては、例えば、配列番号：11で表わされるアミノ酸配列と約50%以

上、好ましくは約70%以上、より好ましくは約80%以上、さらに好ましくは約90%以上、最も好ましくは約95%以上の相同性を有するアミノ酸配列などが挙げられる。

5 配列番号：11で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列を含有する蛋白質としては、例えば、配列番号：11で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列を有し、配列番号：11で表わされるアミノ酸配列からなるOT7T022と実質的に同質の活性を有するレセプター蛋白質などが好ましく、具体的には、配列番号：24で表されるアミノ酸配列からなるレセプター蛋白質などがあげられる。

10 アミノ酸配列の相同性は、相同性計算アルゴリズムNCBI BLAST (National Center for Biotechnology Information Basic Local Alignment Search Tool) を用い、以下の条件(期待値=10; ギャップを許す; マトリクス=BLOSUM62; フィルタリング=OFF) にて計算
15 することができる。

実質的に同質の活性としては、例えば、リガンド結合活性またはシグナル情報伝達作用などが挙げられる。実質的に同質とは、それらの活性が性質的に同質であることを示す。したがって、リガンド結合活性またはシグナル情報伝達作用などの活性が同等(例、約0.01~100倍、好ましくは約0.
20 5~20倍、より好ましくは約0.5~2倍)であることが好ましいが、これらの活性の程度や蛋白質の分子量などの量的要素は異なってもよい。

リガンド結合活性またはシグナル情報伝達作用などの活性の測定は、自体公知の方法に準じて行なうことができるが、例えば、後述するリガンドの決定方法やスクリーニング方法に従って測定することができる。

25 また、OT7T022としては、①配列番号：11または配列番号：24で表わされるアミノ酸配列中の1または2個以上(好ましくは、1~30個程度、より好ましくは1~10個程度、さらに好ましくは数個(1または2個))のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列、②配列番号：11または配列番

号：24で表わされるアミノ酸配列に1または2個以上（好ましくは、1～30個程度、より好ましくは1～10個程度、さらに好ましくは数個（1または2個））のアミノ酸が付加したアミノ酸配列、③配列番号：11または配列番号：24で表わされるアミノ酸配列中の1または2個以上（好ましくは、1～30個程度、より好ましくは1～10個程度、さらに好ましくは数個（1または2個））のアミノ酸が他のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列、または④それら欠失・付加・置換を組み合わせたアミノ酸配列からなるレセプター蛋白質なども用いられる。

本明細書におけるOT7T022は、ペプチド標記の慣例に従って左端がN末端（アミノ末端）、右端がC末端（カルボキシル末端）である。配列番号：11で表わされるアミノ酸配列からなるOT7T022をはじめとするOT7T022は、C末端がカルボキシル基（ —COOH ）、カルボキシレート（ —COO^- ）、アミド（ —CONH_2 ）またはエステル（ —COOR ）のいずれであってもよい。

ここでエステルにおけるRとしては、例えば、メチル、エチル、 n -プロピル、イソプロピルもしくは n -ブチルなどの C_{1-6} アルキル基、例えば、シクロペンチル、シクロヘキシルなどの C_{3-8} シクロアルキル基、例えば、フェニル、 α -ナフチルなどの C_{6-12} アリール基、例えば、ベンジル、フェネチルなどのフェニル- C_{1-2} アルキル基もしくは α -ナフチルメチルなどの α -ナフチル- C_{1-2} アルキル基などの C_{7-14} アラルキル基のほか、経口用エステルとして汎用されるピバロイルオキシメチル基などが用いられる。

OT7T022がC末端以外にカルボキシル基（またはカルボキシレート）を有している場合、カルボキシル基がアミド化またはエステル化されているものもOT7T022の範囲に含まれる。この場合のエステルとしては、例えば上記したC末端のエステルなどが用いられる。

さらに、OT7T022には、上記したOT7T022において、N末端のメチオニン残基のアミノ基が保護基（例えば、ホルミル基、アセチルなどの C_{2-6} アルカノイル基などの C_{1-6} アシル基など）で保護されているもの、

N端側が生体内で切断され生成したグルタミル基がピログルタミン酸化したもの、分子内のアミノ酸の側鎖上の置換基（例えば、 $-OH$ 、 $-SH$ 、アミノ基、イミダゾール基、インドール基、グアニジノ基など）が適当な保護基（例えば、ホルミル基、アセチルなどの C_{2-6} アルカノイル基などの C_{1-6} アシル基など）で保護されているもの、あるいは糖鎖が結合したいわゆる糖蛋白質などの複合蛋白質なども含まれる。

OT7T022の具体例としては、例えば、配列番号：11で表わされるアミノ酸配列からなるラットOT7T022、配列番号：24で表されるアミノ酸配列からなるヒトOT7T022などが用いられる。

OT7T022の部分ペプチドとしては、前記したOT7T022の部分ペプチドであれば何れのものであってもよいが、例えば、OT7T022蛋白質分子のうち、細胞膜の外に露出している部位であって、レセプター結合活性を有するものなどが用いられる。

具体的には、配列番号：11または配列番号：24で表わされるアミノ酸配列からなるOT7T022の部分ペプチドとしては、疎水性プロット解析において細胞外領域（親水性（Hydrophilic）部位）であると分析された部分を含むペプチドである。また、疎水性（Hydrophobic）部位を一部を含むペプチドも同様に用いることができる。個々のドメインを個別に含むペプチドも用い得るが、複数のドメインを同時に含む部分のペプチドでも良い。

OT7T022の部分ペプチドのアミノ酸の数は、前記したOT7T022の構成アミノ酸配列のうち少なくとも20個以上、好ましくは50個以上、より好ましくは100個以上のアミノ酸配列からなるペプチドなどが好ましい。

また、OT7T022の部分ペプチドは、上記アミノ酸配列中の1または2個以上（好ましくは、1～10個程度、さらに好ましくは数個（1または2個））のアミノ酸が欠失し、または、そのアミノ酸配列に1または2個以上（好ましくは、1～20個程度、より好ましくは1～10個程度、さらに好ましくは数個（1または2個））のアミノ酸が付加し、または、そのアミ

ノ酸配列中の1または2個以上（好ましくは、1～10個程度、より好ましくは数個（1または2個））のアミノ酸が他のアミノ酸で置換されていてもよい。

また、OT7T022の部分ペプチドはC末端がカルボキシル基（ $-\text{COOH}$ ）、カルボキシレート（ $-\text{COO}^-$ ）、アミド（ $-\text{CONH}_2$ ）またはエステル（ $-\text{COOR}$ ）（Rは上記と同意義を示す）のいずれであってもよい。

OT7T022の部分ペプチドがC末端以外にカルボキシル基（またはカルボキシレート）を有している場合、カルボキシル基がアミド化またはエステル化されているものもOT7T022の範囲に含まれる。この場合のエステルとしては、例えば上記したC末端のエステルなどが用いられる。

さらに、OT7T022の部分ペプチドには、前記したOT7T022と同様に、N末端のメチオニン残基のアミノ基が保護基で保護されているもの、N端側が生体内で切断され生成したグルタミル基がピログルタミン酸化したもの、分子内のアミノ酸の側鎖上の置換基が適当な保護基で保護されているもの、あるいは糖鎖が結合したいわゆる糖ペプチドなどの複合ペプチドなども含まれる。

OT7T022またはその部分ペプチドの塩としては、とりわけ生理学的に許容される酸付加塩が好ましい。このような塩としては、例えば無機酸（例えば、塩酸、リン酸、臭化水素酸、硫酸）との塩、あるいは有機酸（例えば、酢酸、ギ酸、プロピオン酸、フマル酸、マレイン酸、コハク酸、酒石酸、クエン酸、リンゴ酸、蔞酸、安息香酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸）との塩などが用いられる。

OT7T022またはその塩、およびOT7T022を発現する細胞またはその細胞膜画分は、WO00/29441号、WO01/66134号などに記載の方法に従って製造することができる。

OT7T022をコードするポリヌクレオチドとしては、OT7T022をコードする塩基配列（DNAまたはRNA、好ましくはDNA）を含有するものであればいかなるものであってもよい。該ポリヌクレオチドとしては、

OT7T022をコードするDNA、mRNA等のRNAであり、二本鎖であっても、一本鎖であってもよい。二本鎖の場合は、二本鎖DNA、二本鎖RNAまたはDNA:RNAのハイブリッドでもよい。一本鎖の場合は、センス鎖（即ち、コード鎖）であっても、アンチセンス鎖（即ち、非コード鎖）であってもよい。

OT7T022をコードするポリヌクレオチドを用いて、例えば、公知の実験医学増刊「新PCRとその応用」15(7)、1997記載の方法またはそれに準じた方法により、OT7T022のmRNAを定量することができる。

OT7T022をコードするDNAとしては、ゲノムDNA、ゲノムDNAライブラリー、前記した細胞・組織由来のcDNA、前記した細胞・組織由来のcDNAライブラリー、合成DNAのいずれでもよい。ライブラリーに使用するベクターは、バクテリオファージ、プラスミド、コスミド、ファージミドなどいずれであってもよい。また、前記した細胞・組織よりtotalRNAまたはmRNA画分を調製したものをを用いて直接Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction（以下、RT-PCR法と略称する）によって増幅することもできる。

具体的には、OT7T022をコードするDNAとしては、例えば、配列番号：12、配列番号：25または配列番号：26で表わされる塩基配列を含有するDNA、または配列番号：12、配列番号：25または配列番号：26で表わされる塩基配列とハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズする塩基配列を有し、配列番号：11または配列番号：24で表されるアミノ酸配列からなるOT7T022と実質的に同質の活性（例、リガンド結合活性、シグナル情報伝達作用など）を有するレセプター蛋白質をコードするDNAであれば何れのものでもよい。

配列番号：12、配列番号：25または配列番号：26で表わされる塩基配列とハイブリダイズできるDNAとしては、例えば、配列番号：12、配列番号：25または配列番号：26で表わされる塩基配列と約70%以上、好ましくは約80%以上、より好ましくは約90%以上、最も好ましくは約

95%以上の相同性を有する塩基配列を含有するDNAなどが用いられる。

塩基配列の相同性は、相同性計算アルゴリズムNCBI BLAST (National Center for Biotechnology Information Basic Local Alignment Search Tool) を用い、以下の条件（期待値=10；ギャップを許す；フィルタリング=ON；マッチスコア=1；ミスマッチスコア=-3）にて計算することができる。

ハイブリダイゼーションは、自体公知の方法あるいはそれに準じる方法、例えば、モレキュラー・クローニング (Molecular Cloning) 2nd (J. Sambrook et al., Cold Spring Harbor Lab. Press, 1989) に記載の方法などに従って行なうことができる。また、市販のライブラリーを使用する場合、添付の使用説明書に記載の方法に従って行なうことができる。より好ましくは、ハイストリンジェントな条件に従って行なうことができる。

該ハイストリンジェントな条件とは、例えば、ナトリウム濃度が約19～40 mM、好ましくは約19～20 mMで、温度が約50～70℃、好ましくは約60～65℃の条件を示す。特に、ナトリウム濃度が約19 mMで温度が約65℃の場合が最も好ましい。

より具体的には、配列番号：11で表わされるアミノ酸配列からなるラットOT7T022をコードするDNAとしては、配列番号：12で表わされる塩基配列からなるDNAなどが用いられる。配列番号：24で表わされるアミノ酸配列からなるヒトOT7T022をコードするDNAとしては、配列番号：25または配列番号：26で表わされる塩基配列からなるDNAなどが用いられる。

OT7T022の部分ペプチドをコードするDNAとしては、前述したOT7T022の部分ペプチドをコードする塩基配列を含有するものであればいかなるものであってもよい。また、ゲノムDNA、ゲノムDNAライブラリー、前記した細胞・組織由来のcDNA、前記した細胞・組織由来のcDNAライブラリー、合成DNAのいずれでもよい。ライブラリーに使用する

ベクターは、バクテリオファージ、プラスミド、コスミド、ファージミドなどいずれであってもよい。また、前記した細胞・組織より mRNA 画分を調製したものをを用いて直接 Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction (以下、RT-PCR 法と略称する) によって増幅することもできる。

- 5 具体的には、OT 7 T 0 2 2 の部分ペプチドをコードする DNA としては、例えば、(1) 配列番号：1 2、配列番号：2 5 または配列番号：2 6 で表わされる塩基配列を有する DNA の部分塩基配列を有する DNA、または
- (2) 配列番号：1 2、配列番号：2 5 または配列番号：2 6 で表わされる塩基配列とハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズする塩基配列を
- 10 有し、配列番号：1 1 または配列番号：2 4 で表わされるアミノ酸配列からなる OT 7 T 0 2 2 と実質的に同質の活性 (例、リガンド結合活性またはシグナル情報伝達作用など) を有するレセプター蛋白質をコードする DNA の部分塩基配列を有する DNA などが用いられる。

- OT 7 T 0 2 2 またはその部分ペプチドをコードする DNA から OT 7 T
- 15 0 2 2 またはその部分ペプチドを製造する場合、WO 0 0 / 2 9 4 4 1 号、WO 0 1 / 6 6 1 3 4 号などに記載の方法に従って行うことができる。

- RFRP、その部分ペプチド、もしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩に対する抗体は、自体公知の方法、例えば WO 0 0 / 2 9 4 4
- 1 号、WO 0 1 / 6 6 1 3 4 号などに記載の方法に従って製造し、使用する
- 20 ことができる。

OT 7 T 0 2 2、その部分ペプチドまたはその塩に対する抗体は、自体公知の方法、例えば WO 0 0 / 2 9 4 4 1 号、WO 0 1 / 6 6 1 3 4 号などに記載の方法に従って製造し、使用することができる。

- RFRP または OT 7 T 0 2 2 をコードする DNA の塩基配列の一部、ま
- 25 たは該 DNA と相補的な塩基配列の一部を含有してなるポリヌクレオチドとは、上記した RFRP または OT 7 T 0 2 2 の部分ペプチドをコードする DNA を包含するだけでなく、RNA をも包含する意味で用いられる。

本発明に従えば、RFRP 遺伝子または OT 7 T 0 2 2 遺伝子の複製また

は発現を阻害することのできるアンチセンス・ポリヌクレオチド（核酸）を、クローン化した、あるいは決定されたRFRPまたはOT7T022をコードするDNAの塩基配列情報に基づき設計し、合成しうる。そうしたポリヌクレオチド（核酸）は、RFRP遺伝子またはOT7T022遺伝子のRNAとハイブリダイズすることができ、該RNAの合成または機能を阻害することができるか、あるいはRFRP関連RNAまたはOT7T022関連RNAとの相互作用を介してRFRP遺伝子またはOT7T022遺伝子の発現を調節・制御することができる。RFRP関連RNAまたはOT7T022関連RNAの選択された配列に相補的なポリヌクレオチド、およびRFRP関連RNAまたはOT7T022関連RNAと特異的にハイブリダイズすることができるポリヌクレオチドは、生体内および生体外でRFRP遺伝子またはOT7T022遺伝子の発現を調節・制御するのに有用であり、また病気などの治療または診断に有用である。用語「対応する」とは、遺伝子を含めたヌクレオチド、塩基配列または核酸の特定の配列に相同性を有するあるいは相補的であることを意味する。ヌクレオチド、塩基配列または核酸とペプチド（蛋白質）との間で「対応する」とは、ヌクレオチド（核酸）の配列またはその相補体から誘導される指令にあるペプチド（蛋白質）のアミノ酸を通常指している。OT7T022遺伝子の5'端ヘアピンループ、5'端6-ベースペア・リピート、5'端非翻訳領域、ポリペプチド翻訳開始コドン、蛋白質コード領域、ORF翻訳開始コドン、3'端非翻訳領域、3'端パリンδροーム領域、および3'端ヘアピンループは好ましい対象領域として選択しうるが、RFRP遺伝子またはOT7T022遺伝子内の如何なる領域も対象として選択しうる。

目的核酸と、対象領域の少なくとも一部に相補的でハイブリダイズすることができるポリヌクレオチドとの関係は、対象物と「アンチセンス」であるということができる。アンチセンス・ポリヌクレオチドは、2-デオキシ-D-リボースを含有しているポリデオキシリボヌクレオチド、D-リボースを含有しているポリリボヌクレオチド、プリンまたはピリミジン塩基のN-

- グリコシドであるその他のタイプのポリヌクレオチド、あるいは非ヌクレオチド骨格を有するその他のポリマー（例えば、市販の蛋白質核酸および合成配列特異的な核酸ポリマー）または特殊な結合を含有するその他のポリマー（但し、該ポリマーはDNAやRNA中に見出されるような塩基のペアリングや塩基の付着を許容する配置をもつヌクレオチドを含有する）などが挙げられる。それらは、2本鎖DNA、1本鎖DNA、2本鎖RNA、1本鎖RNA、さらにDNA:RNAハイブリッドであることができ、さらに非修飾ポリヌクレオチド（または非修飾オリゴヌクレオチド）、さらには公知の修飾の付加されたもの、例えば当該分野で知られた標識のあるもの、キャップの付いたもの、メチル化されたもの、1個以上の天然のヌクレオチドを類縁物で置換したもの、分子内ヌクレオチド修飾のされたもの、例えば非荷電結合（例えば、メチルホスホネート、ホスホトリエステル、ホスホルアミデート、カルバメートなど）を持つもの、電荷を有する結合または硫黄含有結合（例えば、ホスホロチオエート、ホスホロジチオエートなど）を持つもの、
- 15 例えば蛋白質（ヌクレアーゼ、ヌクレアーゼ・インヒビター、トキシン、抗体、シグナルペプチド、ポリ-L-リジンなど）や糖（例えば、モノサッカライドなど）などの側鎖基を有しているもの、インターカレント化合物（例えば、アクリジン、プソラレンなど）を持つもの、キレート化合物（例えば、金属、放射活性をもつ金属、ホウ素、酸化性の金属など）を含有するもの、
- 20 アルキル化剤を含有するもの、修飾された結合を持つもの（例えば、 α アノマー型の核酸など）であってもよい。ここで「ヌクレオシド」、「ヌクレオチド」および「核酸」とは、プリンおよびピリミジン塩基を含有するのみでなく、修飾されたその他の複素環型塩基をもつようなものを含んでいて良い。こうした修飾物は、メチル化されたプリンおよびピリミジン、アシル化されたプリンおよびピリミジン、あるいはその他の複素環を含むものであってよい。
- 25 修飾されたヌクレオチドおよび修飾されたヌクレオチドはまた糖部分が修飾されていてよく、例えば、1個以上の水酸基がハロゲンとか、脂肪族基などで置換されていたり、あるいはエーテル、アミンなどの官能基に変換さ

れていてよい。

本発明のアンチセンス・ポリヌクレオチド（核酸）は、RNA、DNA、あるいは修飾された核酸（RNA、DNA）である。修飾された核酸の具体例としては核酸の硫黄誘導体やチオホスフェート誘導体、そしてポリヌクレオシドアミドやオリゴヌクレオシドアミドの分解に抵抗性のものが挙げられるが、それに限定されるものではない。本発明のアンチセンス核酸は次のような方針で好ましく設計されうる。すなわち、細胞内でのアンチセンス核酸をより安定なものにする、アンチセンス核酸の細胞透過性をより高める、目標とするセンス鎖に対する親和性をより大きなものにする、そしてもし毒性があるならアンチセンス核酸の毒性をより小さなものにする。

こうして修飾は当該分野で数多く知られており、例えば J. Kawakami et al., Pharm Tech Japan, Vol. 8, pp. 247, 1992; Vol. 8, pp. 395, 1992; S. T. Crooke et al. ed., Antisense Research and Applications, CRC Press, 1993 などに開示がある。

本発明のアンチセンス核酸は、変化せしめられたり、修飾された糖、塩基、結合を含有していて良く、リポゾーム、ミクロスフェアのような特殊な形態で供与されたり、遺伝子治療により適用されたり、付加された形態で与えられることができる。こうして付加形態で用いられるものとしては、リン酸基骨格の電荷を中和するように働くポリリジンのようなポリカチオン体、細胞膜との相互作用を高めたり、核酸の取込みを増大せしめるような脂質（例えば、ホスホリピド、コレステロールなど）といった粗水性のものが挙げられる。付加するに好ましい脂質としては、コレステロールやその誘導体（例えば、コレステリルクロホルメート、コール酸など）が挙げられる。こうしたものは、核酸の3' 端あるいは5' 端に付着させることができ、塩基、糖、分子内ヌクレオシド結合を介して付着させることができる。その他の基としては、核酸の3' 端あるいは5' 端に特異的に配置されたキャップ用の基で、エキソヌクレアーゼ、RNaseなどのヌクレアーゼによる分解を阻止するためのものが挙げられる。こうしたキャップ用の基としては、ポリ

エチレングリコール、テトラエチレングリコールなどのグリコールをはじめとした当該分野で知られた水酸基の保護基が挙げられるが、それに限定されるものではない。

5 アンチセンス核酸の阻害活性は、本発明の形質転換体、本発明の生体内や生体外の遺伝子発現系、あるいはG蛋白質共役型レセプター蛋白質の生体内や生体外の翻訳系を用いて調べることができる。該核酸それ自体公知の各種の方法で細胞に適用できる。

10 RFRPまたはOT7T022をコードするポリヌクレオチドに対する siRNA（以下、本発明の siRNA）は、RFRPまたはOT7T022をコードするRNAの一部とそれに相補的なRNAを含有する二重鎖RNAである。

siRNAは、公知の方法（例、Nature, 411巻, 494頁, 2001年）に準じて、本発明のポリヌクレオチドの配列を基に設計して製造することができる。

15 RFRPまたはOT7T022をコードするRNAの一部を含有するリボザイムは、公知の方法（例、TRENDS in Molecular Medicine, 7巻, 221頁, 2001年）に準じて、本発明のポリヌクレオチドの配列を基に設計して製造することができる。例えば、公知のリボザイムの配列の一部をRFRPまたはOT7T022をコードするRNAの一部に置換することによって製造することができる。RFRPまたはOT7T022をコードするRNAの一部として
20 は、公知のリボザイムによって切断され得るコンセンサス配列NUX（式中、Nはすべての塩基を、XはG以外の塩基を示す）の近傍の配列などが挙げられる。

後述するように、OT7T022を欠損した非ヒト哺乳動物の表現型から、RFRPおよびOT7T022は、例えば、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、
25 筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下など、特に筋疾患、副腎

機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下などに関与していることが分かった。

したがって、①RFRP、その部分ペプチド、もしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩（以下、RFRPと略記する）、②RFRPをコードするDNA、③RFRPに対する抗体、④RFRPをコードするDNAに対するアンチセンスDNA、⑤OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩（OT7T022と略記する）、⑥OT7T022をコードするDNA、⑦OT7T022に対する抗体、⑧OT7T022をコードするDNAに対するアンチセンスDNAは、以下のような用途を有している。

（1）RFRPの機能不全に関連する疾患の予防・治療・改善剤

a) RFRP、b) RFRPをコードするDNA、c) OT7T022またはd) OT7T022をコードするDNAを、RFRPまたはOT7T022の機能不全に関連する疾患の予防・治療・改善剤などの医薬として使用することができる。

例えば、生体内においてRFRPまたはOT7T022が減少しているために、RFRPまたはOT7T022の機能が期待できない患者がいる場合に、a) RFRPを該患者に投与し該RFRPの量を補充したり、b) (イ) RFRPをコードするDNAまたはOT7T022をコードするDNAを該患者に投与し発現させることによって、あるいは(ロ) 対象となる細胞にRFRPをコードするDNAまたはOT7T022をコードするDNAを挿入し発現させた後に、該細胞を該患者に移植することなどによって、患者の体内におけるRFRPまたはOT7T022の量を増加させ、RFRPまたはOT7T022の機能を十分に発揮させることができる。すなわち、RFRPをコードするDNAまたはOT7T022をコードするDNAは、安全で低毒性なRFRPまたはOT7T022の機能不全に関連する疾患の予防および／または治療剤として有用である。

具体的には、a) RFRP、b) RFRPをコードするDNA、c) OT

7 T 0 2 2 または d) O T 7 T 0 2 2 をコードする DNA は、例えば、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下など、特に、筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤として使用することができる。

10 R F R P または O T 7 T 0 2 2 を上記予防・治療・改善剤として使用する場合は、常套手段に従って製剤化することができる。

一方、R F R P をコードする DNA または O T 7 T 0 2 2 をコードする DNA を上記予防・治療・改善剤として使用する場合は、これら DNA を単独あるいはレトロウイルスベクター、アデノウイルスベクター、アデノウイルスアソシエーテッドウイルスベクターなどの適当なベクターに挿入した後、常套手段に従って実施することができる。DNA は、そのまま、あるいは

15 摂取促進のための補助剤とともに、遺伝子銃やハイドロゲルカテーテルのようなカテーテルによって投与できる。

例えば、a) R F R P、b) R F R P をコードする DNA、c) O T 7 T 0 2 2 または d) O T 7 T 0 2 2 をコードする DNA は、必要に応じて糖衣を施した錠剤、カプセル剤、エリキシル剤、マイクロカプセル剤などとして経口的に、あるいは水もしくはそれ以外の薬学的に許容し得る液との無菌性溶液、または懸濁液剤などの注射剤の形で非経口的に使用できる。例えば、

20 a) R F R P、b) R F R P をコードする DNA、c) O T 7 T 0 2 2 または d) O T 7 T 0 2 2 をコードする DNA を生理学的に認められる公知の担体、香味剤、賦形剤、ベヒクル、防腐剤、安定剤、結合剤などとともに一般に認められた製剤実施に要求される単位用量形態で混和することによって製造することができる。これら製剤における有効成分量は指示された範囲の適

25

当な容量が得られるようにするものである。

- 錠剤、カプセル剤などに混和することができる添加剤としては、例えば、ゼラチン、コーンスターチ、トラガント、アラビアゴムのような結合剤、結晶性セルロースのような賦形剤、コーンスターチ、ゼラチン、アルギン酸などのような膨化剤、ステアリン酸マグネシウムのような潤滑剤、ショ糖、乳糖またはサッカリンのような甘味剤、ペパーミント、アカモノ油またはチェリーのような香味剤などが用いられる。調剤単位形態がカプセルである場合には、上記タイプの材料にさらに油脂のような液状担体を含有することができる。注射のための無菌組成物は注射用水のようなベヒクル中の活性物質、
- 10 胡麻油、椰子油などのような天然産出植物油などを溶解または懸濁させるなどの通常の製剤実施に従って処方することができる。注射用の水性液としては、例えば、生理食塩水、ブドウ糖やその他の補助薬を含む等張液（例えば、D-ソルビトール、D-マンニトール、塩化ナトリウムなど）などが用いられ、適当な溶解補助剤、例えば、アルコール（例、エタノール）、ポリアルコール（例、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール）、非イオン性界面活性剤（例、ポリソルベート 80TM、HCO-50）などと併用してもよい。油性液としては、例えば、ゴマ油、大豆油などが用いられ、溶解補助剤である安息香酸ベンジル、ベンジルアルコールなどと併用してもよい。
- 15

- また、上記予防・治療・改善剤は、例えば、緩衝剤（例えば、リン酸塩緩衝液、酢酸ナトリウム緩衝液）、無痛化剤（例えば、塩化ベンザルコニウム、塩酸プロカインなど）、安定剤（例えば、ヒト血清アルブミン、ポリエチレングリコールなど）、保存剤（例えば、ベンジルアルコール、フェノールなど）、酸化防止剤などと配合してもよい。調製された注射液は通常、適当なアンプルに充填される。
- 20

- 25 このようにして得られる製剤は安全で低毒性であるので、例えば、ヒトや哺乳動物（例えば、ラット、マウス、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サルなど）に対して投与することができる。

RFRPの投与量は、投与対象、対象臓器、症状、投与方法などにより差

異はあるが、経口投与の場合、一般的に例えば、痛覚障害患者（体重60kgとして）においては、一日につき約0.1～100mg、好ましくは約1.0～50mg、より好ましくは約1.0～20mgである。非経口的に投与する場合は、その1回投与量は投与対象、対象臓器、症状、投与方法などによっても異なるが、例えば、注射剤の形では通常例えば、痛覚障害患者（体重60kgとして）においては、一日につき約0.01～30mg程度、好ましくは約0.1～20mg程度、より好ましくは約0.1～10mg程度を静脈注射により投与するのが好都合である。他の動物の場合も、体重60kgあたりに換算した量を投与することができる。

10 DNAの投与量は、投与対象、対象臓器、症状、投与方法などにより差異はあるが、経口投与の場合、一般的に例えば、痛覚障害患者（体重60kgとして）においては、一日につき約0.1～100mg、好ましくは約1.0～50mg、より好ましくは約1.0～20mgである。非経口的に投与する場合は、その1回投与量は投与対象、対象臓器、症状、投与方法などによっても異なるが、例えば、注射剤の形では通常例えば、痛覚障害患者（体重60kgとして）においては、一日につき約0.01～30mg程度、好ましくは約0.1～20mg程度、より好ましくは約0.1～10mg程度を静脈注射により投与するのが好都合である。他の動物の場合も、体重60kgあたりに換算した量を投与することができる。

20 (2) 遺伝子診断剤

RFRPをコードするDNA、OT7T022をコードするDNA、またはこれらDNAに対するアンチセンスDNAは、プローブとして使用することにより、ヒトまたは哺乳動物（例えば、ラット、マウス、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サルなど）におけるRFRPまたはOT7T022をコードするDNAまたはmRNAの異常（遺伝子異常）を検出することができるので、例えば、該DNAまたはmRNAの損傷、突然変異あるいは発現低下や、該DNAまたはmRNAの増加あるいは発現過多などの遺伝子診断剤として有用である。

DNAまたはアンチセンスDNAを用いる上記の遺伝子診断は、例えば、自体公知のノーザンハイブリダイゼーションやPCR-SSCP法（ゲノミックス（Genomics），第5巻，874～879頁（1989年）、プロシーディングズ・オブ・ザ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンシイズ・オブ・ユエスエー（Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America），第86巻，2766～2770頁（1989年））などにより実施することができる。

例えば、ノーザンハイブリダイゼーションによりRFRPまたはOT7T022の発現低下または発現過剰が検出された場合は、例えば、RFRPまたはOT7T022の機能不全または過剰発現に関連する疾患である可能性が高いまたは将来罹患する可能性が高いと診断することができる。

RFRPまたはOT7T022の機能不全または過剰発現に関連する疾患としては、例えば、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温変化、白血球数変化、血小板数変化、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の変化、筋力変化など、特に筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温変化、白血球数変化、血小板数変化、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の変化または筋力変化などが挙げられる。

特に、RFRPまたはOT7T022の機能不全に関連する疾患としては、例えば、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下など、特に筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下などが挙げられる。

一方、RFRPまたはOT7T022の過剰発現に関連する疾患としては、

例えば、筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少、痛み、モルヒネ耐性、特に筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少などが挙げられる。

- 5 (3) RFRPまたはOT7T022の発現量を変化させる化合物またはその塩を含有する医薬

RFRPまたはOT7T022をコードするDNAは、プローブとして用いることにより、RFRPまたはOT7T022の発現量を変化させる化合物またはその塩のスクリーニングに用いることができる。

- 10 すなわち、本発明は、例えば、(i) 非ヒト哺乳動物の a) 血液、b) 特定の臓器、c) 臓器から単離した組織もしくは細胞、または(ii) 形質転換体等に含まれるRFRPまたはOT7T022のmRNA量を測定することによる、RFRPまたはOT7T022の発現量を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法を提供する。

- 15 RFRPまたはOT7T022のmRNA量の測定は具体的には以下のように行なう。

- (i) 正常あるいは疾患モデル非ヒト哺乳動物（例えば、マウス、ラット、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サルなど、より具体的には免疫不全モデルラット、マウス、ウサギなど）に対して、薬剤（例えば、免疫調節薬など）あるいは物理的ストレス（例えば、浸水ストレス、電気ショック、
20 明暗、低温など）などを与え、一定時間経過した後に、血液、あるいは特定の臓器（例えば、脳、肝臓、腎臓など）、または臓器から単離した組織、あるいは細胞を得る。

- 得られた細胞に含まれるRFRPまたはOT7T022のmRNAは、例えば、通常の方法により細胞等からmRNAを抽出し、例えば、TaqMan
25 PCRなどの手法を用いることにより定量することができ、自体公知の手段によりノーザンブロットを行うことにより解析することもできる。

- (ii) RFRPまたはOT7T022を発現する形質転換体をWO00／

29441号またはWO01/66134号に記載の方法に従い作製し、該形質転換体に含まれるRFRPまたはOT7T022のmRNAを同様にし
て定量、解析することができる。

5 RFRPまたはOT7T022の発現量を変化させる化合物またはその塩
のスクリーニングは、

(i) 正常あるいは疾患モデル非ヒト哺乳動物に対して、薬剤あるいは物理的ストレスなどを与える一定時間前（30分前～24時間前、好ましくは30分前～12時間前、より好ましくは1時間前～6時間前）もしくは一定時間後（30分後～3日後、好ましくは1時間後～2日後、より好ましくは1時間後～24時間後）、または薬剤あるいは物理的ストレスと同時に試験化合物を投与し、投与後一定時間経過後（30分後～3日後、好ましくは1時間後～2日後、より好ましくは1時間後～24時間後）、細胞に含まれるRFRPまたはOT7T022のmRNA量を定量、解析することにより行なうことができ、

15 (ii) 形質転換体を常法に従い培養する際に試験化合物を培地中に混合させ、一定時間培養後（1日後～7日後、好ましくは1日後～3日後、より好ましくは2日後～3日後）、該形質転換体に含まれるRFRPまたはOT7T022のmRNA量を定量、解析することにより行なうことができる。

試験化合物としては、例えば、ペプチド、蛋白質、非ペプチド性化合物、
20 合成化合物、発酵生産物、細胞抽出液、植物抽出液、動物組織抽出液、血漿などが用いられ、これら化合物は新規な化合物であってもよいし、公知の化合物であってもよい。

試験化合物は塩を形成していてもよく、試験化合物の塩としては、生理学的に許容される酸（例、無機酸など）や塩基（例、有機酸など）などとの塩
25 が用いられ、とりわけ生理学的に許容される酸付加塩が好ましい。このような塩としては、例えば、無機酸（例えば、塩酸、リン酸、臭化水素酸、硫酸など）との塩、あるいは有機酸（例えば、酢酸、ギ酸、プロピオン酸、フマル酸、マレイン酸、コハク酸、酒石酸、クエン酸、リンゴ酸、蔞酸、安息香酸、

メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸など)との塩などが用いられる。

本発明のスクリーニング方法を用いて得られる化合物またはその塩は、RFRPまたはOT7T022の発現量を変化させる作用を有する化合物またはその塩であり、具体的には、(イ)RFRPまたはOT7T022の発現量を増加させることにより、OT7T022を介する細胞刺激活性(例えば、アラキドン酸遊離、アセチルコリン遊離、細胞内 Ca^{2+} 遊離、細胞内cAMP生成、細胞内cAMP生成抑制、細胞内cGMP生成、イノシトールリン酸産生、細胞膜電位変動、細胞内蛋白質のリン酸化、c-fosの活性化、pHの低下などを促進する活性または抑制する活性など)を増強させる化合物またはその塩、(ロ)RFRPの発現量を減少させることにより、該細胞刺激活性を減弱させる化合物またはその塩である。

本発明のスクリーニング方法を用いて得られる化合物としては、ペプチド、蛋白質、非ペプチド性化合物、合成化合物、発酵生産物、細胞抽出液、植物抽出液、動物組織抽出液、血漿などが挙げられ、これら化合物は新規な化合物であってもよいし、公知の化合物であってもよい。

該化合物の塩としては、前記したRFRPの塩と同様のものが用いられる。

上記スクリーニング方法で得られるRFRPまたはOT7T022の発現量を増加させる化合物またはその塩は、例えば、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温変化、白血球数変化、血小板数変化、自発行動量(特に、夜間自発行動量)の変化、筋力変化など、好ましくは筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温変化、白血球数変化、血小板数変化、自発行動量(特に、夜間自発行動量)の変化または筋力変化、特に筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量(特に、夜間自発行動量)の増加、筋力低下に対する安全で低毒性な予防・治療・改善剤として用いることができる。

上記スクリーニング方法で得られるRFRPまたはOT7T022の発現量を減少させる化合物またはその塩は、例えば、筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少に対する安全で低毒性な予防・治療・改善剤、鎮痛剤、モルヒネの鎮痛作用促進剤、モルヒネ耐性回避剤、モルヒネ依存性回避剤などとして用いることができる。

本発明のスクリーニング方法を用いて得られる化合物またはその塩を医薬組成物として使用する場合、常套手段に従って製剤化することができる。具体的には、上記したRFRPを含有する予防・治療・改善剤と同様に製造することができる。

得られる製剤は安全で低毒性であるので、例えば、ヒトや哺乳動物（例えば、ラット、マウス、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サルなど）に対して投与することができる。

該化合物またはその塩の投与量は、投与対象、対象臓器、症状、投与方法などにより差異はあるが、経口投与の場合、一般的に例えば、痛覚障害患者（体重60kgとして）においては、一日につきRFRPまたはOT7T022の発現量を増加させる化合物またはその塩を約0.1～100mg、好ましくは約1.0～50mg、より好ましくは約1.0～20mgである。非経口的に投与する場合は、その1回投与量は投与対象、対象臓器、症状、投与方法などによっても異なるが、例えば、注射剤の形では、通常例えば、痛覚障害患者（体重60kgとして）においては、一日につきRFRPまたはOT7T022の発現量を増加させる化合物またはその塩を約0.01～30mg程度、好ましくは約0.1～20mg程度、より好ましくは約0.1～10mg程度を静脈注射により投与するのが好都合である。他の動物の場合も、体重60kgあたりに換算した量を投与することができる。

（４）抗体を用いる診断方法

RFRPまたはOT7T022に対する抗体（以下、本発明の抗体と略記する）は、RFRPまたはOT7T022を特異的に認識することができる

ので、被検液中のRFRPまたはOT7T022の検出や中和に使用することができる。

すなわち、本発明は、

(i) 本発明の抗体と、被検液および標識化されたRFRPまたはOT7T022とを競合的に反応させ、該抗体に結合した標識化されたRFRPまたはOT7T022の割合を測定することを特徴とする被検液中のRFRPまたはOT7T022の定量法、および

(ii) 被検液と担体上に不溶化した本発明の抗体および標識化された本発明の別の抗体とを同時あるいは連続的に反応させたのち、不溶化担体上の標識剤の活性を測定することを特徴とする被検液中のRFRPまたはOT7T022の定量法を提供する。

上記(ii)の定量法においては、一方の抗体がRFRPまたはOT7T022のN端部を認識する抗体で、他方の抗体がRFRPまたはOT7T022のC端部に反応する抗体であることが望ましい。

また、RFRPまたはOT7T022に対するモノクローナル抗体(以下、本発明のモノクローナル抗体)を用いてRFRPまたはOT7T022の定量を行うことができるほか、組織染色等による検出を行なうこともできる。これらの目的には、抗体分子そのものを用いてもよく、また、抗体分子のF(ab')₂、Fab'、あるいはFab画分を用いてもよい。

本発明の抗体を用いるRFRPまたはOT7T022の定量法は、特に制限されるべきものではなく、被測定液中の抗原量(例えば、RFRP量またはOT7T022量)に対応した抗体、抗原もしくは抗体-抗原複合体の量を化学的または物理的手段により検出し、これを既知量の抗原を含む標準液を用いて作製した標準曲線より算出する測定法であれば、いずれの測定法を用いてもよい。例えば、ネフロメトリー、競合法、イムノメトリック法およびサンドイッチ法が好適に用いられるが、感度、特異性の点で、後述するサンドイッチ法を用いるのが特に好ましい。

標識物質を用いる測定法に用いられる標識剤としては、例えば、放射性同

- 位元素、酵素、蛍光物質、発光物質などが用いられる。放射性同位元素としては、例えば、 $[^{125}\text{I}]$ 、 $[^{131}\text{I}]$ 、 $[^3\text{H}]$ 、 $[^{14}\text{C}]$ などが用いられる。上記酵素としては、安定で比活性の大きなものが好ましく、例えば、 β -ガラクトシダーゼ、 β -グルコシダーゼ、アルカリフォスファターゼ、パーオキシダーゼ、リンゴ酸脱水素酵素などが用いられる。蛍光物質としては、例えば、フルオレスカミン、フルオレッセンイソチオシアネートなどが用いられる。発光物質としては、例えば、ルミノール、ルミノール誘導体、ルシフェリン、ルシゲニンなどが用いられる。さらに、抗体あるいは抗原と標識剤との結合にビオチン-アビジン系を用いることもできる。
- 10 抗原あるいは抗体の不溶化に当っては、物理吸着を用いてもよく、また通常酵素等を不溶化、固定化するのに用いられる化学結合を用いる方法でもよい。担体としては、アガロース、デキストラン、セルロースなどの不溶性多糖類、ポリスチレン、ポリアクリルアミド、シリコン等の合成樹脂、あるいはガラス等があげられる。
- 15 サンドイッチ法においては不溶化した本発明のモノクローナル抗体に被検液を反応させ（1次反応）、さらに標識化した別の本発明のモノクローナル抗体を反応させ（2次反応）たのち、不溶化担体上の標識剤の活性を測定することにより被検液中のRFRP量を定量することができる。1次反応と2次反応は逆の順序に行っても、また、同時に行なってもよいし時間をずらして行なってもよい。標識化剤および不溶化の方法は前記のそれらに準じることができる。また、サンドイッチ法による免疫測定法において、固相用抗体あるいは標識用抗体に用いられる抗体は必ずしも1種類である必要はなく、測定感度を向上させる等の目的で2種類以上の抗体の混合物を用いてもよい。
- 20 本発明のサンドイッチ法によるRFRPまたはOT7T022の測定法においては、1次反応と2次反応に用いられる本発明のモノクローナル抗体は、RFRPまたはOT7T022の結合する部位が相異なる抗体が好ましく用いられる。すなわち、1次反応および2次反応に用いられる抗体は、例えば、2次反応で用いられる抗体が、RFRPまたはOT7T022のC端部を認

識する場合、1次反応で用いられる抗体は、好ましくはC端部以外、例えばN端部を認識する抗体が用いられる。

本発明のモノクローナル抗体をサンドイッチ法以外の測定システム、例えば、競合法、イムノメトリック法あるいはネフロメトリーなどに用いることができる。

競合法では、被検液中の抗原と標識抗原とを抗体に対して競合的に反応させたのち、未反応の標識抗原(F)と、抗体と結合した標識抗原(B)とを分離し(B/F分離)、B、Fいずれかの標識量を測定し、被検液中の抗原量を定量する。本反応法には、抗体として可溶性抗体を用い、B/F分離をポリエチレングリコール、前記抗体に対する第2抗体などを用いる液相法、および、第1抗体として固相化抗体を用いるか、あるいは、第1抗体は可溶性のものを用地第2抗体として固相化抗体を用いる固相化法とが用いられる。

イムノメトリック法では、被検液中の抗原と固相化抗原とを一定量の標識化抗体に対して競合反応させた後、固相と液相を分離するか、あるいは、被検液中の抗原と過剰量の標識化抗体とを反応させ、次に固相化抗原を加え未反応の標識化抗体を固相に結合させた後、固相と液相を分離する。次に、いずれかの相の標識量を測定し被検液中の抗原量を定量する。

また、ネフロメトリーでは、ゲル内あるいは溶液中で抗原抗体反応の結果生じた不溶性の沈降物の量を測定する。被検液中の抗原量が僅かであり、少量の沈降物しか得られない場合にもレーザーの散乱を利用するレーザーネフロメトリーなどが好適に用いられる。

これら個々の免疫学的測定法を本発明の定量方法に適用するにあたっては、特別の条件、操作等の設定は必要とされない。それぞれの方法における通常の条件、操作法に当業者の通常の技術的配慮を加えてRFRPまたはOT7T022の測定系を構築すればよい。これらの一般的な技術手段の詳細については、総説、成書などを参照することができる。

例えば、入江 寛編「ラジオイムノアッセイ」(講談社、昭和49年発行)、入江 寛編「続ラジオイムノアッセイ」(講談社、昭和54年発行)、石川

栄治ら編「酵素免疫測定法」(医学書院、昭和53年発行)、石川栄治ら編「酵素免疫測定法」(第2版)(医学書院、昭和57年発行)、石川栄治ら編「酵素免疫測定法」(第3版)(医学書院、昭和62年発行)、「Methods in ENZYMOLOGY」Vol. 70(Immunochemical Techniques(Part A))、同書 Vol. 5 73(Immunochemical Techniques(Part B))、同書 Vol. 74(Immunochemical Techniques(Part C))、同書 Vol. 84(Immunochemical Techniques(Part D : Selected Immunoassays))、同書 Vol. 92(Immunochemical Techniques(Part E : Monoclonal Antibodies and General Immunoassay Methods))、同書 Vol. 121(Immunochemical Techniques(Part I : Hybridoma Technology and 10 Monoclonal Antibodies)) (以上、アカデミックプレス社発行)などを参照することができる。

以上のようにして、本発明の抗体を用いることによって、RFRPまたはOT7T022を感度良く定量することができる。

さらには、本発明の抗体を用いてRFRPまたはOT7T022の濃度を 15 定量することによって、RFRPまたはOT7T022の濃度の減少が検出された場合、例えば、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量(特に、 20 夜間自発行動量)の増加、筋力低下など、特に筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量(特に、夜間自発行動量)の増加または筋力低下などの疾患である、または将来罹患する可能性が高いと診断することができる。

また、RFRPまたはOT7T022の濃度の増加が検出された場合には、 25 例えば、筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量(特に、夜間自発行動量)の減少、痛み、モルヒネ耐性などの疾患である、または将来罹患する可能性が高いと診断することができる。

(5) RFRPとOT7T022との結合性またはシグナル伝達を変化させ

る化合物またはその塩（アゴニスト、アンタゴニストなど）のスクリーニング方法、およびRFRPとOT7T022との結合性またはシグナル伝達を変化させる化合物またはその塩を含有する医薬

- OT7T022を用いるか、または組換え型OT7T022の発現系を構築し、該発現系を用いたレセプター結合アッセイ系を用いることによって、
- 5 例えば、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下、体温減少、白血球数増加、血小板数増加、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少、痛み、モルヒネ耐性などの予防・治療・改善薬として有用なRFRPとOT7T022との結合性またはシグナル伝達を変化させる化合物（例えば、ペプチド、蛋白質、非ペプチド性化合物、合成化合物、発酵生産物など）またはその塩を効率よくスクリーニングする
- 10
- 15 ことができる。

- このような化合物には、（イ）OT7T022を介して細胞刺激活性（例えば、アラキドン酸遊離、アセチルコリン遊離、細胞内 Ca^{2+} 遊離、細胞内cAMP生成、細胞内cAMP生成抑制、細胞内cGMP生成、イノシトールリン酸産生、細胞膜電位変動、細胞内蛋白質のリン酸化、c-fosの活性化、pHの低下などを促進する活性または抑制する活性など）を有する化合物（いわゆる、OT7T022アゴニスト）、（ロ）OT7T022を介する細胞刺激活性を阻害する化合物（いわゆる、OT7T022アンタゴニスト）、（ハ）RFRPとOT7T022との結合力を増強する化合物、または（ニ）RFRPとOT7T022との結合力を減少させる化合物などが含まれる。
- 20
- 25

すなわち、本発明は、

（1）RFRPおよび（または）OT7T022を用いることを特徴とする痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫

- 疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下、体温減少、白血球数増加、血小板数増加、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少、痛み、モルヒネ耐性など、特に痛覚障害、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下、体温減少、白血球数増加、血小板数増加、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少などの予防・治療・改善薬のスクリーニング方法、
- 5
- 10 (2) (i) RFRPとOT7T022とを接触させた場合と(ii) RFRPとOT7T022および試験化合物とを接触させた場合との比較を行なうことを特徴とする痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下、体温減少、白血球数増加、血小板数増加、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少、痛み、モルヒネ耐性など、特に痛覚障害、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下、体温減少、白血球数増加、血小板数増加、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少の予防・治療・改善薬のスクリーニング方法を提供する。
- 15
- 20
- 25
- 痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下、体温減少、白血球数増加、血小板数増加、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少、痛み、モルヒネ耐性などの予防・治療・改善薬は、RFRPとOT7T022との結合性またはシグナル伝達を変化させ

る化合物またはその塩である。

本発明のスクリーニング方法においては、(i)と(ii)の場合における、例えば、OT7T022に対するRFRPの結合量、細胞刺激活性などを測定して、比較することを特徴とする。

5 より具体的には、本発明は、

a) 標識したRFRPを、OT7T022に接触させた場合と、標識したRFRPおよび試験化合物をOT7T022に接触させた場合における、標識したRFRPのOT7T022に対する結合量を測定し、比較することを特徴とするRFRPとOT7T022との結合性またはシグナル伝達を変化
10 させる化合物またはその塩のスクリーニング方法、

b) 標識したRFRPを、OT7T022を含有する細胞または該細胞の膜画分に接触させた場合と、標識したRFRPおよび試験化合物をOT7T022を含有する細胞または該細胞の膜画分に接触させた場合における、標識したRFRPの該細胞または該膜画分に対する結合量を測定し、比較する
15 ことを特徴とするRFRPとOT7T022との結合性またはシグナル伝達を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法、

c) 標識したRFRPを、OT7T022をコードするDNAを含有する形質転換体を培養することによって細胞膜上に発現したOT7T022に接触させた場合と、標識したRFRPおよび試験化合物をOT7T022をコードするDNAを含有する形質転換体を培養することによって細胞膜上に発
20 現したOT7T022に接触させた場合における、標識したRFRPのOT7T022に対する結合量を測定し、比較することを特徴とするRFRPとOT7T022との結合性またはシグナル伝達を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法、

25 d) RFRPを活性化する化合物またはその塩（例えば、RFRPなど）をOT7T022を含有する細胞に接触させた場合と、RFRPを活性化する化合物またはその塩および試験化合物をOT7T022を含有する細胞に接触させた場合における、OT7T022を介した細胞刺激活性を測定し、

比較することを特徴とするRFRPとOT7T022との結合性またはシグナル伝達を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法、および

- e) RFRPを活性化する化合物またはその塩（例えば、RFRPなど）をOT7T022をコードするDNAを含有する形質転換体を培養すること
5 によって細胞膜上に発現したOT7T022に接触させた場合と、RFRPを活性化する化合物またはその塩および試験化合物をOT7T022をコードするDNAを含有する形質転換体を培養することによって細胞膜上に発現したOT7T022に接触させた場合における、レセプターを介する細胞刺激活性を測定し、比較することを特徴とするRFRPとOT7T022との
10 結合性またはシグナル伝達を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法を提供する。

- 本発明のスクリーニング方法では、RFRPの代わりに、RFRPとOT7T022との結合性を変化させる化合物またはその塩を用いることもできる。このRFRPとOT7T022との結合性を変化させる化合物またはその塩は、RFRPを用いて本発明のスクリーニング方法を実施することによって得ることができる。

本発明のスクリーニング方法の具体的な説明を以下にする。

- まず、本発明のスクリーニング方法に用いるOT7T022としては、OT7T022を含有する哺乳動物の臓器の細胞膜画分が好適である。しかし、
20 特にヒト由来の臓器は入手が極めて困難なことから、スクリーニングに用いられるものとしては、組換え体を用いて大量発現させたヒト由来のOT7T022などが適している。

- OT7T022を製造するには、WO00/29441号またはWO01/66134号に記載の方法が用いられるが、OT7T022をコードするDNAを哺乳細胞や昆虫細胞で発現することにより行なうことが好ましい。
25 目的とする蛋白質部分をコードするDNA断片には相補DNAが用いられるが、必ずしもこれに制約されるものではない。例えば、遺伝子断片や合成DNAを用いてもよい。OT7T022をコードするDNA断片を宿主動物細胞

胞に導入し、それらを効率よく発現させるためには、該DNA断片を昆虫を宿主とするバキュロウイルスに属する核多角体病ウイルス (nuclear polyhedrosis virus ; NPV) のポリヘドリンプロモーター、SV40由来のプロモーター、レトロウイルスのプロモーター、メタロチオネインプロモーター、ヒトヒートショックプロモーター、サイトメガロウイルスプロモーター、SR α プロモーターなどの下流に組み込むのが好ましい。発現したレセプターの量と質の検査はそれ自体公知の方法で行うことができる。例えば、文献 [Nambi, P. ら、ザ・ジャーナル・オブ・バイオロジカル・ケミストリー (J. Biol. Chem.) , 267巻, 19555~19559頁, 1992年] に記載の方法に従って行なうことができる。

したがって、本発明のスクリーニング方法において、OT7T022を含有するものとしては、それ自体公知の方法に従って精製したOT7T022であってもよいし、OT7T022を含有する細胞を用いてもよく、またOT7T022を含有する細胞の膜画分を用いてもよい。

本発明のスクリーニング方法において、OT7T022を含有する細胞を用いる場合、該細胞をグルタルアルデヒド、ホルマリンなどで固定化してもよい。固定化方法はそれ自体公知の方法に従って行なうことができる。

OT7T022を含有する細胞としては、OT7T022を発現した宿主細胞をいうが、該宿主細胞としては、大腸菌、枯草菌、酵母、昆虫細胞、動物細胞などが好ましい。

細胞膜画分としては、細胞を破碎した後、それ自体公知の方法で得られる細胞膜が多く含まれる画分のことをいう。細胞の破碎方法としては、Potter-Elvehjem型ホモジナイザーで細胞を押し潰す方法、ワーリングブレンダーやポリトロン (Kinematica社製) のよる破碎、超音波による破碎、フレンチプレスなどで加圧しながら細胞を細いノズルから噴出させることによる破碎などが挙げられる。細胞膜の分画には、分画遠心分離法や密度勾配遠心分離法などの遠心力による分画法が主として用いられる。例えば、細胞破碎液を低速 (500~3000 rpm) で短時間 (通常、約1~10分) 遠心し、

上清をさらに高速（15000～30000 rpm）で通常30分～2時間遠心し、得られる沈澱を膜画分とする。該膜画分中には、発現したOT7T022と細胞由来のリン脂質や膜蛋白質などの膜成分が多く含まれる。

OT7T022を含有する細胞や膜画分中のOT7T022の量は、1細胞当たり $10^3 \sim 10^8$ 分子であるのが好ましく、 $10^5 \sim 10^7$ 分子であるのが好適である。なお、発現量が多いほど膜画分当たりのOT7T022結合活性（比活性）が高くなり、高感度なスクリーニング系の構築が可能になるばかりでなく、同一ロットで大量の試料を測定できるようになる。

RFRPとOT7T022との結合性またはシグナル伝達を変化させる化合物またはその塩をスクリーニングする上記のa)～c)を実施するためには、例えば、適当なOT7T022画分と、標識したRFRPが必要である。

OT7T022画分としては、天然型のOT7T022画分か、またはそれと同等の活性を有する組換え型OT7T022画分などが望ましい。ここで、同等の活性とは、同等のリガンド結合活性、シグナル情報伝達作用などを示す。

標識したRFRPとしては、標識したRFRP、標識したRFRPアナログ化合物などが用いられる。例えば $[^3\text{H}]$ 、 $[^{125}\text{I}]$ 、 $[^{14}\text{C}]$ 、 $[^{35}\text{S}]$ などで標識されたRFRPなどが用いられる。

具体的には、RFRPとOT7T022との結合性またはシグナル伝達を変化させる化合物のスクリーニングを行なうには、まずOT7T022を含有する細胞または細胞の膜画分を、スクリーニングに適したバッファーに懸濁することによりOT7T022標品を調製する。バッファーには、pH4～10（望ましくはpH6～8）のリン酸バッファー、トリス塩酸バッファーなどのRFRPとOT7T022との結合を阻害しないバッファーであればいずれでもよい。また、非特異的結合を低減させる目的で、CHAPS、Tween-80TM（花王アトラス社）、ジギトニン、デオキシコレートなどの界面活性剤をバッファーに加えることもできる。さらに、プロテアーゼによるOT7T022やRFRPの分解を抑える目的でPMSF、ロイ

ペプチン、E-64（ペプチド研究所製）、ペプスタチンなどのプロテアーゼ阻害剤を添加することもできる。0.01～10 ml の該レセプター溶液に、一定量（5000～500000 cpm）の標識したRFRPを添加し、同時に 10^{-4} M～ 10^{-10} Mの試験化合物を共存させる。非特異的結合量（NSB）を知るために大過剰の未標識のRFRPを加えた反応チューブも用意する。反応は約0～50℃、望ましくは約4～37℃で、約20分～24時間、望ましくは約30分～3時間行う。反応後、ガラス繊維濾紙等で濾過し、適量の同バッファーで洗浄した後、ガラス繊維濾紙に残存する放射活性を液体シンチレーションカウンターまたはγ-カウンターで計測する。拮抗する物質がない場合のカウント（ B_0 ）から非特異的結合量（NSB）を引いたカウント（ $B_0 - \text{NSB}$ ）を100%とした時、特異的結合量（ $B - \text{NSB}$ ）が、例えば、50%以下になる試験化合物を拮抗阻害能力のある候補物質として選択することができる。

RFRPとOT7T022との結合性またはシグナル伝達を変化させる化合物またはその塩をスクリーニングする上記のd)～e)の方法を実施するためには、例えば、OT7T022を介する細胞刺激活性を公知の方法または市販の測定用キットを用いて測定することができる。

具体的には、まず、OT7T022を含有する細胞をマルチウェルプレート等に培養する。スクリーニングを行なうにあたっては前もって新鮮な培地あるいは細胞に毒性を示さない適当なバッファーに交換し、試験化合物などを添加して一定時間インキュベートした後、細胞を抽出あるいは上清液を回収して、生成した産物をそれぞれの方法に従って定量する。細胞刺激活性の指標とする物質（例えば、アラキドン酸など）の生成が、細胞が含有する分解酵素によって検定困難な場合は、該分解酵素に対する阻害剤を添加してアッセイを行なってもよい。また、cAMP産生抑制などの活性については、フォルスコリンなどで細胞の基礎的産生量を増大させておいた細胞に対する産生抑制作用として検出することができる。

細胞刺激活性を測定してスクリーニングを行なうには、適当なOT7T0

22を発現した細胞が必要である。OT7T022を発現した細胞としては、天然型のOT7T022を有する細胞株、上記の組換え型OT7T022を発現した細胞株などが望ましい。

試験化合物としては、前記と同様のものが用いられる。

- 5 また、試験化合物としては、OT7T022の活性部位の原子座標およびリガンド結合ポケットの位置に基づいて、リガンド結合ポケットに結合するように設計された化合物が好ましく用いられる。OT7T022の活性部位の原子座標およびリガンド結合ポケットの位置の測定は、公知の方法あるいはそれに準じる方法を用いて行うことができる。

- 10 RFRPとOT7T022との結合性またはシグナル伝達を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング用キットは、RFRP、OT7T022を含有する細胞またはその細胞膜画分を含有するものなどである。

本発明のスクリーニング用キットの例としては、次のものが挙げられる。

1. スクリーニング用試薬

- 15 a) 測定用緩衝液および洗浄用緩衝液

Hanks' Balanced Salt Solution (ギブコ社製) に、0.05%のウシ血清アルブミン (シグマ社製) を加えたもの。

孔径0.45 μ mのフィルターで濾過滅菌し、4℃で保存するか、あるいは用時調製しても良い。

- 20 b) OT7T022 標品

OT7T022を発現させたCHO細胞を、12穴プレートに 5×10^5 個/穴で継代し、37℃、5%CO₂、95%airで2日間培養したもの。

c) 標識RFRP

市販の [³H]、[¹²⁵I]、[¹⁴C]、[³⁵S] などと標識したR

- 25 FRP

水溶液の状態のものを4℃あるいは-20℃にて保存し、用時に測定用緩衝液にて1 μ Mに希釈する。

d) RFRP 標準液

RFRPを0.1%ウシ血清アルブミン（シグマ社製）を含むPBSで1 mMとなるように溶解し、-20℃で保存する。

2. 測定法

5 a) 12穴組織培養用プレートにて培養したOT7T022発現CHO細胞を、測定用緩衝液1 mlで2回洗浄した後、490 μ lの測定用緩衝液を各穴に加える。

b) $10^{-3} \sim 10^{-10}$ Mの試験化合物溶液を5 μ l加えた後、標識RFRPを5 μ l加え、室温にて1時間反応させる。非特異的結合量を知るためには試験化合物の代わりに 10^{-3} MのRFRPを5 μ l加えておく。

10 c) 反応液を除去し、1 mlの洗浄用緩衝液で3回洗浄する。細胞に結合した標識RFRPを0.2 N NaOH-1% SDSで溶解し、4 mlの液体シンチレーターA（和光純薬製）と混合する。

d) 液体シンチレーションカウンター（ベックマン社製）を用いて放射活性を測定し、Percent Maximum Binding (PMB) を次の式で求める。

$$15 \quad \text{PMB} = [(B - \text{NSB}) / (B_0 - \text{NSB})] \times 100$$

PMB : Percent Maximum Binding

B : 検体を加えた時の値

NSB : Non-specific Binding (非特異的結合量)

B_0 : 最大結合量

20 本発明のスクリーニング方法またはスクリーニング用キットを用いて得られる化合物としては、ペプチド、蛋白質、非ペプチド性化合物、合成化合物、発酵生産物、細胞抽出液、植物抽出液、動物組織抽出液、血漿などが挙げられ、これら化合物は新規な化合物であってもよいし、公知の化合物であってもよい。

25 上記スクリーニング方法で得られる化合物の塩としては、前記したRFRPの塩と同様の塩が用いられる。

本発明のスクリーニング方法またはスクリーニング用キットを用いて得られる化合物またはその塩は、RFRPとOT7T022との結合性またはシ

グナル伝達を変化させる作用を有する化合物またはその塩であり、具体的には、(イ) OT7T022を介して細胞刺激活性を有する化合物またはその塩（いわゆる、OT7T022アゴニスト）、(ロ) 該細胞刺激活性を有しない化合物またはその塩（いわゆる、OT7T022アンタゴニスト）、(ハ) RFRPとOT7T022との結合力を増強する化合物またはその塩、または(ニ) RFRPとOT7T022との結合力を減少させる化合物またはその塩である。

OT7T022アゴニストであるか、アンタゴニストであるかの具体的な評価方法は以下の(i)および(ii)に従えばよい。

- 10 (i) 例えば、前記a)～c)のスクリーニング方法で示されるバインディング・アッセイを行い、RFRPとOT7T022との結合性を変化させる（特に、結合を阻害する）化合物またはその塩を得た後、該化合物またはその塩が上記したOT7T022を介する細胞刺激活性を有しているか否かを測定する。細胞刺激活性を有する化合物またはその塩はOT7T022アゴニストであり、該活性を有しない化合物またはその塩はOT7T022アンタゴニストである。

(ii) (a) 試験化合物をOT7T022を含有する細胞に接触させ、上記OT7T022を介した細胞刺激活性を測定する。細胞刺激活性を有する化合物またはその塩はOT7T022アゴニストである。

- 20 (b) OT7T022を活性化する化合物（例えば、RFRPなど）をOT7T022を含有する細胞に接触させた場合と、OT7T022を活性化する化合物および試験化合物をOT7T022を含有する細胞に接触させた場合における、OT7T022を介した細胞刺激活性を測定し、比較する。OT7T022を活性化する化合物による細胞刺激活性を減少させ得る化合物またはその塩はOT7T022アンタゴニストである。

OT7T022アゴニストは、RFRPが有する生理活性と同様の作用を有しており安全で低毒性な医薬として有用である。

OT7T022アンタゴニストは、RFRPが有する生理活性を抑制する

ことができるので、RFRPの生理活性を抑制するための安全で低毒性な医薬として有用である。

RFRPとOT7T022との結合力を増強する化合物またはその塩は、RFRPが有する生理活性を増強することができるので、安全で低毒性な医薬として有用である。

RFRPとOT7T022との結合力を減少させる化合物またはその塩は、RFRPが有する生理活性を減少させることができるので、RFRPの生理活性を抑制するための安全で低毒性な医薬として有用である。

具体的には、本発明のスクリーニング方法またはスクリーニング用キットを用いて得られるOT7T022アゴニストおよびRFRPとOT7T022との結合力を増強する化合物またはその塩は、例えば、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下など、特に筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下に対する予防・治療・改善剤として有用である。

一方、本発明のスクリーニング方法またはスクリーニング用キットを用いて得られるOT7T022アンタゴニストおよびRFRPとOT7T022との結合力を減少させる化合物またはその塩は、例えば、筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少に対する予防・治療・改善剤、鎮痛剤、モルヒネの鎮痛作用促進剤、モルヒネ耐性回避剤、モルヒネ依存性回避剤などとして有用である。

本発明のスクリーニング方法またはスクリーニング用キットを用いて得られる化合物またはその塩を上記の医薬組成物として使用する場合、常套手段に従って製剤化することができる。具体的には、上記したRFRPを含有す

る予防・治療・改善剤と同様に製造することができる。

得られる製剤は安全で低毒性であるので、例えば、ヒトや哺乳動物（例えば、ラット、マウス、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サルなど）に対して投与することができる。

- 5 該化合物またはその塩の投与量は、投与対象、対象臓器、症状、投与方法などにより差異はあるが、経口投与の場合、一般的に例えば、痛覚障害患者（体重 60 kg として）においては、一日につき OT 7 T 0 2 2 アゴニストを約 0.1 ~ 100 mg、好ましくは約 1.0 ~ 50 mg、より好ましくは約 1.0 ~ 20 mg である。非経口的に投与する場合は、その 1 回投与量は投与対象、対象臓器、症状、投与方法などによっても異なるが、例えば、注射剤の形では通常例えば、痛覚障害患者（体重 60 kg として）においては、一日につき OT 7 T 0 2 2 アゴニストを約 0.01 ~ 30 mg 程度、好ましくは約 0.1 ~ 20 mg 程度、より好ましくは約 0.1 ~ 10 mg 程度を静脈注射により投与するのが好都合である。他の動物の場合も、体重 60 kg 10 当たりに換算した量を投与することができる。

（6）細胞膜における OT 7 T 0 2 2 の量を変化させる化合物またはその塩を含有する医薬

- OT 7 T 0 2 2 に対する抗体は、OT 7 T 0 2 2 を特異的に認識することができるので、細胞膜における OT 7 T 0 2 2 の量を変化させる化合物またはその塩のスクリーニングに用いることができる。 20

すなわち、本発明は、例えば、

- （i）非ヒト哺乳動物の a）血液、b）特定の臓器、c）臓器から単離した組織もしくは細胞等を破壊した後、細胞膜画分を単離し、細胞膜画分に含まれる OT 7 T 0 2 2 を定量することによる、細胞膜における OT 7 T 0 2 2 の量を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法、 25

（ii）OT 7 T 0 2 2 を発現する形質転換体等を破壊した後、細胞膜画分を単離し、細胞膜画分に含まれる OT 7 T 0 2 2 を定量することによる、細胞膜における OT 7 T 0 2 2 の量を変化させる化合物またはその塩のスクリー

ーニング方法、

(iii) 非ヒト哺乳動物の a) 血液、b) 特定の臓器、c) 臓器から単離した組織もしくは細胞等を切片とした後、免疫染色法を用いることにより、細胞表層での該受容体蛋白質の染色度合いを定量化することにより、細胞膜上の該蛋白質を確認することによる、細胞膜における OT 7 T 0 2 2 の量を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法を提供する。

(iv) OT 7 T 0 2 2 を発現する形質転換体等を切片とした後、免疫染色法を用いることにより、細胞表層での該受容体蛋白質の染色度合いを定量化することにより、細胞膜上の該蛋白質を確認することによる、細胞膜における OT 7 T 0 2 2 の量を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法を提供する。

細胞膜画分に含まれる OT 7 T 0 2 2 の定量は具体的には以下のようにして行なう。

(i) 正常あるいは疾患モデル非ヒト哺乳動物（例えば、マウス、ラット、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サルなど、より具体的には免疫不全ラット、マウス、化ウサギなど）に対して、薬剤（例えば、免疫調節薬など）あるいは物理的ストレス（例えば、浸水ストレス、電気ショック、明暗、低温など）などを与え、一定時間経過した後、血液、あるいは特定の臓器（例えば、脳、肝臓、腎臓など）、または臓器から単離した組織、あるいは細胞を得る。得られた臓器、組織または細胞等を、例えば、適当な緩衝液（例えば、トリス塩酸緩衝液、リン酸緩衝液、ヘペス緩衝液など）等に懸濁し、臓器、組織あるいは細胞を破壊し、界面活性剤（例えば、トリトン X 100TM、ツイーン 20TM など）などを用い、さらに遠心分離や濾過、カラム分画などの手法を用いて細胞膜画分を得る。

細胞膜画分としては、細胞を破碎した後、それ自体公知の方法で得られる細胞膜が多く含まれる画分のことをいう。細胞の破碎方法としては、Potter-Elvehjem型ホモジナイザーで細胞を押し潰す方法、ワーリングブレンダーやポリトロン（Kinematica社製）による破碎、超音波による破碎、フレンチ

プレスなどで加圧しながら細胞を細いノズルから噴出させることによる破碎などが挙げられる。細胞膜の分画には、分画遠心分離法や密度勾配遠心分離法などの遠心力による分画法が主として用いられる。例えば、細胞破碎液を
5 上清をさらに高速（15000～30000rpm）で通常30分～2時間遠心し、得られる沈澱を膜画分とする。該膜画分中には、発現したOT7T022と細胞由来のリン脂質や膜蛋白質などの膜成分が多く含まれる。

細胞膜画分に含まれるOT7T022は、例えば、本発明の抗体を用いたサンドイッチ免疫測定法、ウェスタンブロット解析などにより定量することが
10 できる。

かかるサンドイッチ免疫測定法は上記の方法と同様に行なうことができ、ウェスタンブロットは自体公知の手段により行なうことができる。

(ii) OT7T022を発現する形質転換体を上記の方法に従い作製し、細胞膜画分に含まれるOT7T022を定量することができる。

15 細胞膜におけるOT7T022の量を変化させる化合物またはその塩のスクリーニングは、

(i) 正常あるいは疾患モデル非ヒト哺乳動物に対して、薬剤あるいは物理的ストレスなどを与える一定時間前（30分前～24時間前、好ましくは30分前～12時間前、より好ましくは1時間前～6時間前）もしくは一定
20 時間後（30分後～3日後、好ましくは1時間後～2日後、より好ましくは1時間後～24時間後）、または薬剤あるいは物理的ストレスと同時に試験化合物を投与し、投与後一定時間経過後（30分後～3日後、好ましくは1時間後～2日後、より好ましくは1時間後～24時間後）、細胞膜におけるOT7T022の量を定量することにより行なうことができ、

25 (ii) 形質転換体を常法に従い培養する際に試験化合物を培地中に混合させ、一定時間培養後（1日後～7日後、好ましくは1日後～3日後、より好ましくは2日後～3日後）、細胞膜におけるRFRPの量を定量することにより行なうことができる。

細胞膜画分に含まれるOT7T022の確認は具体的には以下のようにして行なう。

- (iii) 正常あるいは疾患モデル非ヒト哺乳動物（例えば、マウス、ラット、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サルなど、より具体的には免疫不全モデルラット、マウス、ウサギなど）に対して、薬剤（例えば、免疫調節薬など）あるいは物理的ストレス（例えば、浸水ストレス、電気ショック、明暗、低温など）などを与え、一定時間経過した後に、血液、あるいは特定の臓器（例えば、脳、肝臓、腎臓など）、または臓器から単離した組織、あるいは細胞を得る。得られた臓器、組織または細胞等を、常法に従い組織切片とし、本発明の抗体を用いて免疫染色を行う。細胞表層での該受容体蛋白質の染色度合いを定量化することにより、細胞膜上の該蛋白質を確認することにより、定量的または定性的に、細胞膜におけるOT7T022の量を確認することができる。

- (iv) OT7T022を発現する形質転換体等を用いて同様の手段をとることにより確認することもできる。

試験化合物としては、前記と同様のものが用いられる。

- 本発明のスクリーニング方法を用いて得られる化合物は、細胞膜におけるOT7T022の量を変化させる作用を有する化合物であり、具体的には、
(イ) 細胞膜におけるOT7T022の量を増加させることにより、OT7T022を介する細胞刺激活性を増強させる化合物、
(ロ) 細胞膜におけるOT7T022の量を減少させることにより、該細胞刺激活性を減弱させる化合物である。

上記スクリーニング方法で得られる化合物の塩としては、前記したRFRPの塩と同様の塩が用いられる。

- 細胞膜におけるOT7T022の量を増加させることにより、細胞刺激活性を増強させる化合物またはその塩は、例えば、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、

- 痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下など、特に筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下に対する安全で低毒性な予防・治療・改善剤として有用である。
- 5

- 細胞膜におけるOT7T022の量を減少させることにより、細胞刺激活性を減弱させる化合物またはその塩は、例えば、筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少に対する安全で低毒性な予防・治療・改善剤、鎮痛剤、モルヒネの鎮痛作用促進剤、モルヒネ耐性回避剤、モルヒネ依存性回避剤などとして有用である。
- 10

- 本発明のスクリーニング方法を用いて得られる化合物またはその塩を医薬組成物として使用する場合、常套手段に従って製剤化することができる。具体的には、上記したRFRPを含有する予防・治療・改善剤と同様に製造することができる。
- 15

得られる製剤は安全で低毒性であるので、例えば、ヒトや哺乳動物（例えば、ラット、マウス、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サルなど）に対して投与することができる。

- 該化合物またはその塩の投与量は、投与対象、対象臓器、症状、投与方法などにより差異はあるが、経口投与の場合、一般的に例えば、痛覚障害患者（体重60kgとして）においては、細胞膜におけるOT7T022の量を増加させる化合物またはその塩を一日につき約0.1～100mg、好ましくは約1.0～50mg、より好ましくは約1.0～20mgである。非経口的に投与する場合は、その1回投与量は投与対象、対象臓器、症状、投与方法などによっても異なるが、例えば、注射剤の形では、通常例えば、痛覚障害患者（体重60kgとして）においては、細胞膜におけるOT7T022の量を増加させる化合物またはその塩を一日につき約0.01～30mg程度、好ましくは約0.1～20mg程度、より好ましくは約0.1～10m
- 20
- 25

g 程度を静脈注射により投与するのが好都合である。他の動物の場合も、体重 60 kg 当たりに換算した量を投与することができる。

(7) RFRP または OT7T022 に対する抗体を含有してなる医薬

5 RFRP または OT7T022 に対して抗体（特に、中和抗体）は、RFRP または OT7T022 が関与するシグナル伝達、例えば、OT7T022 を介する細胞刺激活性を不活性化することができる。

したがって、RFRP または OT7T022 に対する抗体は、例えば、筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少に対する予防・治療・改善剤、鎮痛剤、
10 モルヒネの鎮痛作用促進剤、モルヒネ耐性回避剤、モルヒネ依存性回避剤などとして用いることができる。

上記予防・治療・改善剤は、前記した RFRP を含有する医薬と同様にして製造し、使用することができる。

(8) アンチセンス DNA または siRNA を含有してなる医薬

15 RFRP をコードする DNA に対するアンチセンス DNA または OT7T022 をコードする DNA に対するアンチセンス DNA（以下、アンチセンス DNA と略記する）または本発明の siRNA は、例えば、筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少に対する予防・治療・改善剤、鎮痛剤、モルヒネの
20 鎮痛作用促進剤、モルヒネ耐性回避剤、モルヒネ依存性回避剤などとして用いることができる。

例えば、該アンチセンス DNA または siRNA を用いる場合、該アンチセンス DNA または siRNA を単独あるいはレトロウイルスベクター、アデノウイルスベクター、アデノウイルスアソシエーテッドウイルスベクター
25 などの適当なベクターに挿入した後、常套手段に従って実施することができる。該アンチセンス DNA または siRNA は、そのまま、あるいは摂取促進のために補助剤などの生理学的に認められる担体とともに製剤化し、遺伝子銃やハイドロゲルカテーテルのようなカテーテルによって投与できる。

さらに、該アンチセンスDNAは、組織や細胞におけるRFRPまたはOT7T022をコードするDNAの存在やその発現状況を調べるための診断用オリゴヌクレオチドプローブとして使用することもできる。

(9) OT7T022ノックアウト動物

5 [OT7T022遺伝子発現不活性哺乳動物ES細胞]

OT7T022遺伝子が不活性化された哺乳動物ES細胞とは、哺乳動物ES細胞が有するOT7T022遺伝子に人為的に変異を加えることにより、遺伝子の発現能を抑制するか、もしくは該遺伝子がコードしているOT7T022の活性を実質的に喪失させることにより、遺伝子が実質的にOT7T022の発現能を有さない不活性化された（以下、本発明のノックアウト遺伝子と称することがある）哺乳動物のES細胞をいう。

OT7T022遺伝子としては、前記したOT7T022をコードするDNAが用いられるが、具体的には、マウスOT7T022遺伝子としては、配列番号：27で表わされるアミノ酸配列からなるマウスOT7T022の部分蛋白質をコードする、配列番号：32または配列番号：28で表わされる塩基配列からなる遺伝子（ゲノムDNA）などが用いられる。

ラットOT7T022遺伝子としては、配列番号：11で表わされるアミノ酸配列からなるOT7T022をコードする、配列番号：12で表わされる塩基配列を含有する遺伝子などが用いられる。

20 本明細書中、ES細胞の材料とする哺乳動物としては、例えば、ヒト、ウシ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、ウサギ、イヌ、ネコ、モルモット、ハムスター、マウス、ラットなどが用いられる。

また、本明細書中、非ヒト動物としては、OT7T022遺伝子を有するヒト以外の動物ならば、いかなる動物でもよいが、非ヒト哺乳動物が好ましい。非ヒト哺乳動物としては、例えば、ウシ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、ウサギ、イヌ、ネコ、モルモット、ハムスター、マウス、ラットなどが用いられる。非ヒト哺乳動物のなかでも、病態動物モデル系の作製の面から個体発生および生物サイクルが比較的短く、また繁殖が容易なゲッ歯動物、とりわけマウ

5 ス（例えば純系として、C 5 7 B L / 6 系統、D B A 2 系統など、交雑系として、B 6 C 3 F 1 系統、B D F 1 系統、B 6 D 2 F 1 系統、B A L B / c 系統、I C R 系統など（なかでも好ましくは、純系として、C 5 7 B L / 6 系統など、交雑系として、B D F 1 系統または I C R 系統など））またはラット（例えば、W i s t a r 系統、S D 系統など）などが特に好ましい。

10 O T 7 T 0 2 2 遺伝子に人為的に変異を加える方法としては、例えば、遺伝子工学的手法により該遺伝子配列の一部又は全部の削除、もしくは他遺伝子の挿入または置換があげられる。これらの変異により、例えば、コドンの読み取り枠をずらすか、プロモーターあるいはエキソンの機能を破壊することにより本発明のノックアウト遺伝子を作製することができる。

15 O T 7 T 0 2 2 遺伝子が不活性化された哺乳動物（好ましくは、非ヒト哺乳動物）E S 細胞（以下、O T 7 T 0 2 2 遺伝子不活性化E S 細胞またはノックアウトE S 細胞と略記する）の具体例としては、例えば、薬剤耐性遺伝子（例えば、ネオマイシン耐性遺伝子、ハイグロマイシン耐性遺伝子またはゼオシン耐性遺伝子など、好ましくは、ネオマイシン耐性遺伝子など）、あるいはレポーター遺伝子（例えば、l a c Z（大腸菌 β -ガラクトシダーゼ遺伝子）、c a t（クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ遺伝子）、G U S（ β -グルクロニダーゼ遺伝子）、ルシフェラーゼ遺伝子、エクオリン遺伝子、タウマリン遺伝子、G F P（Green Fluorescent Protein）
20 遺伝子など、好ましくは、l a c Z など）等を挿入することによりO T 7 T 0 2 2 遺伝子のエキソンの機能を破壊するか、あるいはエキソン間のイントロン部分に遺伝子の転写を終結させるDNA配列（例えば、polyA付加シグナルなど）を挿入し、完全なmRNAを合成できなくすることによって、結果的に遺伝子を破壊するように構築したDNA配列を有するDNAベクター
25 （以下、ターゲティングベクターと略記する）を作製する。レポーター遺伝子を挿入してエキソンの機能を破壊する場合、該レポーター遺伝子は、O T 7 T 0 2 2 プロモーターの制御下で発現するように挿入することが好ましい。

上記「薬剤耐性遺伝子」とは、抗生物質などの薬剤耐性に関与する遺伝子

を示し、導入される遺伝子が細胞において発現したか否かを選抜するマーカーとして利用される。

また、上記「レポーター遺伝子」とは、遺伝子発現の指標になる遺伝子群のことを示し、通常、発光反応や呈色反応を触媒する酵素の構造遺伝子が利用されることが多く、①遺伝的背景がないもの、②遺伝子発現を定量的に行える高感度の方法があるもの、③形質転換細胞への影響が少ないもの、④発現部位の局在性が示されるものなどが好ましく用いられる（植物細胞工学、第2巻、第721頁、1990）。また、上記の「薬剤耐性遺伝子」なども同じ目的で使用されるが、「レポーター遺伝子」は、単に導入される遺伝子が細胞において発現したかどうかだけではなく、どの組織でいつ発現したかを調べることができ、しかも定量的に発現量を正確に調べることができるものである。

さらに、ターゲティングベクターを、例えば、相同組換え法により該動物の染色体に導入し、得られたES細胞についてOT7T022遺伝子上あるいはその近傍のDNA配列をプローブとしたサザンハイブリダイゼーション解析あるいはターゲティングベクター上のDNA配列とターゲティングベクター作製に使用したOT7T022遺伝子以外の近傍領域のDNA配列をプライマーとしたPCR法により解析し、本発明のノックアウトES細胞を選別することにより得ることができる。

上記のターゲティングベクターとしては、例えば、大腸菌由来のプラスミド（例、pBR322、pBR325、pUC12、pUC13など）、枯草菌由来のプラスミド（例、pUB110、pTB5、pC194など）、酵母由来のプラスミド（例、pSH19、pSH15など）、λファージなどのバクテリオファージ、モロニー白血病ウイルスなどのレトロウイルス、ワクシニアウイルスまたはアデノウイルスベクター、バキュロウイルス、ウシ乳頭腫ウイルス、ヘルペスウイルス群からのウイルス、またはエプスタイン・バー・ウイルスなどの動物ウイルスなどが用いられる。

また、相同組換え法等によりOT7T022遺伝子を不活性化させる元のES細胞としては、例えば、前述のような既に樹立されたものを用いてもよ

- く、また公知のEvansとKaufmanの方法に準じて新しく樹立したものでもよい。
- 例えば、マウスのES細胞の場合、現在、一般的には129系統のES細胞が使用されているが、免疫学的背景がはっきりしていないので、これに代わる純系で免疫学的に遺伝的背景が明らかなES細胞を取得するなどの目的で、
- 5 例えば、C57BL/6系統マウスやDBA/2系統との交雑種BDF1系統マウス（C57BL/6系統とDBA/2系統とのF1）を用いて樹立したものなども良好に用いる。BDF1系統マウスは、採卵数が多く、かつ、卵が操作上にであるという利点に加えて、C57BL/6系統マウスを遺伝的背景に持つので、これを用いて得られたES細胞は病態モデルマウスを作出したとき、C57BL/6系統マウスと戻し交配することでその遺伝的背景をC57BL/6系統に戻すことが可能である点で有利に用い得る。
- 10

- また、ES細胞を樹立する場合、一般には受精後3.5日目の胚盤胞を使用するが、これ以外に8細胞期胚(受精後2.5日目頃の8細胞期胚が好ましい)を採卵し胚盤胞まで培養して用いることにより効率よく多数の初期胚を取得
- 15 することができる。

- また第二次セレクションは、G-バンディング法などを用いた核型分析等により行うことができる。得られるES細胞の染色体数は正常数の100%が望ましいが、樹立の際の物理的操作等の関係上困難な場合は、ES細胞の遺伝子をノックアウトした後、正常細胞（例えばマウスでは染色体数が $2n = 40$ である細胞）に再びクローニングすることが望ましい。
- 20

- このようにして得られたES細胞株は、通常その増殖性は大変良いが、個体発生できる再生能を失いやすいので、注意深く継代培養することが必要である。例えば、STO繊維芽細胞のような適当なフィーダー細胞上でLIF（1～10000U/ml）存在下に炭酸ガス培養器内（好ましくは、5%炭酸ガス、95%空気または5%酸素、5%炭酸ガス、90%空気）で約37℃
- 25 で培養するなどの方法で培養し、継代時には、例えば、トリプシン/EDTA溶液（通常0.001～0.5%トリプシン/0.1～5mM EDTA、好ましくは約0.1%トリプシン/1mM EDTA）処理により単細胞化し、

新たに用意したフィーダー細胞上に播種する方法などがとられる。このような継代は、通常1～3日毎に行なうが、この際に細胞の観察を行い、形態的に異常な細胞が見受けられた場合は、その培養細胞は放棄することが望まれる。

- 5 E S細胞は、適当な条件により、高密度に至るまで単層培養するか、または細胞集塊を形成するまで浮遊培養することにより、頭頂筋、内臓筋、心筋などの種々のタイプの細胞に分化させることが可能であり〔M. J. Evans及びM. H. Kaufman, ネイチャー (Nature) 第292巻、154頁、1981年；G. R. Martin
10 プロシーディングス・オブ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンス・ユーエスエー (Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.) 第78巻、7634頁、1981年；T. C. Doetschman ら、ジャーナル・オブ・エンブリオロジー・アンド・エクスペリメンタル・モルフォロジー、第87巻、27頁、1985年〕、本発明のE S細胞を分化させて得られるO T 7 T 0 2 2 遺伝子発現不全細胞は、in vitro
15 におけるO T 7 T 0 2 2 の細胞生物学的検討において有用である。
- 15 また、E S細胞を保存する場合には、適当な凍結用培地（例えば、10% DMSO、10%牛胎児血清を含むダルベッコ変法イーグル培地（DMEM）などを用いて、約－80℃以下で凍結保存する。

- 20 本発明のO T 7 T 0 2 2 遺伝子発現不全非ヒト動物（以下、遺伝子発現不全非ヒト動物と称す場合がある）とは、例えば、前記のO T 7 T 0 2 2 遺伝子が不活性化された哺乳動物E S細胞由来の細胞を用いて遺伝子工学的に作出されたものであり、例えば、生殖細胞および体細胞に胚形成初期に不活性化O T 7 T 0 2 2 遺伝子配列を導入された非ヒト動物である。

該非ヒト動物としては、前記と同様のものが用いられる。

- 25 O T 7 T 0 2 2 遺伝子をノックアウトさせるには、前記のターゲティングベクターを非ヒト動物E S細胞または非ヒト動物卵細胞に公知の方法（例えば、エレクトロポレーション法、マイクロインジェクション法、リン酸カルシウム法、リポフェクション法、凝集法、パーティクルガン法、DEAEーデキストラン法など）によって導入し（好ましい導入法としては、E S細胞

に導入する場合にはエレクトロポレーション法、卵細胞に導入する場合にはマイクロインジェクション法などがあげられる)、ターゲティングベクターの不活性化されたOT7T022遺伝子配列を相同組換えにより、非ヒト動物ES細胞または非ヒト動物卵細胞の染色体上のOT7T022遺伝子と入れ換えることにより行うことができる。

OT7T022遺伝子がノックアウトされた細胞は、OT7T022遺伝子上またはその近傍のDNA配列をプローブとしたサザンハイブリダイゼーション解析またはターゲティングベクター上のDNA配列と、ターゲティングベクターに使用したマウス由来のOT7T022遺伝子以外の近傍領域のDNA配列とをプライマーとしたPCR法による解析で判定することができる。

非ヒト動物ES細胞を用いた場合は、相同組換えにより、OT7T022遺伝子が不活性化された細胞株をクローニングし、その細胞を胚形成の初期の適当な時期、例えば、8細胞期の非ヒト動物胚または胚盤胞に注入し（注入法）、またはOT7T022遺伝子が不活性化されたES細胞塊を2個の8細胞期胚ではさみ込む（集合キメラ法）ことにより作製したキメラ胚を偽妊娠させた該非ヒト動物の子宮に移植する。

作出された動物は正常なOT7T022遺伝子座をもつ細胞と人為的に変異したOT7T022遺伝子座をもつ細胞との両者から構成されるキメラ動物である。

該キメラ動物の生殖細胞の一部が変異したOT7T022遺伝子座をもつ場合、このようなキメラ個体と正常個体を交配することにより得られた個体群より、全ての組織が人為的に変異を加えたOT7T022遺伝子座をもつ細胞で構成された個体を、例えば、コートカラーの判定等により選別することにより得られる。このようにして得られた個体は、通常、OT7T022ヘテロ発現不全個体であり、OT7T022ヘテロ発現不全個体同志を交配し、それらの産仔からOT7T022ホモ発現不全個体を得ることができる。

卵細胞を使用する場合は、例えば、卵細胞核内にマイクロインジェクショ

ン法で遺伝子溶液を注入することによりターゲティングベクターを染色体内に導入したトランスジェニック非ヒト動物を得ることができ、これらのトランスジェニック非ヒト動物を比較することにより、相同組換えによりOT7T022遺伝子座に変異のあるものを選択することにより得られる。

- 5 OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物は、該動物のmRNA量を公知の方法を用いて測定して間接的にその発現量を比較することにより、正常動物と区別することが可能である。

- このようにしてOT7T022遺伝子がノックアウトされている個体は、交配により得られた動物個体も該遺伝子がノックアウトされていることを確認して通常の飼育環境で飼育継代を行なうことができる。
- 10

- さらに、生殖系列の取得および保持についても常法に従って行うことができる。即ち、該不活化遺伝子配列を保有する雌雄の動物を交配することにより、該不活化遺伝子配列を相同染色体の両方に持つホモザイゴート動物を取得することができる。得られたホモザイゴート動物は、母親動物に対して、
- 15 正常個体1，ホモザイゴート複数になるような状態で飼育することにより効率的に得ることができる。ヘテロザイゴート動物の雌雄を交配することにより、該不活化遺伝子配列を有するホモザイゴートおよびヘテロザイゴート動物を繁殖継代することができる。このようにして得られた該不活化遺伝子配列を有する動物の子孫も本発明のOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物
- 20 に含まれる。

本発明のOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物（特に、OT7T022ホモ欠損非ヒト動物、好ましくはOT7T022ホモ欠損マウス）は、次のような性質を有している。

- （1）野生型動物に比べて、成熟齢以降に胸腺の重量が増加している。
- 25 （2）野生型動物に比べて、後退歩行を主な特徴とする歩行異常さらに、振戦または痙攣などを示す場合がある。
- （3）野生型動物に比べて、侵害刺激（例、熱侵害刺激）に対して反応性の低下が見られる。

(4) 野生型動物に比べて、攻撃的行動が多い。

(5) 野生型動物に比べて、腎臓絶対重量または胸腺絶対重量の低下がみられる。

(6) 野生型動物に比べて、白血球数または血小板数の減少がみられる。

5 (7) 野生型動物に比べて、筋力が低下している。

このようにOT7T022遺伝子が不活性化された哺乳動物ES細胞は、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物を作出する上で、非常に有用である。また、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物、該動物に対する薬剤誘発あるいはストレス負荷によって生じる病態モデル動物、OT7T022

10 遺伝子発現不全非ヒト動物と他の病態モデル動物との交配によって生じるより良い病態モデル動物、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物と他の病態モデル動物との交配によって生じる病態モデル動物に対する薬剤誘発あるいはストレス負荷によって生じる病態モデル動物およびOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物と他の病態モデル動物を用いた骨髓移植動物、もしくは

15 はそれらの組織またはそれらに由来する細胞は、OT7T022の欠損に起因する疾病、例えば、OT7T022により誘導され得る種々の生物活性の欠失に基づく、OT7T022の生物活性の不活性化に起因する疾病（例えば、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、

20 不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下など、特に筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下など）のより良いモデルとなり得るので、

25 これらの疾病の原因究明及び治療法の検討に有用である。ここで、他の病態モデル動物としては、例えば、血液細胞側のみの遺伝子発現の欠損あるいは上昇に局限させた骨髓移植を用いたモデルマウスも挙げられる [Linton, M. F., et al., Science 267: 1034-1037 (1995)]。骨髓移植マウスは遺伝子

機能の変化が限局されることで、より適した病態モデル動物となる可能性を秘めている。例えば、上記されたOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物から得られた病態モデル動物をドナー動物として、その骨髄を採取し、あらかじめ放射線照射で骨髄を破壊した他のレシピエント動物に移植したマウス、
5 あるいは、他の病態モデル動物をドナー動物として、その骨髄を採取し、あらかじめ放射線照射で骨髄を破壊したOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物から得られた病態モデル動物をレシピエント動物として移植した骨髄移植マウスなども含まれる。

このように、本発明のOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物、該動物
10 に対する薬剤誘発あるいはストレス負荷によって生じる病態モデル動物、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物と他の病態モデル動物との交配によって生じる病態モデル動物、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物と他の病態モデル動物との交配によって生じる病態モデル動物に対する薬剤誘発
15 あるいはストレス負荷によって生じる病態モデル動物、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物から得られた病態モデル動物と他の病態モデル動物を用いて骨髄移植して得られた病態モデル動物、もしくはそれらの組織またはそれらに由来する細胞を、該疾病の予防・治療・改善薬のスクリーニングに用いることができる。ここで、上記組織やそれに由来する細胞の例としては、
20 腹腔マクロファージを用いて特定産物の活性や産生量を測定することでスクリーニングに用いることができる。

[本発明のスクリーニング方法A]

本発明は、本発明のOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物もしくはその組織またはそれらに由来する細胞を用いることを特徴とする、痛覚障害、
25 眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下、特に痛覚障害、

筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・治療・改善薬のスクリーニング方法を提供する。

- 本発明のスクリーニング方法において用いられるOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物、該動物の薬剤誘発あるいはストレス負荷によって生じる病態モデル動物、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物と他の病態モデル動物との交配によって生じる病態モデル動物、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物と他の病態モデル動物との交配によって生じる病態モデル動物に対する薬剤誘発あるいはストレス負荷によって生じる病態モデル動物、
- 5 OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物から得られた病態モデル動物と他の病態モデル動物を用いて骨髄移植して得られた病態モデル動物、もしくはそれらの組織またはそれらに由来する細胞としては、前記と同様のものが挙げられる。
- 10

試験化合物としては、前記と同様のものが用いられる。

- 15 具体的には、本発明のOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物、該動物の薬剤誘発あるいはストレス負荷によって生じる病態モデル動物、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物と他の病態モデル動物との交配によって生じる病態モデル動物、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物と他の病態モデル動物との交配によって生じる病態モデル動物に対する薬剤誘発あるいは
- 20 ストレス負荷によって生じる病態モデル動物およびOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物から得られた病態モデル動物と他の病態モデル動物を用いて骨髄移植して得られた病態モデル動物（以下、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物等と称する場合がある）、もしくはそれらの組織またはそれらに由来する細胞を、試験化合物で処理し、無処理の対照動物と比較し、
- 25 該動物の各器官、組織、細胞、疾病の症状等の変化、特に痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血

血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下など、特に筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の改善効果を指標として試験化合物の予防・治療・改善効果を試験

5 試験することができる。

試験動物（OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物等）を試験化合物で処理する方法としては、例えば、経口投与、静脈注射などが用いられ、試験動物の症状、試験化合物の性質などにあわせて適宜選択することができる。

また、試験化合物の投与量は、投与方法、試験化合物の性質などにあわせて
10 適宜選択することができる。

例えば、肥満症の予防・治療・改善薬をスクリーニングする場合、本発明のOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物等にコレステロール負荷処置を行い、コレステロール負荷処置前または処置後に試験化合物を投与し、該動物の血中コレステロール値および体重変化などを経時的に測定することによりスクリーニングすることができる。また、本発明のOT7T022遺伝子
15 発現不全非ヒト動物等にSTZあるいはアロキサンなどの薬剤投与を行い、糖負荷処置前または処置後に試験化合物を投与し、該動物の血糖値および体重変化などを経時的に測定することによりスクリーニングすることができる。

例えば、該スクリーニング方法において、試験動物に試験化合物を投与した
20 場合、該試験動物の体重が約10%以上、好ましくは約30%以上、より好ましくは約50%以上減少した場合、該試験化合物を肥満症に対して治療・予防効果を有する物質として選択することができる。

また、痛覚障害の予防・治療・改善薬をスクリーニングする場合、本発明のOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物等に試験化合物を投与し、該動物の痛み防御行動（例、なめる行動、あばれる行動、引っかき行動など）な
25 どを経時的に測定することによりスクリーニングすることができる。さらには、本発明のOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物等にモルヒネなどの鎮痛薬の投与を行った後、試験化合物を投与し、該動物の痛み防御行動（例、

なめる行動、あばれる行動、引っかき行動など)などを経時的に測定することによりスクリーニングすることができる。

例えば、該スクリーニング方法において、試験動物に試験化合物を投与した場合、該試験動物の痛み防御行動が約10%以上、好ましくは約30%以上、より好ましくは約50%以上上昇した場合、該試験化合物を痛覚障害に
5 対して治療・予防効果を有する物質として選択することができる。

本発明のスクリーニング方法を用いて得られる予防・治療・改善薬は、上記した試験化合物から選ばれた化合物またはその塩を含有するものであり、OT7T022欠損によって引き起こされる疾患の予防・治療・改善効果を
10 有するので、OT7T022の欠損によって引き起こされる疾病に対する安全で低毒性な治療・予防薬などの医薬として有用である。また、該化合物から誘導される化合物も同様に用いることができる。

該スクリーニング方法で得られた化合物の塩としては、例えば、無機塩基との塩、有機塩基との塩、無機酸との塩、有機酸との塩、塩基性または酸性
15 アミノ酸との塩などの薬学的に許容し得る塩などがあげられる。

無機塩基との塩の好適な例としては、例えばナトリウム塩、カリウム塩などのアルカリ金属塩、カルシウム塩、マグネシウム塩などのアルカリ土類金属塩、並びにアルミニウム塩、アンモニウム塩などがあげられる。

有機塩基との塩の好適な例としては、例えばトリメチルアミン、トリエチルアミン、ピリジン、ピコリン、2,6-ピリジンジールアミン、エタノールアミン、ジエタノールアミン、トリエタノールアミン、シクロヘキシルアミン、ジシクロヘキシルアミン、N,N'-ジベンジルエチレンジアミンなどとの塩があげられる。
20

無機酸との塩の好適な例としては、例えば塩酸、臭化水素酸、硫酸、リン酸などとの塩があげられる。
25

有機酸との塩の好適な例としては、例えばギ酸、酢酸、プロピオン酸、フマル酸、シュウ酸、酒石酸、マレイン酸、クエン酸、コハク酸、リンゴ酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、安息香酸などとの塩があげられる。

塩基性アミノ酸との塩の好適な例としては、例えばアルギニン、リジン、オルチニンなどとの塩があげられ、酸性アミノ酸との好適な例としては、例えばアスパラギン酸、グルタミン酸などとの塩があげられる。

本発明のスクリーニング方法を用いて得られる化合物またはその塩を上述
5 の治療・予防薬として使用する場合、常套手段に従って実施することができ、
例えば、必要に応じて糖衣を施した錠剤、カプセル剤、エリキシル剤、マイ
クロカプセル剤などとして経口的に、あるいは水もしくはそれ以外の薬学的
に許容し得る液との無菌性溶液、または懸濁液剤などの注射剤の形で非経口
的に使用できる。例えば、該化合物またはその塩を薬学的に認められる担体、
10 香味剤、賦形剤、ベヒクル、防腐剤、安定剤、結合剤などとともに一般に認
められた製薬実施に要求される単位用量形態で混和することによって製造す
ることができる。これら製剤における有効成分量は指示された範囲の適当な
容量が得られるようにするものである。

錠剤、カプセル剤などに混和することができる添加剤としては、例えば、
15 ゼラチン、コーンスターチ、トラガントゴム、アラビアゴムのような結合剤、
結晶性セルロースのような賦形剤、コーンスターチ、ゼラチン、アルギン酸
などのような膨化剤、ステアリン酸マグネシウムのような潤滑剤、ショ糖、
乳糖またはサッカリンのような甘味剤、ペパーミント、アカモノ油またはチ
ェリーのような香味剤などが用いられる。調剤単位形態がカプセルである場
20 合には、前記タイプの材料にさらに油脂のような液状担体を含有することが
できる。注射のための無菌組成物は注射用水のようなベヒクル中の活性物質、
胡麻油、椰子油などのような天然産出植物油などを溶解または懸濁させるな
どの通常の製剤実施に従って処方することができる。

注射用の水溶液としては、例えば、生理食塩水、ブドウ糖やその他の補助
25 薬を含む等張液（例えば、D-ソルビトール、D-マンニトール、塩化ナト
リウムなど）などが挙げられ、適当な溶解補助剤、例えば、アルコール（例
えば、エタノールなど）、ポリアルコール（例えば、プロピレングリコール、
ポリエチレングリコールなど）、非イオン性界面活性剤（例えば、ポリソル

ベート 80™、HCO-50 など) などと併用してもよい。油性液としては、例えば、ゴマ油、大豆油などが挙げられ、溶解補助剤として安息香酸ベンジル、ベンジルアルコールなどと併用してもよい。また、緩衝剤 (例えば、リン酸塩緩衝液、酢酸ナトリウム緩衝液など)、無痛化剤 (例えば、塩化ベンザルコニウム、塩酸プロカインなど)、安定剤 (例えば、ヒト血清アルブミン、ポリエチレングリコールなど)、保存剤 (例えば、ベンジルアルコール、フェノールなど)、酸化防止剤などと配合してもよい。調製された注射液は通常、適当なアンプルに充填される。

このようにして得られる製剤は安全で低毒性であるので、例えば、ヒトまたは温血動物 (例えば、マウス、ラット、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ウマ、トリ、ネコ、イヌ、サル、チンパンジーなど) に対して投与することができる。

該化合物またはその塩の投与量は、症状などにより差異はあるが、経口投与の場合、一般的に成人 (体重 60 kg として) の拒食症患者においては、一日につき約 0.1 ~ 100 mg、好ましくは約 1.0 ~ 50 mg、より好ましくは約 1.0 ~ 20 mg である。非経口的に投与する場合は、その 1 回投与量は投与対象、対象臓器、症状、投与方法などによっても異なるが、例えば、注射剤の形では通常成人 (体重 60 kg として) の拒食症患者においては、一日につき約 0.01 ~ 30 mg 程度、好ましくは約 0.1 ~ 20 mg 程度、より好ましくは約 0.1 ~ 10 mg 程度を静脈注射により投与するのが好都合である。他の動物の場合も、体重 60 kg 当たりに換算した量を投与することができる。

[本発明のスクリーニング方法 B]

本発明は、本発明の OT7T022 遺伝子発現不全非ヒト動物に、試験化合物を投与し、レポーター遺伝子の発現を検出することを特徴とする本発明の遺伝子に対するプロモーターの活性を促進または阻害する化合物またはその塩のスクリーニング方法を提供する。

上記スクリーニング方法において、本発明の OT7T022 遺伝子発現不

全非ヒト動物としては、前記した本発明のOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物の中でも、OT7T022遺伝子がレポーター遺伝子を導入することにより不活性化され、該レポーター遺伝子がOT7T022遺伝子に対するプロモーターの制御下で発現しうるものが用いられる。

5 試験化合物としては、前記と同様のものがあげられる。

レポーター遺伝子としては、前記と同様のものが用いられ、 β -ガラクトシダーゼ遺伝子 (lacZ)、可溶性アルカリフォスファターゼ遺伝子またはルシフェラーゼ遺伝子などが好適である。

OT7T022遺伝子をレポーター遺伝子で置換された本発明のOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物では、レポーター遺伝子がOT7T022遺伝子に対するプロモーターの支配下に存在するので、レポーター遺伝子がコードする物質の発現をトレースすることにより、プロモーターの活性を検出することができる。

例えば、OT7T022遺伝子領域の一部を大腸菌由来の β -ガラクトシダーゼ遺伝子 (lacZ) で置換している場合、本来、OT7T022遺伝子の発現する組織で、OT7T022の代わりに β -ガラクトシダーゼが発現する。従って、例えば、5-ブロモ-4-クロロ-3-インドリル- β -ガラクトピラノシド (X-gal) のような β -ガラクトシダーゼの基質となる試薬を用いて染色することにより、簡便にOT7T022の動物生体内における発現状態を観察することができる。具体的には、OT7T022遺伝子欠損マウスまたはその組織切片をグルタルアルデヒドなどで固定し、リン酸緩衝生理食塩液 (PBS) で洗浄後、X-galを含む染色液で、室温または37℃付近で、約30分ないし1時間反応させた後、組織標本を1 mM EDTA/PBS溶液で洗浄することによって、 β -ガラクトシダーゼ反応を停止させ、呈色を観察すればよい。また、常法に従い、lacZをコードするmRNAを検出してもよい。

例えば、該スクリーニング方法において、試験動物に試験化合物を投与した場合、レポーター蛋白質の発現が約10%以上、好ましくは約30%以上、

- より好ましくは約50%以上増加した場合、該試験化合物をOT7T022遺伝子に対するプロモーター活性を促進する化合物またはその塩として選択でき、試験動物に試験化合物を投与した場合、レポーター蛋白質の発現が約10%以上、好ましくは約30%以上、より好ましくは約50%以上減少した場合、該試験化合物をOT7T022遺伝子に対するプロモーター活性を阻害する化合物またはその塩として選択できる。

上記スクリーニング方法を用いて得られる化合物またはその塩は、上記した試験化合物から選ばれた物質であり、OT7T022遺伝子に対するプロモーター活性を促進または阻害する化合物またはその塩である。

- 10 該スクリーニング方法で得られた化合物の塩としては、生理学的に許容される酸（例、無機酸など）や塩基（例、有機酸など）などとの塩が用いられ、とりわけ生理学的に許容される酸付加塩が好ましい。この様な塩としては、例えば、無機酸（例えば、塩酸、リン酸、臭化水素酸、硫酸など）との塩、あるいは有機酸（例えば、酢酸、ギ酸、プロピオン酸、フマル酸、マレイン酸、コハク酸、酒石酸、クエン酸、リンゴ酸、蔞酸、安息香酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸など）との塩などが用いられる。

- OT7T022遺伝子に対するプロモーター活性を促進する化合物またはその塩は、OT7T022の発現を促進し、OT7T022の機能を促進することができるので、例えば、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下など、特に筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下など疾患の予防・治療・改善剤などの医薬として使用することができる。

一方、OT7T022遺伝子に対するプロモーター活性を阻害する化合物またはその塩は、OT7T022の発現を阻害し、OT7T022の機能を

阻害することができるので、例えば、筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少の予防・治療・改善剤、鎮痛剤、モルヒネの鎮痛作用促進剤、モルヒネ耐性回避剤、モルヒネ依存性回避剤などの医薬として使用することができる。

- 5 さらに、上記スクリーニングで得られた化合物から誘導される化合物も同様に用いることができる。

該スクリーニング方法で得られた化合物またはその塩を含有する医薬は、前記したスクリーニング方法Aで得られた化合物またはその塩を含有する医薬と同様にして製造することができる。

- 10 このようにして得られる製剤は、安全で低毒性であるので、例えば、ヒトまたは哺乳動物（例えば、ラット、マウス、モルモット、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ウマ、ネコ、イヌ、サルなど）に対して投与することができる。

- 該化合物またはその塩の投与量は、対象疾患、投与対象、投与ルートなどにより差異はあるが、例えば、痛覚障害の治療目的でOT7T022遺伝子
- 15 に対するプロモーター活性を促進する物質を経口投与する場合、一般的に成人患者（体重60kgとして）においては、一日につき該化合物またはその塩を約0.1～100mg、好ましくは約1.0～50mg、より好ましくは約1.0～20mg投与する。非経口的に投与する場合は、該化合物またはその塩の1回投与量は投与対象、対象疾患などによっても異なるが、例えば、
- 20 痛覚障害の治療目的でOT7T022遺伝子に対するプロモーター活性を促進する化合物またはその塩を注射剤の形で通常成人患者（体重60kgとして）に投与する場合、一日につき該物質を約0.01～30mg程度、好ましくは約0.1～20mg程度、より好ましくは約0.1～10mg程度を静脈注射により投与するのが好都合である。他の動物の場合も、体重60kg
- 25 gあたりに換算した量を投与することができる。

このように、本発明のOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物は、OT7T022遺伝子に対するプロモーターの活性を促進または阻害する化合物またはその塩をスクリーニングする上で極めて有用であり、OT7T022

遺伝子発現不全に起因する各種疾患の原因究明または予防・治療・改善薬の開発に大きく貢献することができる。

- また、OT7T022遺伝子のプロモーター領域を含有するDNAを使って、その下流に種々の蛋白質をコードする遺伝子を連結し、これを動物の卵
- 5 細胞に注入していわゆるトランスジェニック動物（遺伝子移入動物）を作成すれば、特異的にそのペプチドを合成させ、その生体での作用を検討することも可能となる。さらに上記プロモーター部分に適当なレポーター遺伝子を結合させ、これが発現するような細胞株を樹立すれば、OT7T022そのものの体内での産生能力を特異的に促進もしくは抑制する作用を持つ低分子
- 10 化合物の探索系として使用できる。

（10）各種薬物の作用メカニズムの解明方法

OT7T022を用いることによって、各種薬物がOT7T022を介して薬理効果を発揮しているか否かを確認することができる。

すなわち、本発明は、

- 15 （1）OT7T022を用いることを特徴とする、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下、体温
- 20 減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少に対する予防・治療・改善薬、鎮痛薬、モルヒネの鎮痛作用促進薬、モルヒネ耐性回避薬などがOT7T022に結合することを確認する方法、

- （2）OT7T022を用いることを特徴とする、痛覚障害、眼疾患、下
- 25 下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下など、

特に筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下に対する予防・治療・改善薬がOT7T022に対するアゴニストであることを確認する方法、

- 5 (3) OT7T022を用いることを特徴とする、筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少に対する予防・治療・改善薬、鎮痛薬、モルヒネの鎮痛作用促進薬、モルヒネ耐性回避薬などがOT7T022に対するアンタゴニストであることを確認する方法、

- 10 (4) 各薬をOT7T022に接触させた場合における、各薬とOT7T022との結合量を測定することを特徴とする上記(1)～(3)記載のスクリーニング方法を提供する。

この確認方法は、前記したRFRPとOT7T022との結合性を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法において、試験化合物に代

- 15 て、上記の薬物を使用することによって実施することができる。

また、本発明の確認方法用キットは、前記したRFRPとOT7T022との結合性を変化させる化合物のスクリーニング用キットにおいて、試験化合物に代えて、上記の薬物を含有するものである。

- 20 このように、本発明の確認方法を用いることによって、市販または開発途中の各種薬物がOT7T022を介して薬理効果を発揮していることを確認することができる。

- 本明細書および図面において、塩基やアミノ酸などを略号で表示する場合、IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclatureによる略号あるいは当該分野における慣用略号に基づくものであり、その例を下記する。
- 25 またアミノ酸に関し光学異性体があり得る場合は、特に明示しなければL体を示すものとする。

DNA : デオキシリボ核酸

cDNA : 相補的デオキシリボ核酸

	A	: アデニン
	T	: チミン
	G	: グアニン
	C	: シトシン
5	I	: イノシン
	R	: アデニン (A) またはグアニン (G)
	Y	: チミン (T) またはシトシン (C)
	M	: アデニン (A) またはシトシン (C)
	K	: グアニン (G) またはチミン (T)
10	S	: グアニン (G) またはシトシン (C)
	W	: アデニン (A) またはチミン (T)
	B	: グアニン (G) 、グアニン (G) またはチミン (T)
	D	: アデニン (A) 、グアニン (G) またはチミン (T)
	V	: アデニン (A) 、グアニン (G) またはシトシン (C)
15	N	: アデニン (A) 、グアニン (G) 、シトシン (C) もしくはチミン (T) または不明もしくは他の塩基
	RNA	: リボ核酸
	mRNA	: メッセンジャーリボ核酸
	dATP	: デオキシアデノシン三リン酸
20	dTTP	: デオキシチミジン三リン酸
	dGTP	: デオキシグアノシン三リン酸
	dCTP	: デオキシシチジン三リン酸
	ATP	: アデノシン三リン酸
	EDTA	: エチレンジアミン四酢酸
25	SDS	: ドデシル硫酸ナトリウム
	BHA	: ベンズヒドリルアミン
	pMBHA	: p-メチルベンズヒドリルアミン
	To s	: p-トルエンスルフォニル

	B z l	: ベンジル
	B o m	: ベンジルオキシメチル
	B o c	: t-ブチルオキシカルボニル
	D C M	: ジクロロメタン
5	H O B t	: 1-ヒドロキシベンズトリアゾール
	D C C	: N, N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド
	T F A	: トリフルオロ酢酸
	D I E A	: ジイソプロピルエチルアミン
	G l y	: グリシン
10	A l a または A	: アラニン
	V a l または V	: バリン
	L e u または L	: ロイシン
	I l e または I	: イソロイシン
	S e r または S	: セリン
15	T h r または T	: スレオニン
	C y s または C	: システイン
	M e t または M	: メチオニン
	G l u または E	: グルタミン酸
	A s p または D	: アスパラギン酸
20	L y s または K	: リジン
	A r g または R	: アルギニン
	H i s または H	: ヒスチジン
	P h e または F	: フェニルアラニン
	T y r または Y	: チロシン
25	T r p または W	: トリプトファン
	P r o または P	: プロリン
	A s n または N	: アスパラギン
	G l n または Q	: グルタミン

p G l u : ピログルタミン酸

本願明細書の配列表の配列番号は、以下の配列を示す。

〔配列番号：1〕

R F R P のアミノ酸配列（ヒト型）を示す。

5 〔配列番号：2〕

配列番号：1 で表わされるアミノ酸配列を有する R F R P をコードする D N A の塩基配列を示す。

〔配列番号：3〕

R F R P のアミノ酸配列（ヒト型）を示す。

10 〔配列番号：4〕

配列番号：3 で表わされるアミノ酸配列を有する R F R P をコードする D N A の塩基配列を示す。

〔配列番号：5〕

R F R P のアミノ酸配列（ウシ型）を示す。

15 〔配列番号：6〕

配列番号：5 で表わされるアミノ酸配列を有する R F R P をコードする D N A の塩基配列を示す。

〔配列番号：7〕

R F R P のアミノ酸配列（ラット型）を示す（リクローニング前）。

20 〔配列番号：8〕

配列番号：7 で表わされるアミノ酸配列を有する R F R P をコードする D N A の塩基配列を示す。

〔配列番号：9〕

R F R P のアミノ酸配列（マウス型）を示す。

25 〔配列番号：10〕

配列番号：9 で表わされるアミノ酸配列を有する R F R P をコードする D N A の塩基配列を示す。

〔配列番号：11〕

ラット由来G蛋白質共役型レセプター蛋白質 r O T 7 T 0 2 2 のアミノ酸配列を示す。

〔配列番号：12〕

- 5 ラット由来G蛋白質共役型レセプター蛋白質 r O T 7 T 0 2 2 をコードする c D N A の塩基配列を示す。

〔配列番号：13〕

R F R P 部分ペプチドのアミノ酸配列を示す。

〔配列番号：14〕

R F R P 部分ペプチドのアミノ酸配列を示す。

- 10 〔配列番号：15〕

R F R P 部分ペプチドのアミノ酸配列を示す。

〔配列番号：16〕

配列番号：1 で表わされるアミノ酸配列の第 8 1 番目 (Met) ～第 9 2 番目 (Phe) のアミノ酸配列を含有するペプチドをコードする塩基配列を示す。

- 15 〔配列番号：17〕

配列番号：1 で表わされるアミノ酸配列の第 1 0 1 番目 (Ser) ～第 1 1 2 番目 (Ser) のアミノ酸配列を含有するペプチドをコードする塩基配列を示す。

〔配列番号：18〕

- 20 配列番号：1 で表わされるアミノ酸配列の第 1 2 4 番目 (Val) ～第 1 3 1 番目 (Phe) のアミノ酸配列を含有するペプチドをコードする塩基配列を示す。

〔配列番号：19〕

配列番号：1 で表わされるアミノ酸配列の第 1 番目 (Met) ～第 9 2 番目 (Phe) のアミノ酸配列を含有するペプチドをコードする塩基配列を示す。

〔配列番号：20〕

- 25 配列番号：1 で表わされるアミノ酸配列の、第 1 番目 (Met) ～第 1 1 2 番目 (Ser) のアミノ酸配列を含有するペプチドをコードする塩基配列を示す。

〔配列番号：21〕

配列番号：1 で表わされるアミノ酸配列の、第 1 番目 (Met) ～第 1 3 1 番

目 (Phe) のアミノ酸配列を含有するペプチドをコードする塩基配列を示す。

〔配列番号：22〕

RFRPのアミノ酸配列（ラット型）を示す（リクローニング後）。

〔配列番号：23〕

- 5 配列番号：22で表わされるアミノ酸配列を有するRFRPをコードするDNAの塩基配列を示す。

〔配列番号：24〕

ヒト由来G蛋白質共役型レセプター蛋白質hOT7T022をコードするアミノ酸配列を示す。

- 10 〔配列番号：25〕

配列番号：24で表されるアミノ酸配列を有するhOT7T022をコードするDNAの塩基配列を示す。

〔配列番号：26〕

- 15 配列番号：24で表されるアミノ酸配列を有するhOT7T022をコードするDNAの塩基配列を示す。

〔配列番号：27〕

マウス由来G蛋白質共役型レセプター蛋白質OT7T022の部分アミノ酸配列を示す。

〔配列番号：28〕

- 20 配列番号：27で表されるアミノ酸配列を有するマウス由来OT7T022をコードするゲノムDNAの塩基配列を示す。

〔配列番号：29〕

実施例3で使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：30〕

- 25 実施例3で使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：31〕

実施例3で使用したプライマーの塩基配列を示す。

〔配列番号：32〕

配列番号：27で表されるアミノ酸配列を有するマウス由来OT7T022をコードするゲノムDNAの塩基配列を示す。配列番号：28で表される塩基配列中のnを特定した配列である。

後述の実施例1で得られた形質転換体*Escherichia coli*
5 JM109/pKS-OT7T0221は2002年10月17日から茨城県つくば市東1丁目1番地1 中央第6（郵便番号305-8566）の独立行政法人産業技術総合研究所 特許生物寄託センターに寄託番号FERM BP-8210として寄託されている。

後述の実施例1で得られた形質転換体*Escherichia coli*
10 JM109/pKS-OT7T0222は2002年10月17日から茨城県つくば市東1丁目1番地1 中央第6（郵便番号305-8566）の独立行政法人産業技術総合研究所 特許生物寄託センターに寄託番号FERM BP-8211として寄託されている。

後述の実施例1で得られた形質転換体*Escherichia coli*
15 JM109/pKS-OT7T0223は2002年10月17日から茨城県つくば市東1丁目1番地1 中央第6（郵便番号305-8566）の独立行政法人産業技術総合研究所 特許生物寄託センターに寄託番号FERM BP-8212として寄託されている。

後述の実施例1で得られた形質転換体*Escherichia coli*
20 JM109/pKS-OT7T0224は2002年10月17日から茨城県つくば市東1丁目1番地1 中央第6（郵便番号305-8566）の独立行政法人産業技術総合研究所 特許生物寄託センターに寄託番号FERM BP-8213として寄託されている。

後述の実施例2で得られた形質転換体*Escherichia coli*
25 JM109/p022Tgv-2は2002年10月17日から茨城県つくば市東1丁目1番地1 中央第6（郵便番号305-8566）の独立行政法人産業技術総合研究所 特許生物寄託センターに寄託番号FERM BP-8214として寄託されている。

実施例

以下に、実施例を挙げて本発明をさらに具体的に説明するが、本発明はそれ
に限定されるものではない。なお、大腸菌を用いての遺伝子操作法は、モ
レキュラー・クローニング (Molecular cloning) に記載されている方法に従
5 った。

実施例 1 マウス OT7T022 のクローニング

- ラット OT7T022 cDNA (配列番号: 12、WO 00/29441 号) をプロ
ローブにした。ラット cDNA の 580-1170 bp の DNA 断片をプローブとして作製し
た (PCR-DIG プローブ合成キット、ロシュダイアゴニスティックス社)。その
10 プローブを用いて、マウス 129SvJ ラムダゲノムライブラリー (ストラタジー
ン社) に 1st プラークハイブリダイゼーションを行った結果、陽性プラーク
が 6 個得られた。1st プラークハイブリダイゼーションで得られた 6 個の陽性
プラークに対して 2nd プラークハイブリダイゼーションを行い、2 個の陽性ク
ローンを単離した。
- 15 サザンハイブリダイゼーションを行った結果、約 4.5 kbp の Bam HI 断片に
OT7T022 のコード領域が存在することが判明した。常法によりクローニング
した DNA 断片をシーケンサー (パーキンエルマー社) により塩基配列を調べた
結果、ラット OT7T022 の 3' 側 エクソン (0.9 kbp) と 94% の相同性を有する
断片であり、マウス OT7T022 ゲノム DNA であることを確認した。さらに OT7T022
20 をコードする Bam HI 断片の 5' 側 3.8 kbp および 3' 側 5.5 kbp の Bam HI 断片をク
ローニングした。サザン解析により 3' 側 エクソンから 1.8 kbp 以上はなれた
上流に一つのエクソンが存在することがわかった (配列番号: 28 または配
列番号: 32)。

- マウス OT7T022 ゲノム DNA の断片を大腸菌 JM109 株に形質転換し、形質
25 転換体 *Escherichia coli* JM109/pKS-OT7T0221、形質転換体 *Escherichia coli* JM109/p
KS-OT7T0222、形質転換体 *Escherichia coli* JM109/pKS-OT7T0223、形質転換体 *Escherichi*

a c o l i J M 1 0 9 / p K S - O T 7 T 0 2 2 4 を取得した。

実施例 2 ターゲッティングベクターの構築およびES相同組み換えの作製

OT7T022ターゲッティングベクターの構築は、3' 側 エクソンの5' 側 Sac
I-Bam HI断片(3.2 kbp)、3' 側BstEII-Xho I断片(5.2 kbp)、ネオマイシン耐
5 性遺伝子およびジフテリアトキシン遺伝子を用いて行い、3' 側 エクソン1.2
kbpを欠失させた OT7T022 ターゲッティングベクターp022Tgv-2の構築を終了
した(図1)。OT7T022 ターゲッティングベクターp022Tgv-2を大腸菌 J M 1
0 9 株に形質転換し、形質転換体 E s c h e r i c h i a c o l i J M
1 0 9 / p 0 2 2 T g v - 2 を取得した。OT7T022ターゲッティングベクター
10 をマウス129SvEv系統由来ES細胞(AB2.2系統)にエレクトロポレーションに
より導入した。エレクトロポレーションはジーンパルサーエレクトロポレー
ションシステム(バイオラッド社製)を用いて電圧 230 V, 抵抗値500 μ F, DNA
溶液濃度30 μ g/mlの条件を設定して行った。

遺伝子導入実験は3回行い、それぞれ1000株以上のネオマイシン耐性株を得
15 ることができた。ターゲッティングベクターp022Tgv-2によって得られた739株
のネオマイシン耐性株を24ウェルプレートで培養し、-70℃凍結融解、
Proteinase K処理後、エタノール沈殿によりDNAを抽出した。

そのうち595株のゲノムに対して5' 側のBam HI-Xho I 600 bp断片(ターゲ
20 ャッティングベクターに用いたゲノムの外側の領域)をプローブとし、サザンハ
イブリダイゼーションを行った。その結果、6株に相同組換え体と推定される
5.4 kbのバンドがみられた(野生型3.8kb)。

相同組換え体と考えられるDNA断片が検出された6種のES細胞株(No. 126,
130, 283, 491, 532, 545)について、再確認のためサザン解析を行った。
凍結保存しておいた各細胞を培養後、DNAを抽出し、Bam HI-Xho I切断後、
25 上記600 bp断片をプローブとし、サザンハイブリダイゼーションを行った。
その結果、全ての細胞において5.4 kb断片(野生型は3.8 kb断片のみが観察
される)が再確認できた。また、プローブをネオマイシン耐性遺伝子として
サザンハイブリダイゼーションを行った結果、2 kb付近に野生型、組換え体

共通に見られるバンドがあったが、組換え体のみに5.4 kbのバンドが確認でき、6種のES細胞すべてが相同組換え体であることが確認できた。

- これら6系統の相同組換え体のうち増殖が良好であった3系統の相同組換え体細胞株 (No. 130, 283, 532) について核型分析のためフィーダー細胞存在下、ES細胞を25cm²フラスコにコンフルエントになるまで培養し、コルセミドを添加 (最終細胞密度0.1 μ g/ml) し、37°C、2時間培養した。PBSで洗浄後、トリプシン処理し、遠心1000rpm、5分した。ペレットに0.075M KCl 4mlを添加し室温で20分放置後、細胞浮遊液にカルノア液 (酢酸:メタノール比=1:3) を1滴添加後穏やかに懸濁した。室温放置60分させ、遠心し、ペレットをカルノア液4mlで穏やかに懸濁し、さらに室温放置した。30分5回程度繰り返した。遠心後ペレットにカルノア液2~3mlを加え適度な濃度に調製し、スライドグラス上に細胞浮遊液を2~3滴 滴下した。風乾後、3%ギムザ溶液で染色し、顕微鏡下で分裂期中期の染色体観察を行った。結果、正常核型を有する細胞の割合は61~69%であった。3系統の相同組換え体細胞株の核型異常がみられなかったもので、増殖性の良好な細胞株No. 283を選抜した。

実施例3 ノックアウトマウスの作製

- 相同組み換え細胞株No. 283をC57BL/6系統マウス胚盤胞へのインジェクションを常法により行った。インジェクションされた胚盤胞は別途精管結紮マウスと交配することによって得られた偽妊娠マウス卵管に移植することによって妊娠させた。283株については移植胚の約半分が産仔として生まれ、75%がキメラマウスであった。雄キメラマウスはC57BL/6系統雌マウスと交配し、産仔での生殖系列移行およびヘテロマウスの取得をおこなった。

- キメラとC57BL 系統マウスとの交配によって51 匹のES細胞 由来マウスが得られた。マウス尾よりゲノム DNAを精製し、まずPCR による遺伝子型判定の条件を検討した。検討の結果プライマーはターゲティングした領域の3' 側 (AGGTGCTCAGTGTGTAGAAGTGG (配列番号: 29)) を共通とし、また5' 側は野生型 検出用として、欠損させた領域内の終止コドン付近配列 (ATCCCAGCCTGGAACATTTTGAGG (配列番号: 30))、変異型検出用としてネオ

- 5 マイシン耐性遺伝子内配列 (TCATAGCCGAATACGGTCTCCAC (配列番号: 31))
とし、ポリメラーゼはKOD-plus- (東洋紡株式会社製) を用いた。野生型は300
bp断片のみを検出し、ヘテロ欠損個体であれば、300 bp および 600 bp断片
を検出できるように設計されたPCR による遺伝子判定の結果、ヘテロ欠損マ
ウスを得ることができた。次に、サザンハイブリダイゼーションを行って、
遺伝子欠損の確認を行った。

実施例4 臓器重量の変化

- 雄ホモ欠損マウスの生後8週齢個体を頸椎脱臼により屠殺し、解剖を行った。
各主要臓器を取り出して重量測定を行った。その結果、臓器重量においては野
10 生型マウスとホモ欠損マウスに差異は認められなかった。生後13週齢の臓器
重量測定の結果では、胸腺において野生型マウスに比べ、ホモ欠損マウスで有
意な増加がみられた。

実施例5 体重、飲水量、摂食量

- ホモ欠損マウスの体重、摂餌量および飲水量について経時的变化を調べた。
15 離乳後雄ホモ欠損マウスの体重変化は、野生型マウスに比べ差異はみられな
かった。摂餌量および飲水量の経時的变化において雄雌性ホモ欠損マウスと
も野生型マウスと差異はみられなかった。

実施例6 行動異常

- 日常行動および外見観察はIrwin (1968) の方法に準拠して行った。その結
20 果、生後6ヶ月齢のホモ欠損マウス (雄性2例中、2例) において異常歩行が観察
された。別ロットのホモ欠損マウス (7週齢) の中に後退歩行がみられ、後肢を
引きずるような歩行異常も観察された。さらに振戦あるいは痙攣などを示す
個体がみられたが、その程度は個体間差異がみられた。これら行動異常は
C57BL/6Jおよび129SvEv系統の雑種において観察された。

25 実施例7 侵害刺激に対する反応

侵害刺激に対する反応について評価するためマウスで用いられている方法
(Wilson SG, Mogil JS. Behav Brain Res 125:65-73, 2001) のなかで熱侵害
刺激に対する反応性を評価するためホットプレート試験 (熱板法とも呼ぶ)

を行った。

- 5 ホットプレート試験は市販のホットプレート式鎮痛効果測定装置を用いて行った。最初、55℃に熱したホットプレート上に直径15 c m高さ20 c mのガラス製円筒を置き、マウスをその円筒内にいれ、マウスが後肢を舐めるあるいは跳躍などの行動が現れるまでの時間を測定した。その結果、雄ホモ欠損マウスにおいて後肢を舐めるあるいは跳躍時間が有意に遅延した。

実施例 8 攻撃行動

- 10 雄ホモ欠損マウスの行動観察を行ったところ、野生型マウスよりも他の雌雄マウスに対する攻撃性が観察された。さらに一部のマウスにおいてはハンドリング時にtail rattling が観察され、飼育時においても軽微な挙尾反応が観察された。観察用ケージに雄マウスを2個体入れて相互の攻撃行動を観察する方法 (Nature 378:383-386, 1995) および (Nature 265:1875-1878, 1994) によりホモ欠損マウスの攻撃反応潜時を測定した。その結果、攻撃行動までの潜時がホモ欠損マウスで有意に短かった。これらの行動はC57BL/6Jおよび
- 15 129SvEv系統の雑種において観察された。

実施例 9 モルヒネ投与試験

- 20 C57BL/6Jコンジェニック系統11週齢の雄ホモ欠損マウスを用いて52℃湯の入った水槽に尾先端から3cmのところまで浸漬して尾が水槽から出るまでの時間を熱侵害刺激に対する応答性として評価した (tail immersion test、温湯法とも呼ぶ)。

- 25 実験の最大時間 (cut off time) は20秒とした。ホモ欠損マウスおよびC57BL/6Jコンジェニック系統11週齢の野生型マウスはそれぞれvehicle投与群およびモルヒネ投与群に分けて実験を行った。投与前に上記のtail immersion testを行った結果、すべての群における反応平均時間に有意差はみられなかった。次にモルヒネ (kg 体重当たり5mg) あるいはvehicleを腹腔内投与後、15分後、30分後に同じ方法でtail immersion testを実施した。モルヒネ投与雄ホモ欠損マウス群の反応時間は、その他の群より長くなった。モルヒネ投与前のtail immersion testには野生型マウスとホモ欠損マウスの

反応latencyに差異はあったが、モルヒネ投与した野生型マウスは15分および30分後、latencyは投与前に比べて有意に延長したのに対してモルヒネ投与したホモ欠損マウスにおいてはモルヒネ投与後も熱刺激に対する反応のlatencyはモルヒネ投与前と変わらなかった。

5

産業上の利用可能性

RFRPおよびOT7T022またはそれらをコードするDNAは、筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下などの予防・治療・改善薬として有用である。

10

また、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物は、上記疾患の予防・治療・改善薬のスクリーニングに有用である。

請求の範囲

1. 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミド
- 5 もしくはそのエステルまたはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤。
2. ポリペプチドが配列番号：1、配列番号：3、配列番号：5、配列番号：7、配列番号：9または配列番号：22で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチドである請求項1記載の剤。
- 10 3. 部分ペプチドが、
- (i) 配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第56番目 (Ser) ～第92番目 (Phe)、第70番目 (Met) ～第92番目 (Phe)、第73番目 (Met) ～第92番目 (Phe)、第81番目 (Met) ～第92番目 (Phe)
- 15 または第84番目 (Ser) ～第92番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド、
- (ii) 配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第101番目 (Ser) ～第112番目 (Ser) のアミノ酸配列からなるペプチド、
- (iii) 配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第101番目 (Asn) ～第131番目 (Phe)、第104番目 (Asn) ～第131番目 (Phe)、第115番目 (Asn) ～第131番目 (Phe)、第124番目 (Val) ～第131番目 (Phe)、第125番目 (Pro) ～第131番目 (Phe)、第126番目 (Asn) ～第131番目 (Phe) または第127番目 (Leu) ～第131番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド、
- 20 (iv) 配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第58番目 (Ser) ～第92番目 (Phe)、第70番目 (Lys) ～第92番目 (Phe)、第73番目 (Met) ～第92番目 (Phe)、第81番目 (Met) ～第92番目 (Phe) または第84番目 (Ser) ～第92番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド、
- 25 (v) 配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第101番目 (Ser) ～第1

1 2 番目 (Leu) のアミノ酸配列からなるペプチド、

- (vi) 配列番号：5 で表わされるアミノ酸配列の第 1 0 1 番目 (Ser) ～第 1 3 1 番目 (Phe)、第 1 0 4 番目 (Ala) ～第 1 3 1 番目 (Phe)、第 1 1 5 番目 (Asn) ～第 1 3 1 番目 (Phe)、第 1 2 4 番目 (Val) ～第 1 3 1 番目 (Phe)、
5 第 1 2 5 番目 (Pro) ～第 1 3 1 番目 (Phe)、第 1 2 6 番目 (Asn) ～第 1 3 1 番目 (Phe) または第 1 2 7 番目 (Leu) ～第 1 3 1 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド、

- (vii) 配列番号：9 で表わされるアミノ酸配列の第 5 8 番目 (Ser) ～第 9 4 番目 (Phe)、第 7 2 番目 (Val) ～第 9 4 番目 (Phe)、第 7 5 番目 (Met) ～第 9 4 番目 (Phe)、第 8 3 番目 (Val) ～第 9 4 番目 (Phe) または第 8 4 番目 (Pro) ～第 9 4 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド、
10

- (viii) 配列番号：9 で表わされるアミノ酸配列の第 1 1 8 番目 (Phe) ～第 1 2 5 番目 (Phe)、第 1 1 9 番目 (Pro) ～第 1 2 5 番目 (Phe)、第 1 2 0 番目 (Ser) ～第 1 2 5 番目 (Phe) または第 1 2 1 番目 (Leu) ～第 1 2 5 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド、
15

(ix) 配列番号：7 または 2 2 で表わされるアミノ酸配列の第 5 8 番目 (Ser) ～第 9 4 番目 (Phe)、第 7 2 番目 (Asp) ～第 9 4 番目 (Phe)、第 7 5 番目 (Met) ～第 9 4 番目 (Phe)、第 8 3 番目 (Val) ～第 9 4 番目 (Phe) または第 8 4 番目 (Pro) ～第 9 4 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド、

- (x) 配列番号：7 または 2 2 で表わされるアミノ酸配列の第 1 1 8 番目 (Phe) ～第 1 2 5 番目 (Phe)、第 1 1 9 番目 (Pro) ～第 1 2 5 番目 (Phe)、第 1 2 0 番目 (Ser) ～第 1 2 5 番目 (Phe) または第 1 2 1 番目 (Leu) ～第 1 2 5 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド、
20

- (xi) 上記 (i) ～ (x) のペプチドのアミノ酸配列中の 1 ～ 5 個のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列からなるペプチド、
25

(xii) 上記 (i) ～ (x) のペプチドのアミノ酸配列に 1 ～ 5 個のアミノ酸が付加したアミノ酸配列からなるペプチド、

(xiii) 上記 (i) ～ (x) のペプチドのアミノ酸配列に 1 ～ 5 個のアミノ酸が挿入されたアミノ酸配列からなるペプチド、

(xiv) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列中の 1 ~ 5 個のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列からなるペプチド、または

(xv) 上記 (xi) ~ (xiv) の欠失・付加・挿入・置換を組み合わせたアミノ酸配列からなるペプチドである請求項 1 記載の剤。

- 5 4. 配列番号：1 で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードする DNA を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤。
- 10 5. DNA が配列番号：1、配列番号：3、配列番号：5、配列番号：7、配列番号：9 または配列番号：22 で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチドをコードする DNA である請求項 4 記載の剤。
- 15 6. DNA が、
 - (i) 配列番号：1 または配列番号：3 で表わされるアミノ酸配列の第 56 番目 (Ser) ~ 第 92 番目 (Phe)、第 70 番目 (Met) ~ 第 92 番目 (Phe)、第 73 番目 (Met) ~ 第 92 番目 (Phe)、第 81 番目 (Met) ~ 第 92 番目 (Phe) または第 84 番目 (Ser) ~ 第 92 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド、
 - 20 (ii) 配列番号：1 または配列番号：3 で表わされるアミノ酸配列の第 101 番目 (Ser) ~ 第 112 番目 (Ser) のアミノ酸配列からなるペプチド、
 - 25 (iii) 配列番号：1 または配列番号：3 で表わされるアミノ酸配列の第 101 番目 (Asn) ~ 第 131 番目 (Phe)、第 104 番目 (Asn) ~ 第 131 番目 (Phe)、第 115 番目 (Asn) ~ 第 131 番目 (Phe)、第 124 番目 (Val) ~ 第 131 番目 (Phe)、第 125 番目 (Pro) ~ 第 131 番目 (Phe)、第 126 番目 (Asn) ~ 第 131 番目 (Phe) または第 127 番目 (Leu) ~ 第 131 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド、
 - (iv) 配列番号：5 で表わされるアミノ酸配列の第 58 番目 (Ser) ~ 第 92 番目 (Phe)、第 70 番目 (Lys) ~ 第 92 番目 (Phe)、第 73 番目 (Met) ~ 第 92 番目 (Phe)、第 81 番目 (Met) ~ 第 92 番目 (Phe) または第 84

番目 (Ser) ～第 9 2 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド、

(v) 配列番号：5 で表わされるアミノ酸配列の第 1 0 1 番目 (Ser) ～第 1 1 2 番目 (Leu) のアミノ酸配列からなるペプチド、

(vi) 配列番号：5 で表わされるアミノ酸配列の第 1 0 1 番目 (Ser) ～第 1 3 1 番目 (Phe)、第 1 0 4 番目 (Ala) ～第 1 3 1 番目 (Phe)、第 1 1 5 番目 (Asn) ～第 1 3 1 番目 (Phe)、第 1 2 4 番目 (Val) ～第 1 3 1 番目 (Phe)、第 1 2 5 番目 (Pro) ～第 1 3 1 番目 (Phe)、第 1 2 6 番目 (Asn) ～第 1 3 1 番目 (Phe) または第 1 2 7 番目 (Leu) ～第 1 3 1 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド、

10 (vii) 配列番号：9 で表わされるアミノ酸配列の第 5 8 番目 (Ser) ～第 9 4 番目 (Phe)、第 7 2 番目 (Val) ～第 9 4 番目 (Phe)、第 7 5 番目 (Met) ～第 9 4 番目 (Phe)、第 8 3 番目 (Val) ～第 9 4 番目 (Phe) または第 8 4 番目 (Pro) ～第 9 4 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド、

(viii) 配列番号：9 で表わされるアミノ酸配列の第 1 1 8 番目 (Phe) ～第 1 2 5 番目 (Phe)、第 1 1 9 番目 (Pro) ～第 1 2 5 番目 (Phe)、第 1 2 0 番目 (Ser) ～第 1 2 5 番目 (Phe) または第 1 2 1 番目 (Leu) ～第 1 2 5 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド、

(ix) 配列番号：7 または 2 2 で表わされるアミノ酸配列の第 5 8 番目 (Ser) ～第 9 4 番目 (Phe)、第 7 2 番目 (Asp) ～第 9 4 番目 (Phe)、第 7 5 番目 (Met) ～第 9 4 番目 (Phe)、第 8 3 番目 (Val) ～第 9 4 番目 (Phe) または第 8 4 番目 (Pro) ～第 9 4 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド、

(x) 配列番号：7 または 2 2 で表わされるアミノ酸配列の第 1 1 8 番目 (Phe) ～第 1 2 5 番目 (Phe)、第 1 1 9 番目 (Pro) ～第 1 2 5 番目 (Phe)、第 1 2 0 番目 (Ser) ～第 1 2 5 番目 (Phe) または第 1 2 1 番目 (Leu) ～第 1 2 5 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド、

(xi) 上記 (i) ～ (x) のペプチドのアミノ酸配列中の 1 ～ 5 個のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列からなるペプチド、

(xii) 上記 (i) ～ (x) のペプチドのアミノ酸配列に 1 ～ 5 個のアミノ酸が付加したアミノ酸配列からなるペプチド、

(xiii) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列に 1 ~ 5 個のアミノ酸が挿入されたアミノ酸配列からなるペプチド、

(xiv) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列中の 1 ~ 5 個のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列からなるペプチド、または

- 5 (xv) 上記 (xi) ~ (xiv) の欠失・付加・挿入・置換を組み合わせたアミノ酸配列からなるペプチド、

をコードする DNA である請求項 4 記載の剤。

7. 配列番号：1 で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードする DNA を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、
10 体温変化、白血球数変化、血小板数変化、自発行動量の変化または筋力変化の診断剤。

8. 配列番号：1 で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミド
15 もしくはそのエステルまたはその塩に対する抗体を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量の減少の予防・治療・改善剤。

9. 配列番号：1 で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミド
20 もしくはそのエステルまたはその塩に対する抗体を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温変化、白血球数変化、血小板数変化、自発行動量の変化、筋力変化の診断剤。

10. 配列番号：1 で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードする
25 DNA に相補的な塩基配列またはその一部を含有するアンチセンス DNA を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量の減少の予防・治療・改善剤。

11. 配列番号：1 で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドの発現量を増

加させる化合物またはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤。

12. 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一の
5 アミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドの発現量を減少させる化合物またはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量の減少の予防・治療・改善剤。

13. 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一
10 のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤。

14. OT7T022が配列番号：11または配列番号：24で表されるア
15 ミノ酸配列からなるレセプター蛋白質である請求項13記載の剤。

15. 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一
20 のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAを含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤。

16. DNAが配列番号：11または配列番号：24で表されるアミノ酸配
列からなるレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAである請求項15記載の剤。

17. 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一
25 のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAを含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温変化、白血球数変化、血小板数変化、自発行動量の変化または筋力変化の診断剤。

18. 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一

のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対する抗体を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量の減少の予防・治療・改善剤。

- 5 19. 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対する抗体を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温変化、白血球数変化、血小板数変化、自発行動量の変化または筋力変化の診断剤。
- 10 20. 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAに相補的な塩基配列またはその一部を含有するアンチセンスDNAを含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量の減少の予防・治療・改善剤。
- 15 21. 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対するアゴニストを含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤。
- 20 22. 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対するアンタゴニストを含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量の減少の予防・治療・改善剤。
- 25 23. 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドの発現量を増加させる化合物またはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤。

24. 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドの発現量を減少させる化合物またはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量の
- 5 減少の予防・治療・改善剤。
25. 哺乳動物に対して、
- (i) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩、
- 10 (ii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードするDNA、
- (iii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドの発現量を増
- 15 加させる化合物またはその塩、
- (iv) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩、
- (v) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一
- 20 のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNA、
- (vi) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対するアゴニスト、または
- 25 (vii) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドの発現量を増加させる化合物またはその塩の有効量を投与することを特徴とする筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・

治療・改善方法。

26. 哺乳動物に対して、

(i) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミ
5 ドもしくはそのエステルまたはその塩に対する抗体、

(ii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードするDNAに相補的な塩基配列またはその一部を含有するアンチセンスDNA、

(iii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一の
10 アミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドの発現量を減少させる化合物またはその塩、

(iv) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対する抗体、

(v) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一
15 のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAに相補的な塩基配列またはその一部を含有するアンチセンスDNA、

(vi) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一
20 のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対するアンタゴニスト、または

(vii) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一
25 のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドの発現量を減少させる化合物またはその塩の有効量を投与することを特徴とする筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量の減少の予防・治療・改善方法。

27. 筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤を製造するための

- (i) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩、
- (ii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードするDNA、
- 5 (iii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドの発現量を増加させる化合物またはその塩、
- 10 (iv) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩、
- (v) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNA、
- 15 (vi) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対するアゴニスト、または
- (vii) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドの発現量を増加させる化合物またはその塩の使用。
- 20
28. 筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量の減少の予防・治療・改善剤を製造するための
- (i) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩に対する抗体、
- 25 (ii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードするDNAに相補的な塩基配列またはその一部を含有するアンチセンスDNA、

(iii) 配列番号：1 で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドの発現量を減少させる化合物またはその塩、

5 (iv) 配列番号：11 で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対する抗体、

(v) 配列番号：11 で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAに相補的な塩基配列またはその一部を含有する
10 アンチセンスDNA、

(vi) 配列番号：1.1 で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対するアンタゴニスト、または

(vii) 配列番号：11 で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一
15 のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドの発現量を減少させる化合物またはその塩の使用。

29. OT7T022 遺伝子が不活性化された哺乳動物胚幹細胞。

30. 薬剤耐性である請求項29記載の胚幹細胞。

31. 薬剤がネオマイシンである請求項29記載の胚幹細胞。

20 32. レポーター遺伝子の挿入によりOT7T022 遺伝子が不活性化された請求項29記載の胚幹細胞。

33. レポーター遺伝子がlacZ 遺伝子である請求項32記載の胚幹細胞。

34. 哺乳動物がマウスである請求項29記載の胚幹細胞。

35. OT7T022 遺伝子が配列番号：12、配列番号：25、配列番号：26、配列番号：28または配列番号：32で表わされる塩基配列を含有する
25 遺伝子である請求項29記載の胚幹細胞。

36. OT7T022 遺伝子発現不全非ヒト哺乳動物。

37. レポーター遺伝子の挿入によりOT7T022 遺伝子が不活性化された請求項36記載の動物。

38. 非ヒト哺乳動物がマウスである請求項36記載の動物。

39. OT7T022遺伝子が配列番号：12、配列番号：28または配列番号：32で表わされる塩基配列を含有する遺伝子である請求項36記載の動物。

5 40. 野生型非ヒト哺乳動物に比べて、胸腺退縮遅延がみられる請求項36記載の動物。

41. 野生型非ヒト哺乳動物に比べて、後退歩行がみられる請求項36記載の動物。

42. 野生型非ヒト哺乳動物に比べて、侵害刺激に対して鈍麻がみられる請求項36記載の動物。

43. 野生型非ヒト哺乳動物に比べて、攻撃的行動が多い請求項36記載の動物。

44. 野生型非ヒト哺乳動物に比べて、腎臓絶対重量または胸腺絶対重量の低下がみられる請求項36記載の動物。

15 45. 野生型非ヒト哺乳動物に比べて、白血球数または血小板数の減少がみられる請求項36記載の動物。

46. 野生型非ヒト哺乳動物に比べて、筋力が低下している請求項36記載の動物。

47. 請求項36記載の動物もしくはその組織またはそれらに由来する細胞を用いることを特徴とする、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・治療・改善薬のスクリーニング方法。

25 48. 請求項36記載の動物もしくはその組織またはそれらに由来する細胞に試験化合物を投与することを特徴とする請求項47記載のスクリーニング方法。

49. 請求項36記載の動物と他の病態モデル動物との交配によって生じる

病態モデル動物。

50. 請求項36記載の動物に対する薬剤誘発またはストレス負荷によって生じる病態モデル動物。

5 51. 請求項49記載の動物に対する薬剤誘発またはストレス負荷によって生じる病体モデル動物。

52. 請求項49～51のいずれかに記載の動物もしくはその組織またはそれらに由来する細胞を用いることを特徴とする、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、
10 痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・治療・改善薬のスクリーニング方法。

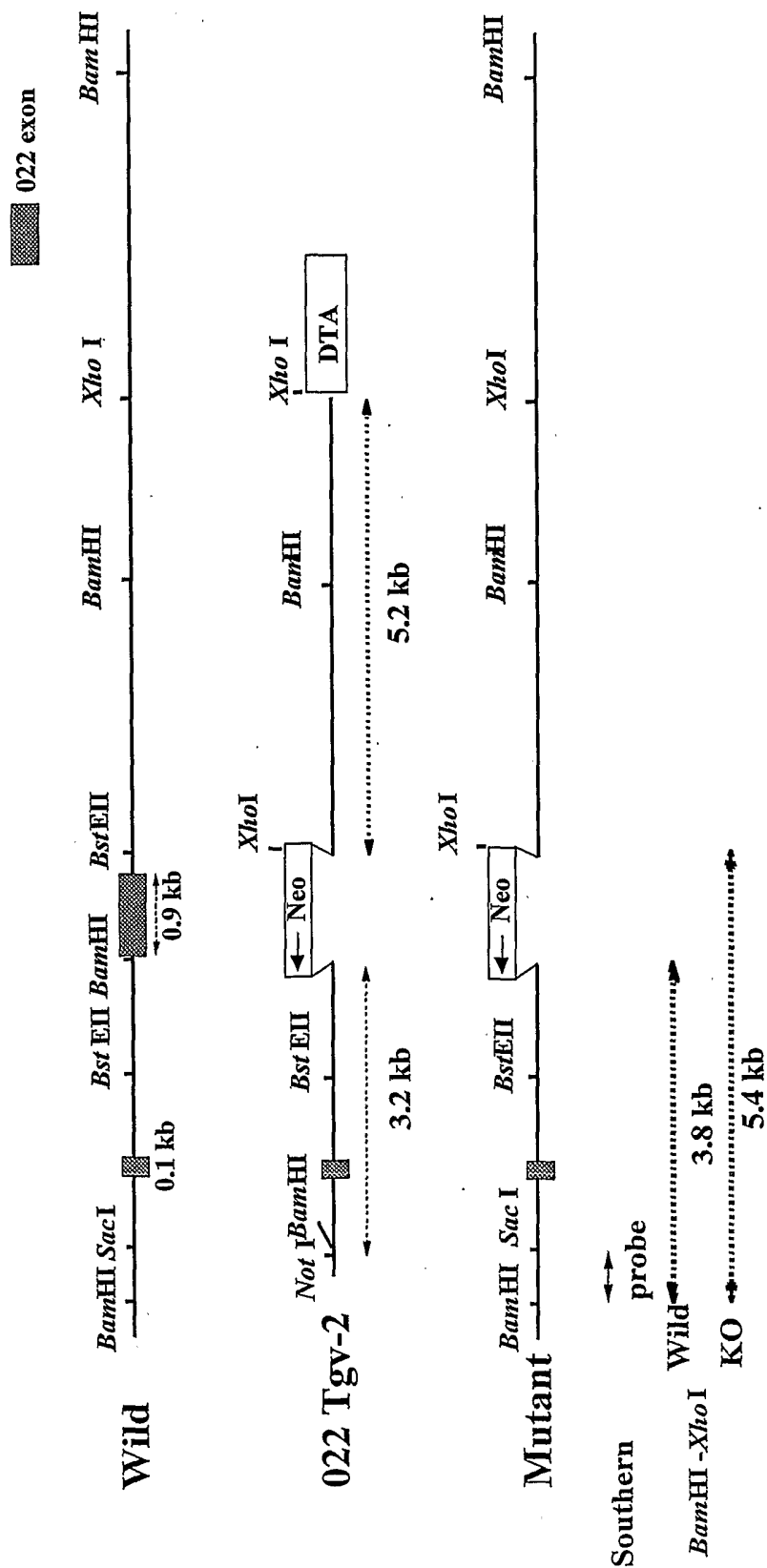
53. 請求項49～51のいずれかに記載の動物もしくはその組織またはそれらに由来する細胞に試験化合物を投与することを特徴とする、痛覚障害、
15 眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・治療・改善薬のスクリーニング方法。

20 54. 請求項37記載の動物に、試験化合物を投与し、レポーター遺伝子の発現を検出することを特徴とするOT7T022遺伝子に対するプロモーター活性を促進または阻害する化合物またはその塩のスクリーニング方法。

55. 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミ
25 ドもしくはそのエステルまたはその塩、および（または）配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩を用いることを特徴とする筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、

体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加、筋力低下、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量の減少の予防・治療・改善薬のスクリーニング方法。

- 5 6. 配列番号：1 で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩、および（または）配列番号：11 で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、
- 10 白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加、筋力低下、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量の減少の予防・治療・改善薬のスクリーニング用キット。



SEQUENCE LISTING

<110> Takeda Chemical Industries, Ltd.

<120> Novel Use of RFRP and OT7T022

<130> 3076W00P

<150> JP 2002-232684

<151> 2002-08-09

<160> 32

<210> 1

<211> 180

<212> PRT

<213> Human

<400> 1

Met Glu Ile Ile Ser Ser Lys Leu Phe Ile Leu Leu Thr Leu Ala Thr

1 5 10 15

Ser Ser Leu Leu Thr Ser Asn Ile Phe Cys Ala Asp Glu Leu Val Met

20 25 30

Ser Asn Leu His Ser Lys Glu Asn Tyr Asp Lys Tyr Ser Glu Pro Arg

35 40 45

Gly Tyr Pro Lys Gly Glu Arg Ser Leu Asn Phe Glu Glu Leu Lys Asp

50 55 60

Trp Gly Pro Lys Asn Val Ile Lys Met Ser Thr Pro Ala Val Asn Lys

65 70 75 80

Met Pro His Ser Phe Ala Asn Leu Pro Leu Arg Phe Gly Arg Asn Val

85 90 95

Gln Glu Glu Arg Ser Ala Gly Ala Thr Ala Asn Leu Pro Leu Arg Ser

100 105 110

Gly Arg Asn Met Glu Val Ser Leu Val Arg Arg Val Pro Asn Leu Pro

115 120 125

Gln Arg Phe Gly Arg Thr Thr Thr Ala Lys Ser Val Cys Arg Met Leu

130

135

140

Ser Asp Leu Cys Gln Gly Ser Met His Ser Pro Cys Ala Asn Asp Leu

145

150

155

160

Phe Tyr Ser Met Thr Cys Gln His Gln Glu Ile Gln Asn Pro Asp Gln

165

170

175

Lys Gln Ser Arg

180

<210> 2

<211> 540

<212> DNA

<213> Human

<400> 2

atggaaatta tttcatcaaa actattcatt ttattgactt tagccacttc aagcttgta	60
acatcaaaca ttttttgtgc agatgaatta gtgatgtcca atcttcacag caaagaaaat	120
tatgacaaat attctgagcc tagaggatac ccaaaagggg aaagaagcct caattttgag	180
gaattaaaag attggggacc aaaaaatgtt attaagatga gtacacctgc agtcaataaa	240
atgccacact ccttcgccaa cttgccattg agatttgga ggaacgttca agaagaaaga	300
agtgtggag caacagccaa cctgcctctg agatctgga agaaatatgga ggtgagcctc	360
gtgagacgtg ttcctaacct gcccacaaagg tttgggagaa caacaacagc caaaagtgtc	420
tgcaggatgc tgagtgattt gtgtcaagga tccatgcatt caccatgtgc caatgactta	480
ttttactcca tgacctgcca gcaccaagaa atccagaatc ccgatcaaaa acagtcaagg	540

<210> 3

<211> 196

<212> PRT

<213> Human

<400> 3

Met Glu Ile Ile Ser Ser Lys Leu Phe Ile Leu Leu Thr Leu Ala Thr

3/45

1 5 10 15
 Ser Ser Leu Leu Thr Ser Asn Ile Phe Cys Ala Asp Glu Leu Val Met
 20 25 30
 Ser Asn Leu His Ser Lys Glu Asn Tyr Asp Lys Tyr Ser Glu Pro Arg
 35 40 45
 Gly Tyr Pro Lys Gly Glu Arg Ser Leu Asn Phe Glu Glu Leu Lys Asp
 50 55 60
 Trp Gly Pro Lys Asn Val Ile Lys Met Ser Thr Pro Ala Val Asn Lys
 65 70 75 80
 Met Pro His Ser Phe Ala Asn Leu Pro Leu Arg Phe Gly Arg Asn Val
 85 90 95
 Gln Glu Glu Arg Ser Ala Gly Ala Thr Ala Asn Leu Pro Leu Arg Ser
 100 105 110
 Gly Arg Asn Met Glu Val Ser Leu Val Arg Arg Val Pro Asn Leu Pro
 115 120 125
 Gln Arg Phe Gly Arg Thr Thr Thr Ala Lys Ser Val Cys Arg Met Leu
 130 135 140
 Ser Asp Leu Cys Gln Gly Ser Met His Ser Pro Cys Ala Asn Asp Leu
 145 150 155 160
 Phe Tyr Ser Met Thr Cys Gln His Gln Glu Ile Gln Asn Pro Asp Gln
 165 170 175
 Lys Gln Ser Arg Arg Leu Leu Phe Lys Lys Ile Asp Asp Ala Glu Leu
 180 185 190
 Lys Gln Glu Lys
 195
 <210> 4
 <211> 588
 <212> DNA

<213> Human

<400> 4

```

atggaaatta tttcatcaaa actattcatt ttattgactt tagccacttc aagcttggtta      60
acatcaaaca ttttttgtgc agatgaatta gtgatgtcca atcttcacag caaagaaaat      120
tatgacaaat attctgagcc tagaggatac ccaaaagggg aaagaagcct caattttgag      180
gaattaaaag attggggacc aaaaaatggtt attaagatga gtacacctgc agtcaataaa      240
atgccacact ccttcgccaa cttgccattg agatttgga ggaacgttca agaagaaaga      300
agtgtctggag caacagccaa cctgcctctg agatctggaa gaaatatgga ggtgagcctc      360
gtgagacgtg ttcctaacct gcccacaaagg tttgggagaa caacaacagc caaaagtgtc      420
tgcaggatgc tgagtgattt gtgtcaagga tccatgcatt caccatgtgc caatgactta      480
ttttactcca tgacctgcca gcaccaagaa atccagaatc cccgatcaaaa acagtcaagg      540
agactgctat tcaagaaaaat agatgatgca gaattgaaac aagaaaaa      588

```

<210> 5

<211> 196

<212> PRT

<213> Bovine

<400> 5

```

Met Glu Ile Ile Ser Leu Lys Arg Phe Ile Leu Leu Met Leu Ala Thr
  1             5             10             15
Ser Ser Leu Leu Thr Ser Asn Ile Phe Cys Thr Asp Glu Ser Arg Met
          20             25             30
Pro Asn Leu Tyr Ser Lys Lys Asn Tyr Asp Lys Tyr Ser Glu Pro Arg
          35             40             45
Gly Asp Leu Gly Trp Glu Lys Glu Arg Ser Leu Thr Phe Glu Glu Val
          50             55             60
Lys Asp Trp Ala Pro Lys Ile Lys Met Asn Lys Pro Val Val Asn Lys
          65             70             75             80
Met Pro Pro Ser Ala Ala Asn Leu Pro Leu Arg Phe Gly Arg Asn Met

```

	85	90	95
Glu Glu Glu Arg Ser Thr Arg Ala Met Ala His Leu Pro Leu Arg Leu			
100	105	110	
Gly Lys Asn Arg Glu Asp Ser Leu Ser Arg Trp Val Pro Asn Leu Pro			
115	120	125	
Gln Arg Phe Gly Arg Thr Thr Thr Ala Lys Ser Ile Thr Lys Thr Leu			
130	135	140	
Ser Asn Leu Leu Gln Gln Ser Met His Ser Pro Ser Thr Asn Gly Leu			
145	150	155	160
Leu Tyr Ser Met Ala Cys Gln Pro Gln Glu Ile Gln Asn Pro Gly Gln			
165	170	175	
Lys Asn Leu Arg Arg Arg Gly Phe Gln Lys Ile Asp Asp Ala Glu Leu			
180	185	190	
Lys Gln Glu Lys			
195			

<210> 6

<211> 588

<212> DNA

<213> Bovine

<400> 6

atggaaatta tttcattaaa acgattcatt ttattgatgt tagccacttc aagcttgta	60
acatcaaaca tcttctgcac agacgaatca aggatgccca atctttacag caaaaagaat	120
tatgacaaat attccgagcc tagaggagat ctaggctggg agaaagaaag aagtcttact	180
tttgaagaag taaaagattg ggctccaaaa attaagatga ataaacctgt agtcaacaaa	240
atgccacctt ctgcagccaa cctgccactg agatttgga ggaacatgga agaagaaagg	300
agcactaggg cgatggccca cctgcctctg agactcggaa aaaatagaga ggacagcctc	360
tccagatggg tcccaaattc gcccagagg tttggaagaa caacaacagc caaaagcatt	420
accaagaccc tgagtaattt gctccagcag tccatgcatt caccatctac caatgggcta	480

ctctactcca tggcctgcca gcccgaagaa atccagaatc ctggtcaaaa gaacctaagg 540
 agacggggat tccagaaaat agatgatgca gaattgaaac aagaaaaa 588

<210> 7

<211> 203

<212> PRT

<213> Rat

<400> 7

Met Glu Ile Ile Ser Ser Lys Arg Phe Ile Leu Leu Thr Leu Ala Thr

1 5 10 15

Ser Ser Phe Leu Thr Ser Asn Thr Leu Cys Ser Asp Glu Leu Met Met

20 25 30

Pro His Phe His Ser Lys Glu Gly Tyr Gly Lys Tyr Tyr Gln Leu Arg

35 40 45

Gly Ile Pro Lys Gly Val Lys Glu Arg Ser Val Thr Phe Gln Glu Leu

50 55 60

Lys Asp Trp Gly Ala Lys Lys Asp Ile Lys Met Ser Pro Ala Pro Ala

65 70 75 80

Asn Lys Val Pro His Ser Ala Ala Asn Leu Pro Leu Arg Phe Gly Arg

85 90 95

Asn Ile Glu Asp Arg Arg Ser Pro Arg Ala Arg Ala Asn Met Glu Ala

100 105 110

Gly Thr Met Ser His Phe Pro Ser Leu Pro Gln Arg Phe Gly Arg Thr

115 120 125

Thr Ala Arg Arg Ile Thr Lys Thr Leu Ala Gly Leu Pro Gln Lys Ser

130 135 140

Leu His Ser Leu Ala Ser Ser Glu Ser Leu Tyr Ala Met Thr Arg Gln

145 150 155 160

His Gln Glu Ile Gln Ser Pro Gly Gln Glu Gln Pro Arg Lys Arg Val

165 170 175
 Phe Thr Glu Thr Asp Asp Ala Glu Arg Lys Gln Glu Lys Ile Gly Asn
 180 185 190
 Leu Gln Pro Val Leu Gln Gly Ala Met Lys Leu
 195 200
 <210> 8
 <211> 609
 <212> DNA
 <213> Rat
 <400> 8
 atggaaatta tttcatcaaa gcgattcatt ttattgactt tagcaacttc aagcttctta 60
 acttcaaaca ccctttgttc agatgaatta atgatgcccc attttcacag caaagaaggt 120
 tatggaaaat attaccagct gagaggaatc ccaaaagggg taaaggaaag aagtgtcact 180
 tttcaagaac tcaaagattg gggggcaaag aaagatatta agatgagtcc agcccctgcc 240
 aacaaagtgc ccactcagc agccaacctt cccctgaggt ttgggaggaa catagaagac 300
 agaagaagcc ccagggcacg ggccaacatg gaggcaggga ccatgagcca ttttcccagc 360
 ctgccccaaa ggtttgggag aacaacagcc agacgcatca ccaagacact ggctggtttg 420
 ccccgaaaat ccctgcactc cctggcctcc agtgaatcgc tctatgccat gaccgcccag 480
 catcaagaaa ttcagagtcc tggtaagag caacctagga aacgggtgtt cacggaaaca 540
 gatgatgcag aaaggaaaca agaaaaata ggaaacctcc agccagtcct tcaaggggct 600
 atgaagctg 609
 <210> 9
 <211> 188
 <212> PRT
 <213> Mouse
 <400> 9
 Met Glu Ile Ile Ser Leu Lys Arg Phe Ile Leu Leu Thr Val Ala Thr
 1 5 10 15

Ser Ser Phe Leu Thr Ser Asn Thr Phe Cys Thr Asp Glu Phe Met Met

20

25

30

Pro His Phe His Ser Lys Glu Gly Asp Gly Lys Tyr Ser Gln Leu Arg

35

40

45

Gly Ile Pro Lys Gly Glu Lys Glu Arg Ser Val Ser Phe Gln Glu Leu

50

55

60

Lys Asp Trp Gly Ala Lys Asn Val Ile Lys Met Ser Pro Ala Pro Ala

65

70

75

80

Asn Lys Val Pro His Ser Ala Ala Asn Leu Pro Leu Arg Phe Gly Arg

85

90

95

Thr Ile Asp Glu Lys Arg Ser Pro Ala Ala Arg Val Asn Met Glu Ala

100

105

110

Gly Thr Arg Ser His Phe Pro Ser Leu Pro Gln Arg Phe Gly Arg Thr

115

120

125

Thr Ala Arg Ser Pro Lys Thr Pro Ala Asp Leu Pro Gln Lys Pro Leu

130

135

140

His Ser Leu Gly Ser Ser Glu Leu Leu Tyr Val Met Ile Cys Gln His

145

150

155

160

Gln Glu Ile Gln Ser Pro Gly Gly Lys Arg Thr Arg Arg Gly Ala Phe

165

170

175

Val Glu Thr Asp Asp Ala Glu Arg Lys Pro Glu Lys

180

185

<210> 10

<211> 564

<212> DNA

<213> Mouse

<400> 10

atggaaatta tttcattaaa acgattcatt ttattgactg tggcaacttc aagcttctta 60

```

acatcaaaca ctttctgtac agatgagttc atgatgcctc attttcacag caaagaaggt 120
gacggaaaat actcccagct gagaggaatc ccaaaagggg aaaaggaaag aagtgtcagt 180
tttcaagaac taaaagattg gggggcaaag aatgttatta agatgagtcc agcccctgcc 240
aacaaagtgc ccactcagc agccaacctg cccctgagat ttggaaggac catagatgag 300
aaaagaagcc cgcagcacg ggtcaacatg gaggcaggga ccaggagcca tttccccagc 360
ctgccccaaa ggtttgggag aacaacagcc agaagcccca agacacccgc tgatttgcca 420
cagaaacccc tgcactcact gggctccagc gagttgctct acgtcatgat ctgccagcac 480
caagaaattc agagtcctgg tggaaagcga acgaggagag gagcgtttgt ggaaacagat 540
gatgcagaaa ggaaaccaga aaaa 564

```

<210> 11

<211> 432

<212> PRT

<213> Rat

<400> 11

```

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

```

Asn Ala Thr Cys Lys Met Ser Gly Leu Val Gln Gly Met Ser Val Ser
115 120 125

Ala Ser Val Phe Thr Leu Val Ala Ile Ala Val Glu Arg Phe Arg Cys
130 135 140

Ile Val His Pro Phe Arg Glu Lys Leu Thr Leu Arg Lys Ala Leu Phe
145 150 155 160

Thr Ile Ala Val Ile Trp Ala Leu Ala Leu Leu Ile Met Cys Pro Ser
165 170 175

Ala Val Thr Leu Thr Val Thr Arg Glu Glu His His Phe Met Leu Asp
180 185 190

Ala Arg Asn Arg Ser Tyr Pro Leu Tyr Ser Cys Trp Glu Ala Trp Pro
195 200 205

Glu Lys Gly Met Arg Lys Val Tyr Thr Ala Val Leu Phe Ala His Ile
210 215 220

Tyr Leu Val Pro Leu Ala Leu Ile Val Val Met Tyr Val Arg Ile Ala
225 230 235 240

Arg Lys Leu Cys Gln Ala Pro Gly Pro Ala Arg Asp Thr Glu Glu Ala
245 250 255

Val Ala Glu Gly Gly Arg Thr Ser Arg Arg Arg Ala Arg Val Val His
260 265 270

Met Leu Val Met Val Ala Leu Phe Phe Thr Leu Ser Trp Leu Pro Leu
275 280 285

Trp Val Leu Leu Leu Leu Ile Asp Tyr Gly Glu Leu Ser Glu Leu Gln
290 295 300

Leu His Leu Leu Ser Val Tyr Ala Phe Pro Leu Ala His Trp Leu Ala
305 310 315 320

Phe Phe His Ser Ser Ala Asn Pro Ile Ile Tyr Gly Tyr Phe Asn Glu
325 330 335

Asn Phe Arg Arg Gly Phe Gln Ala Ala Phe Arg Ala Gln Leu Cys Trp

340 345 350

Pro Pro Trp Ala Ala His Lys Gln Ala Tyr Ser Glu Arg Pro Asn Arg

355 360 365

Leu Leu Arg Arg Arg Val Val Val Asp Val Gln Pro Ser Asp Ser Gly

370 375 380

Leu Pro Ser Glu Ser Gly Pro Ser Ser Gly Val Pro Gly Pro Gly Arg

385 390 395 400

Leu Pro Leu Arg Asn Gly Arg Val Ala His Gln Asp Gly Pro Gly Glu

405 410 415

Gly Pro Gly Cys Asn His Met Pro Leu Thr Ile Pro Ala Trp Asn Ile

420 425 430

<210> 12

<211> 1296

<212> DNA

<213> Rat

<400> 12

atggaggcgg agccctccca gcctcccaac ggcagctggc ccctgggtca gaacgggagt	60
gatgtggaga ccagcatggc aaccagcctc accttctcct cctactacca acactcctct	120
ccggtggcag ccatgttcat cgcggcctac gtgctcatct tctcctctg catgggtgggc	180
aacaccctgg tctgcttcat tgtgctcaag aaccggcaca tgcgcactgt caccaacatg	240
tttatcctca acctggccgt cagcgacctg ctggtgggca tcttctgcat gcccacaacc	300
cttgtggaca accttatcac tggttggcct ttgacaacg ccacatgcaa gatgagcggc	360
ttggtgcagg gcatgtccgt gtctgcatcg gttttcacac tgggtggccat cgctgtggaa	420
aggttccgct gcatcgtgca cccittccgc gagaagctga cccttcggaa ggcgctgttc	480
accatcgagg tgatctgggc tctggcgctg ctcatcatgt gtccctcggc ggtcactctg	540
acagtcaccc gagaggagca tcacttcatg ctggatgctc gtaaccgctc ctaccgctc	600
tactcgtgct gggaggcctg gcccgagaag ggcatgcgca aggtctacac cgcggtgctc	660

ttccgcgacaca tctacctggt gccgctggcg ctcatcgtag tgatgtacgt gcgcatcgcg 720
 cgcaagctat gccaggcccc cggctcctgcg cgcgacacgg aggaggcggt ggccgagggt 780
 ggccgcactt cgcgccgtag ggcccgcgtg gtgcacatgc tggatcatggt ggcgctcttc 840
 ttcacgttgt cctggctgcc actctgggtg ctgctgctgc tcatcgacta tggggagctg 900
 agcgagctgc aactgcacct gctgtcggtc tacgccttcc ccttggcaca ctggctggcc 960
 ttcttccaca gcagcgccaa ccccatcatc tacggctact tcaacgagaa cttccgccgc 1020
 ggcttccagg ctgccttccg tgcacagctc tgctggcctc cctggggccgc ccacaagcaa 1080
 gcctactcgg agcggcccaa ccgcctcctg cgcaggcggg tggatggtgga cgtgcaaccc 1140
 agcgactccg gcctgccatc agagtctggc cccagcagcg ggggtcccagg gcctggccgg 1200
 ctgccactgc gcaatgggag tgtggcccat caggatggcc cgggggaagg gccaggctgc 1260
 aaccacatgc cctcaccat cccggcctgg aacatt 1296

<210> 13

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> the C-terminus of the polypeptide is amide ($-\text{CONH}_2$) form

<400> 13

Met Pro His Ser Phe Ala Asn Leu Pro Leu Arg Phe

1

5

10

<210> 14

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> the C-terminus of the polypeptide is amide ($-\text{CONH}_2$) form

<400> 14

Val Pro Asn Leu Pro Gln Arg Phe

1 5
<210> 15
<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> the C-terminus of the polypeptide is amide (-CONH₂) form
<400> 15

Ser Ala Gly Ala Thr Ala Asn Leu Pro Leu Arg Ser

1 5 10
<210> 16
<211> 36
<212> DNA
<213> Human
<400> 16
atgccacact ccttcgccaa cttgccattg agattt 36
<210> 17
<211> 36
<212> DNA
<213> Human
<400> 17
agtgtctggag caacagccaa cctgcctctg agatct 36
<210> 18
<211> 24
<212> DNA
<213> Human
<400> 18
gttcttaacc tgccccaaag gttt 24

<210> 19

<211> 276

<212> DNA

<213> Human

<400> 19

```
atggaaatta tttcatcaaa actattcatt ttattgactt tagccacttc aagcttggtta      60
acatcaaaca ttttttgtgc agatgaatta gtgatgtcca atcttcacag caaagaaaat      120
tatgacaaat attctgagcc tagaggatac ccaaagggg aaagaagcct caattttgag      180
gaattaaaag attggggacc aaaaaatggtt attaagatga gtacacctgc agtcaataaa      240
atgccacact ccttcgccaa cttgccattg agattt                                     276
```

<210> 20

<211> 336

<212> DNA

<213> Human

<400> 20

```
atggaaatta tttcatcaaa actattcatt ttattgactt tagccacttc aagcttggtta      60
acatcaaaca ttttttgtgc agatgaatta gtgatgtcca atcttcacag caaagaaaat      120
tatgacaaat attctgagcc tagaggatac ccaaagggg aaagaagcct caattttgag      180
gaattaaaag attggggacc aaaaaatggtt attaagatga gtacacctgc agtcaataaa      240
atgccacact ccttcgccaa cttgccattg agatttggga ggaacgttca agaagaaaga      300
agtgctggag caacagccaa cctgcctctg agatct                                     336
```

<210> 21

<211> 393

<212> DNA

<213> Human

<400> 21

```
atggaaatta tttcatcaaa actattcatt ttattgactt tagccacttc aagcttggtta      60
acatcaaaca ttttttgtgc agatgaatta gtgatgtcca atcttcacag caaagaaaat      120
```

tatgacaaat attctgagcc tagaggatac ccaaaagggg aaagaagcct caattttgag 180
gaattaaaag attggggacc aaaaaatgtt attaagatga gtacacctgc agtcaataaa 240
atgccacact ccttcgccaa cttgccattg agatttggga ggaacgttca agaagaaaga 300
agtgcctggag caacagccaa cctgcctctg agatctgga agaaatatgga ggtgagcctc 360
gtgagacgtg ttccctaacct gcccctaaagg ttt 393

<210> 22

<211> 203

<212> PRT

<213> Rat

<400> 22

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

Leu His Ser Leu Ala Ser Ser Glu Leu Leu Tyr Ala Met Thr Arg Gln
 145 150 155 160
 His Gln Glu Ile Gln Ser Pro Gly Gln Glu Gln Pro Arg Lys Arg Val
 165 170 175
 Phe Thr Glu Thr Asp Asp Ala Glu Arg Lys Gln Glu Lys Ile Gly Asn
 180 185 190
 Leu Gln Pro Val Leu Gln Gly Ala Met Lys Leu
 195 200

<210> 23

<211> 609

<212> DNA

<213> Rat

<400> 23

```

atggaaatta tttcatcaaa gcgattcatt ttattgactt tagcaacttc aagcttctta    60
acttcaaaca ccctttgttc agatgaatta atgatgcccc attttcacag caaagaaggt    120
tatggaaaat attaccagct gagaggaatc caaaaagggg taaaggaaag aagtgtcact    180
tttcaagaac tcaaagattg gggggcaaag aaagatatta agatgagtcc agcccctgcc    240
aacaagtgcc ccactcagc agccaacctt cccctgaggt ttgggaggaa catagaagac    300
agaagaagcc ccagggcacg ggccaacatg gaggcaggga ccatgagcca ttttcccagc    360
ctgccccaaa ggtttgggag aacaacagcc agacgcatca ccaagacact ggctggtttg    420
ccccagaaat ccctgcactc cctggcctcc agtgaattgc tctatgcat gaccgcccag    480
catcaagaaa ttcagagtcc tggtaagag caacctagga aacgggtgtt cacggaaaca    540
gatgatgcag aaaggaaaca agaaaaaata ggaaacctcc agccagtcct tcaaggggct    600
atgaagctg                                     609
  
```

<210> 24

<211> 430

<212> PRT

<213> Human

<400> 24

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

210 215 220
Tyr Leu Ala Pro Leu Ala Leu Ile Val Val Met Tyr Ala Arg Ile Ala
225 230 235 240
Arg Lys Leu Cys Gln Ala Pro Gly Pro Ala Pro Gly Gly Glu Glu Ala
245 250 255
Ala Asp Pro Arg Ala Ser Arg Arg Arg Ala Arg Val Val His Met Leu
260 265 270
Val Met Val Ala Leu Phe Phe Thr Leu Ser Trp Leu Pro Leu Trp Ala
275 280 285
Leu Leu Leu Leu Ile Asp Tyr Gly Gln Leu Ser Ala Pro Gln Leu His
290 295 300
Leu Val Thr Val Tyr Ala Phe Pro Phe Ala His Trp Leu Ala Phe Phe
305 310 315 320
Asn Ser Ser Ala Asn Pro Ile Ile Tyr Gly Tyr Phe Asn Glu Asn Phe
325 330 335
Arg Arg Gly Phe Gln Ala Ala Phe Arg Ala Arg Leu Cys Pro Arg Pro
340 345 350
Ser Gly Ser His Lys Glu Ala Tyr Ser Glu Arg Pro Gly Gly Leu Leu
355 360 365
His Arg Arg Val Phe Val Val Val Arg Pro Ser Asp Ser Gly Leu Pro
370 375 380
Ser Glu Ser Gly Pro Ser Ser Gly Ala Pro Arg Pro Gly Arg Leu Pro
385 390 395 400
Leu Arg Asn Gly Arg Val Ala His His Gly Leu Pro Arg Glu Gly Pro
405 410 415
Gly Cys Ser His Leu Pro Leu Thr Ile Pro Ala Trp Asp Ile
420 425 430

<210> 25

<211> 1290

<212> DNA

<213> Human

<400> 25

```
atggagggggg agccctccca gcctcccaac agcagttggc ccctaagtca gaatgggact      60
aacactgagg ccaccccggc tacaacctc accttctcct cctactatca gcacacctcc      120
cctgtggcgg ccatgttcat tgtggcctat gcgctcatct tcctgctctg catgggtgggc      180
aacaccctgg tctgtttcat cgtgctcaag aaccggcaca tgcatactgt caccaacatg      240
ttcatcctca acctggctgt cagtgaacctg ctgggtgggca tcttctgcat gccaccacc      300
cttgtggaca acctcatcac tgggtggccc ttcgacaatg ccacatgcaa gatgagcggc      360
ttggtgcagg gcatgtctgt gtcggcttcc gttttcacac tgggtggccat tgctgtggaa      420
aggttccgct gcatcgtgca ccccttccgc gagaagctga ccctgcggaa ggcgctcgtc      480
accatcgccg tcactctgggc cctggcgctg ctcatcatgt gtccctcggc cgtcacgctg      540
accgtcaccg gtgaggagca ccacttcatg gtggacgccc gcaaccgctc ctaccctctc      600
tactcctgct gggaggcctg gcccgagaag ggcatgcgca gggctctacac cactgtgctc      660
ttctcgcaca tctacctggc gccgctggcg ctcatcgtgg tcatgtacgc ccgcatcgcg      720
cgcaagctct gccaggcccc gggcccggcc cccggggggcg aggaggctgc ggaccgcga      780
gcatcgcggc gcagagcgcg cgtgggtgac atgctgggtca tgggtggcgct gttcttcacg      840
ctgtcctggc tgccgctctg ggcgctgctg ctgctcatcg actacgggca gctcagcgcg      900
ccgcagctgc acctggtcac cgtctacgcc ttccccttcg cgcactggct ggccttcttc      960
aacagcagcg ccaaccccat catctacggc tacttcaacg agaacttcg ccgcggcttc      1020
caggccgcct tccgcgccc cctctgccc cgcccgctcg ggagccacaa ggaggcctac      1080
tccgagcggc ccggcgggct tctgcacagg cgggtcttcg tgggtggtgcg gccagcgac      1140
tccgggctgc cctctgagtc gggccctagc agtggggccc ccaggcccg cgcctcccg      1200
ctgcggaatg ggcgggtggc tcaccacggc ttgccaggg aagggcctgg ctgctccac      1260
ctgcccctca ccattccagc ctgggatatc                                     1290
```

<210> 26

<211> 1290

<212> DNA

<213> Human

<400> 26

```
atggagggggg agccctccca gcctcccaac agcagttggc ccctaagtca gaatgggact      60
aacactgagg ccaccccggc taaaacctc accttctcct cctactatca gcacacctcc      120
cctgtggcgg ccatgttcat tgtggcctat gcgctcatct tcctgtcttg catgggtggc      180
aacaccctgg tctgtttcat cgtgctcaag aaccggcaca tgcatactgt caccaacatg      240
ttcatcctca acctggctgt cagtgaacct ctgggtgggca tcttctgcat gcccaccacc      300
cttgtggaca acctcatcac tgggtggccc ttcgacaatg ccacatgcaa gatgagcggc      360
ttggtgcagg gcatgtctgt gtcggcttcc gttttcacac tgggtggccat tgctgtggaa      420
aggttccgct gcatcgtgca ccctttccgc gagaagctga ccctgcggaa ggcgctcgtc      480
accatcgccg tcctctgggc cctggcgctg ctcatcatgt gtccctcggc cgtcacgctg      540
accgtcaccg gtgaggagca ccaattcatg gtggacgccc gcaaccgctc ctaccgctc      600
tactcctgct gggaggcctg gcccgagaag ggcatgcgca gggctctacac cactgtgctc      660
ttctgcaca tctacctggc gccgctggcg ctcatcgtgg tcatgtacgc ccgcatcgcg      720
cgcaagctct gccaggcccc gggcccggcc cccgggggcg aggaggctgc ggaccgcga      780
gcatcgcggc gcagagcgcg cgtggtgcac atgctgggtca tgggtggcgct gttcttcacg      840
ctgtcctggc tgccgctctg ggcgctgctg ctgctcatcg actacgggca gctcagcgcg      900
ccgcagctgc acctggtcac cgtctacgcc ttccccctcg cgcactggct ggccttcttc      960
aacagcagcg ccaaccccat catctacggc tacttcaacg agaacttccg ccgcggcttc     1020
caggccgcct tccgcgcccc cctctgcccc cgcccgctcg ggagccacaa ggaggcctac     1080
tccgagcggc ccggcgggct tctgcacagg cgggtcttcg tgggtggtgcg gccagcgac     1140
tccgggctgc cctctgagtc gggccctagc agtggggccc ccaggcccgg ccgcctcccc     1200
ctgcggaatg ggcgggtggc tcaccacggc ttgccaggg aagggcctgg ctgctccac     1260
ctgcccctca ccattccagc ctgggatata                                     1290
```

<210> 27

<211> 430

<212> PRT

<213> Mouse

<220>

<400> 27

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

195 200 205
Gly Met Arg Lys Val Tyr Thr Ala Val Leu Phe Ala His Ile Tyr Leu
210 215 220
Ala Pro Leu Ala Leu Ile Val Val Met Tyr Ala Arg Ile Ala Arg Lys
225 230 235 240
Leu Cys Gln Ala Pro Gly Pro Ala Arg Asp Ala Glu Glu Ala Val Ala
245 250 255
Glu Gly Gly Arg Ala Ser Arg Arg Arg Ala Arg Val Val His Met Leu
260 265 270
Val Met Val Ala Leu Phe Phe Thr Leu Ser Trp Leu Pro Leu Trp Val
275 280 285
Leu Leu Leu Leu Ile Asp Tyr Gly Glu Leu Ser Glu Leu Gln Leu His
290 295 300
Leu Leu Ser Val Tyr Ala Phe Pro Leu Ala His Trp Leu Ala Phe Phe
305 310 315 320
His Ser Ser Ala Asn Pro Ile Ile Tyr Gly Tyr Phe Asn Glu Asn Phe
325 330 335
Arg Arg Gly Phe Gln Ala Ala Phe Arg Ala Gln Leu Cys Trp Leu Pro
340 345 350
Trp Ala Ala His Lys Gln Ala Tyr Ser Glu Arg Pro Gly Arg Leu Leu
355 360 365
Arg Arg Arg Val Val Val Asp Val Gln Pro Ser Asp Ser Gly Leu Pro
370 375 380
Ser Glu Ser Gly Pro Ser Ser Gly Val Pro Gly Pro Asn Arg Leu Pro
385 390 395 400
Leu Arg Asn Gly Arg Val Ala His Gln Asp Gly Pro Arg Glu Gly Pro
405 410 415
Gly Cys Asn His Met Pro Leu Thr Ile Pro Ala Trp Asn Ile

	420	425	430
<210>	28		
<211>	16984		
<212>	DNA		
<213>	Mouse		
<220>			
<221>	CDS		
<222>	(4706).. (5021)		
<220>			
<221>	CDS		
<222>	(14061).. (14160)		
<220>			
<221>	CDS		
<222>	(15476).. (16349)		
<400>	28		
	caagttgccg ggcttgggag gtggggaaga gacaggggag tggcagtgag tgaggtggga	60	
	gggagtggtg tttctttatt taaacgtgca cttgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg	120	
	tgtgtgtgat gtatatgtgt gtggagacgt gattaggata tgagtgaaga tcagagggca	180	
	gtctgtgtgt gggagtgagg tctctcctcc taccacgtag gtcccaggga tcaaaactcg	240	
	gtcatcaggc ttggtagaag gcatcttacc tgctgagcca tctcgatgac ctggtttggc	300	
	ttggcggaaa ggtctcatgt agttcaggtt ggcctcaaac tcagtatgtc accaagaatg	360	
	accttaaacc tctcatcctt ctgcctctgg agttctaggg gtatgggtgt accctagccc	420	
	ttggcttgca tgggtgctggg gttggagcct gtggccttgt ggatgttaag tcaagtcct	480	
	atcagctgag ccccatctct agctcctgga ctgtgagtta aaaaaaaaaa aagtagaaga	540	
	ctatttaaaa aaaaaaagat gcaaaactat ttttcagtga aaaggaatgt cggctgacac	600	
	tcgcttcaga gcaactgagg aggaaagtca atggatgctg caggtggaca gacttcccgt	660	
	gggagtcctt tttaccattc catttctcat gggtcattaa actttatact tctgcatgtg	720	
	ttcgccaaaa taatctctct tgtacgtgcc cggatatata tatatattat tctattaaag	780	

gtgtttgaat gctgttggag ctcttgaaag gcctgtgtgt gggggagtag catcatctct 840
cagctccttc tctatcagta gacccctcat cccgccacac cctcctacag ccccccactgg 900
ctcctgcagc ccctaatagcc gctagtgcag tagcctgctg ccccaggtgt ctgtctccag 960
ccctcctgtg tgtgcactgc gcctcgtcgc ctcatcttggc ttgcatgggtg ctgggggttg 1020
agcctgtggc tttgtggatg ttaagtcaag ctccatcag ctgagcccca tctctagctc 1080
ctggactgtg agttaaaaa aaaaaagta gaagactatt taaaaaaaa aagatgcaaa 1140
actatcttctc agtgaaaagg aatgtcggct gacactcgtc tcagagcaac tgaggaggaa 1200
agtcaatgga tgctgcaggt ggacagactt cccgtgggag tcttttttac cattccattt 1260
ctcatgggtc attaaacttt atacttctgc atgtgttcgc caaaataatc tctcttgtag 1320
gtgcccggat atatatatat attattctat taaaggtgtt tgaatgctgt tggagctctt 1380
gaaaggcctg tgtgtggggg agtaccatca tctctcagct ccttctctat cagtagaccc 1440
ctcateccgc cacaccctcc tacagccccc actggctcct gcagcccta tgccgctagt 1500
gcagtagcct gctgccccag gtgtctgtct ccagccctcc tgtgtgtgca ctgcgcctcg 1560
ctcgtcctata gccagtggct gagcgttggg ctccacagaa agactcccca gggccacttc 1620
atcctccaga atgggccccca tccagcccca gaggaagac atgaggggaa cttttaagac 1680
aacaccatga ctcaccaccg ctaatgactt cccagaagag ttatgattgg aacttgactt 1740
gctccctccg aaagaagact agggaaacac aactcagcc tgctgctaat gagaaacatg 1800
tggaacagggc acttcccata gatactgcag gggcaggtaa acccagattg gtattcctgc 1860
cagcaggggg tgcaaagaga aagaataggt tgctatgggt gcttgggagt tctagaagca 1920
tgggctagag tgtcttgctt tgtttttctt tcttttctt tcttttctt tcttttctt 1980
ctttctctct tctgtctttt aaaacttatt tatttaaatgt atgtgagtag actgtagctg 2040
tacccttcat gtggttggtt ggaattgaat tttaggacct ctgctcactc cagtcagccc 2100
tgctcgtcga ggaccaaaga tttatttatt attatacata agtacactgt agctgacttc 2160
agacacacca ggagagggcg tcagatctca ttatgggttg ttgtgagcca ccatgtggtt 2220
gctgggactt gaactcagga cctctgggag agcagtcagt gctcttaccg gctgagccat 2280
ctgccagcc ccttgettca tttttctatt gctataacaa atatccaaga ttgagtagtt 2340
tataagaagt ccaaagcat ggcccttctg ttcagggcct gtttcttgca ttctaactg 2400
gtgagggcat cgtgtggcca actagaacaa gcacgtggcc tggcagagag gcctcggcca 2460

tcgagtgcac ttgctctttg tggatgatgga agtgggtcca ttaggaggca tggccttggt 2520
ggaggaagtg tgtcactgtg taggagggtt ttgagggttc ctagtgctca agtgctaccc 2580
agtgcagaac actcagtcac tcctgggtgt cctatgatca agatctagaa ctctcagctt 2640
cttctgcagc actgtgtctg tctgcatgct gccaggcttc ttgctatgat gataatggac 2700
tgaacctctg aaactgtaag ccagcccca ttaaattgtt gcctttgtta gagtagcctt 2760
ggcatgggtg cctgttcaca gcaatagaaa ccttaactaa gacacagttc ttgaagagga 2820
tggagttcct agcaccatg gccagcaact caccataact cttgttccag ggaatctggt 2880
gccctcttct ggcttttaag tgtatacaca cacaccacac acacacacac accacacaca 2940
cacacacaca cacacacaca tacacaccac acacacacac acacaccaca gagagagaga 3000
agcacaatag ctcaggattc ttcttatgta atcaccaatg atgtcacagg agtccacca 3060
tgtaacttcc tataaatcta actctcttcg attttaataa ttactatat gtgggtgtgt 3120
gtcagatctt ggattacaga cagtcatgac ctgccatgtg gatgctggga attgaaccgc 3180
gattgctgag ccatctctcc tgctccctaa ctactctca gaagccgcag ttccaatac 3240
ctttgacaca tgctttgagg gaattaaagt gtctagacat gaggtacat tgaaggcaca 3300
ataaggactc actctacagg acaagagctg tgtctgctaa cagtactggt ccaggcagg 3360
aaggagacca ggaagcaaaa actgactcct ctcttgcttc ccacctcatt tagggcttcc 3420
cattgactga gtctaaccag aagctggcag gatgggggtcc tttagaagtt agactcttgg 3480
gcccaggac atagctcagt tggatatgta cttgcctaac atgcacaaag ctccaggttc 3540
tatcacatac agtgtacagg ttgacacact tcatctcagc actcagggtg tagaggcagg 3600
aggtaagag ttcagggccca tccttagcta aagtgggtgag ttcaaggcca gcctgatatg 3660
gaagacctg tcaccaaga agtcttctga gacccaaaag atgacatgaa gcacagggag 3720
aaggtgtgga tggagactag ccaatgtgat tggaggatga gggcccagca cattgggtgt 3780
gaggtttggg caaactcaaa agtccttgat cagaggacgg aggttggtta aatggtcaag 3840
aatgcttggt cttccagagg accctgatct ggctcctagc accctcattg tgaccacaa 3900
aacatccata actctagttc tagggcactc agcacacaca ccatgcacat acacgtgtgc 3960
aggcaaaaca ttcaaaaatc taaaaattaa aaaataaaat aaaataaaat tcttgacagt 4020
gtgccagtt gtccttgaga cagtggacag taataagtgg gcttagggtat tatgtgatgg 4080
tttgtatatg cttgctcaga gagtagcact attaggaggt gtggtcttgt gggagtaggt 4140

gtgtcactgt ggggtgtgagc ttaagagcct catcctagct ccctggaagc cagtcttctc 4200
ctagcagtct tcagatgaag atgcagaact ctacagctcct cctacaccat gtctgcctgg 4260
atgtgtctat gctcccacct tgatgataat ggattgaacc tctgaacctg tcagccagac 4320
ccaattaaat gttgtccttg ataagatttg ccttggtcat ggtatctgtt cacagtggtgta 4380
aaaccctaac taagacagta tgacacatga gacacaaaaa aactggaacc ctttctttct 4440
tttctttgca agcgtcaatt ggctgaagtt ggcctaaaac tctctaagta gatgagtgtc 4500
cttgactcca ccttcgaaag tgcttgggct aaaggcatgt accatgatac tgctttatgt 4560
ggtactgggg tatcaacca tagccttact catgttaggc aagcactctg agctgcatcc 4620
ccatccaagg gttggctttt tagtggtgaa aagcccgtta actcttcttc gctttggtec 4680
tgactcttgt gctcccttca ctccagcgga accctcccag cctcccaacg gcagctggcc 4740
cccagctctg cgagagagtg atgctgaaac cgccccggtg gccagcctca ctttctcttc 4800
ctactaccag cactcctctc cggtggccgc catgttcacg gccgcctacg cgtcatctt 4860
cctcctctgc atgggtgggca acaccctggt ctgcttcacg gtgcttaaga accggcacat 4920
gcgcactgtc accaacaatgt tcacctcaa cctggccgctc agcgacctgc tgggtggcat 4980
cttctgcatg cccacaacc tcgtggacaa cttatcacc ggtgagtatg accaaggggc 5040
agcaggaagg ccctcttcac ccttcgcttc gcttccactt tccagctaaa gactgacgcg 5100
gaagccggga agacagagat cactgagcct cacagacaag gggcccgtt tctcaaactc 5160
tgacagagag gtgaataaga ataaccaacc taatgggcta atcagtcca ggcatgatgt 5220
atgatttgta agttatctta attaatecct agaataagcc aaccaagcat gctttgttat 5280
ttagcctcat ttacggatg aggaatcaag ctacagagcag ttaaggggct gatctgtaat 5340
tatttacctt gtcagtgtca gggccagtgt gtcataccc ctgtgtctat tcatatctcc 5400
tttggccaca cccttgga gaagtcccat ggacagaatt agacagggga ggagtaggag 5460
gtgggcaact ttcttctgca cgaagacctg gaaatccact cctgccatcc atcctcccat 5520
agaagatgct cttgtcctgc aggtcttgag ctccattgg ctggaagact caggagtagg 5580
gactggctga ccgatgagct gggactgggt aagaggtctt taaatggaag tagaccatca 5640
cctgcaaagt cccacagttg tcagaatgtc acacactcat ctctgatgat aaacctgtct 5700
tgtcttaaca tcagagtttg gagactcaag ctgtggagac cttcaggtc taagggggaa 5760
gatcccctgg ctacttgggg ttactcagct gttcctaggg agtccttctt ggtctgcgct 5820

ccctctttat agtggctctg atgacgcagg cccagggagg ggaagcctga ggggtgtgcag 5880
gttcctggat cctaaaggga aatgatggag agtcttctgg ctgtatgccc ggtggagact 5940
tgcctctctg ttgagttctg atccccgcag agatgccaaa cacaaaccgt acaaccttct 6000
tccagcaccg gcagacagtc tagatctaga tctggcctac aagtctccaa aggggtattta 6060
cagtataatc atttatgtga cattttcaaa ggccaaatcg tattttctgt cccctgagat 6120
agcaaattga cagattcaag agatggaggg tgggtccggt aatgaaggac cgagtggaag 6180
cttcctggag tgatgcaata tttctgtatc ttgatggacg ctgcctggct gcatgtgtgc 6240
cttaaacctg tgcacctgta tgccaaaaac agtggggctc attgtttgtc gaaaatagtt 6300
ccagtgtgaa acatgcccat atgttagtcc atttccatgg ttgatatac atgatgggtg 6360
tcaagatggc tgagcaggtg agtgactggt tgggtcccaa gtctctttcc ccgagcccca 6420
taaagtagaa ggagaaggcc tactcctgca agttgtcctc tgacctctgt gcatgtatgc 6480
atgtgcacac gagtgcactc acacacacac acacacacac aaatacacat gtgtatgtgt 6540
gcatgcacac acatcaaatg tgatTTTTTT tttaaaaaaa gagaagggt agagagatgg 6600
ctcaggggtt aaagagatgg cccagtgggt agagagatgg cccagtgggt agagagatgg 6660
ctcagtgggt agagagatgg cccagtgggt agagagatgg cccagtgggt agagagatgg 6720
cccagtgggt agagagacag cccagtgggt agagagatgg ccaagtgggt acgagtgtgt 6780
acggctcact agacgcactc tcagctccca cgctggttag cctacagatg actagctcca 6840
gttcaggaga tccaacacct ctttcacgtg cacctgtgtt catgtgcaca cacctaaaca 6900
cagagatgca gatttacaca tatagaaata cactaaaaat aagggttaatc tttttttaa 6960
aagtcattgt gcctcctaga agaacaactc tgtggctgta agggagtctt tgttggtagg 7020
tactttttaa atgggagtgt ttgcctattc tagtatgcat gtatgtatgt gtgtatatat 7080
ttattgtgta tgtatttgtg tgtatatatta tttatttgggt tttttgagac aggtttctct 7140
gtatagacct caagctagct ctgcagtctt gaactcagag atctggctgc ctctgcctcc 7200
tgagtgtctg gattaaaggc gtggaccacc actgctctgc tttttttaa actttttatc 7260
ttattttatg tgcattggaca ttttgcttaa tgtatacatg tgcaccccat gcgtctctgg 7320
tgctgcaga gacttgaggg gggcatcaga ttccctcaaa ctggagttgt agatggttct 7380
gagtcaactg tgctaggaac caaacacagg tcctctgcaa gatcaacaag agctcttggc 7440
cacggagcca tctccccage cccttgaaac aatgttagac ttaaagtaaa atagcgaagc 7500

tagcatagaa tccttggcat atgctttgct ctccttcccc aacaatcata atagagtaaa 7560
tacctggaga aagcttcccg tgtgttgata actcatcagg gttgggtggt ctttttggttt 7620
ttggttttgt ttgttttggt ctatttttaa tttcactagt gtcccctaaa tgtcattttc 7680
taggagtttg aaccataatt ccaagaaaca caactgaaat gctcaaactt tgaatgggtg 7740
agccagggtg gataatctga atgaactcaa gaggccagcc tgggggttat gcagtgaac 7800
tgaatctcaa acagaaaaca agcatcaatc acaaggatcat gacaataaca gcaatggaac 7860
aggccacttc agaggtgct ttaactataa agtaggcgac aatagcttgt attgctgcaa 7920
gcataaacac tcaggctact aaatgatatg tgtgtgagac gatcacaggt ctgaacggtg 7980
cattactgtt cataatgggt ctaaagtga ggttgggaat tgtatgcatt ccactttaga 8040
actgtggatt cctggattgc catggatgtc ttggctattg ttttcatgct ctgaagaggc 8100
actgtgacta aggccactct tatgaaagaa agtatgtaat tgggctttgc ttacagtttc 8160
agaggttagt ccattgtcat ggtgaccgaa ggcagggcag cacagaagtc agtaagatct 8220
gcatcctgac ataggcagag agaggagaat tgggcctgtc ataggctttt taaaacctca 8280
gagccacttc cagtgactca cttcctccaa caaagccatg cctcctaate cttctaatec 8340
tttcaaaggg tcccatgctc aggtgactaa gcattccaat agatgagctt ctggggccat 8400
tctttttctt ggggggaggg ggttttgaga cagggtttct ctgtgtagcc ctggttgtca 8460
ctcttttttt tttaaattaa tttatttatt tcatgtatgt gactacattg ttgctgtctt 8520
cagacacatt agaagagggt attgaatccc cattacagat ggttgtgagc caccatgtgg 8580
ttgcagggaa ttgaactcag gacctcaaga agaacagtca gtgctcttaa tcgctgagcc 8640
atctctccag tccctggaac tcactttgta gaccaagctg acctcaaact cagaaatccg 8700
cctgcttctg cctcccaagt gctgggatta aaggcgtgct ccaccactgc ccagctctgg 8760
gggggtcgtt cttattcaaa ccaccacact ggcagaaaac tcaaatcttg tgggggctag 8820
ggtgactgtc agatattacc ctgtggttca agcaagtctg gaattggcta tgcaaccagg 8880
ctagcctggc atgtgtgatt cttctcgcaa ctctgtcttc tgagccctgt ggtgccagct 8940
gtgttctagc tcatctgatt cttagacgt ttggtgggct ccacaaaac ctttgatagg 9000
tcacttctat atagagttat agacagtggc cctgggggaa gatthtgaga aattttgttt 9060
cccgtaatg cagacatcaa aaagatatca ctaaatttta tttatttatt tattttatta 9120
tttatttatt tattttatta tttattttac agacacagat aaagtcagtg tggcaacagt 9180

gcacacactc ttggagccag atttacaaaa gaagatacat aaatcagaac tctctgaaag 9240
tccgtgtata gtttatattg ccagtattca aaatggtggt gaaaagtcaa atatccagca 9300
ttaagaaaat cttacttttg gggtagggca agaaaaaaaa aagaggaagg aaattgggct 9360
ggctaggtct ggagagatgg agatggctca gcagctaaga attaagattc ccttgagag 9420
gagccatgtt caatccccac atggcgatgt gttcaattgc acccatggat cacaacctgt 9480
taacggtttc tagctccttc ttctgtccac tgcaggtact acatgcacat ggtacacata 9540
catgcaggca aaacactcat aactaaatat agatTTTTTA aaaagagggt gataatgtaa 9600
aaatagttag aaggTTTTTA aacttaaaaa aaagcaaaaa gTTTtaacat atgaaaatat 9660
gaaaaagtgg tacttcaggg ttatatgtga agcagccaca cagaggctcat gcctaagggc 9720
tggcaagccc cgccatcatc aaccatctgc tgactgtctt ggagtgcagt aaacagttag 9780
aggcagatct tcctcgattt tccagcagcc actccatttt tgtttctcnn nnnnnnnnnn 9840
nnnnncccc ccccccccc ccccccccc cnnnnnnnnn nnnnnnnnn ngtgctggga 9900
attccagtac ctctgggtga gtagccagtg ctcttaacca ctgagccacc tctctagctc 9960
cccttatttt caggttttaa aatgacattt tattcttgct ctcttctctc tctctctctc 10020
tctctctctc tctctctctc tcttctctc tctctctctc ctctctctct ctgtgtctgt 10080
atgtgtgtgt atctgttact ttgtggggca taggaatgca tgtagcttaa catacatgta 10140
gaagtcagag gacagcttat ggcgctatgc agtatagatt ctcttctgct atgtgggtct 10200
tggattgagc ttaggcttgt gacaagagct gacctgacc gccttggtgt agcctagagt 10260
gaacttgaac tcctccacct ctggattatg gtaattacag gcccatgccc tacgcttcac 10320
tctcagcat gttctgtgtg ataggctctc ctgccttac cactcaggc tcacagtctc 10380
tcctgaagat atccttactg tcacaaccaa aacaatgtct ttccaggttc ccaggtgctc 10440
tgccttctg acgtggatac aggtctcctg ggacagctg gggcacactg atactccttc 10500
cctggagcct tccatggaat ttgaagcttt cggttttggt ttttaggggt ttgatattta 10560
ggagtttggt acttgcgaaa cgttgctttg gggagcttag actcaatctt tctggtgttc 10620
tggattctga ctagaaccac ttgtctcacc caatgtcaga cctagggtat ctagctgatt 10680
ttaattattt ccttccttct ttctggaccc cagtgttagg gattagaatt aggcttcaac 10740
catactttat cattaaacta cattctcagc catatgtatg tgtgtataca cacacacaca 10800
cacatatatt ttttttttg aggtggcga gatagctcag tggtaagag catgtgctgc 10860

tcttgcagag gacctatggt tggttcctag atccccacacg atggcccaca ctatcagtga 10920
actcagttgc agaggttctc aagtcctctc cagcgccgag ggctccaggc atgcatagag 10980
tgcacacatg caggcaaaca ctcatcacaca taaaataaaa tataaaaaaac cttattaact 11040
tactcatgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgcgcgcgtg cgcacgcgta tgcgtggtgt 11100
atttgagtgt ttatatgttc accatacatg tgtaggtgcc tgtgaaggtc agaatacaat 11160
cccatagtcc tggacttatt acagggtggt gtgagctgct gttgtggatg ctgagagttg 11220
aatcccactc ctctgcagga gcaacaagt ctcttaacca ctgagccatc tctccaaccc 11280
cttgggtctct ttttgatttt ttttttcttt gattttttga gacagggtct ctctgtgtag 11340
cctggctgtc ctggaactca cttttagtag caggctggcc tcaaactcag gaaatccacc 11400
tgcctctgcc tcccagggtc tgggattaaa ggctgtgcacc accatgcccg gctctctttt 11460
tgattttatt ttgtgtgtgg atgcttatgc acgcacacat tcatgcatgc atgtatacat 11520
ttttttcatg tatgtgtgag tgtatgcata ggtgcggagg cctgaggttg acatctcctg 11580
ctttagcccc tgagtagctg ggatgacaag tctgtgcttc ccaggccagc tcaccgaagt 11640
gtttccttag ctctctccaa tcagccctag gtgccaggtc atgacatcac atgttttagaa 11700
gctgctcttc cattatttgc aatatgagca tttttgttgt tttctctgat gccaggacct 11760
gcactttggc cctgggatcc ttgactaagg atgcctcgtg attagggcat ctgtaaagca 11820
acctcttccc cttttcttta aaggacagat gttcgtacag taaagctggg atcaggttgg 11880
gttctctagc actacggatg cagagcagaa cctcaggagg atgctctttt gatccagcac 11940
tggagggtgt gtgtggaact tgtctcagac ggaggcctct acgggtgagc agtctcaggc 12000
tgtaaacatc ctaaakatcc aggaaggagt tgctagtctt ttcatacatt ggtcagttcca 12060
tcataaacac tctggaacca agcctagtgg cactcacgtt aaatcctagc acttgggagg 12120
cagaggcaag cagatctcta agtctgaggc cagcctggtc tccagagtga gttccaggat 12180
agccagggt acacagagaa accctgtctc aaaaaaaaaa aaaacacaac aagaaaaaaaa 12240
agggggggat catattctga ttcgtgagga atgtgctggc attcctcttg agcctggcca 12300
atatgacatg gctttgcaa tgcctgttag gtccaagctt tggagcctgc acatggctat 12360
gcccatttag gcaatattca tttactcaga acttcactcc ctcccgtgag tctctgtctc 12420
cctacacctt gattagattc agttgagcca ttgaggggac tctctgtctc cctacacctt 12480
gattagattc agttgagcca ttgaggggaga gcagcatgga tccgtgggca aggcacagat 12540

gagagccgag ccttttgctc gattgcttag gtaactgctg tctctaggct gtgaagccag 12600
cacttcccc tttctaatta tgaagtaccc tacggggtga tcctctgaga ccatgcaaatt 12660
gtcatggctc gttatatattt tgtaccgact tcatagtgtt gccaccacaca aacttgcttc 12720
tcattcctgtt ccctcttaatt gacattcaca tcctctgtat ttactaattg gctctctgct 12780
tcctggcggtt taatccaaca tgattgttta ttttgttgct taaactgctc taggtctggc 12840
aattgcaatt ggaagctcac agccgctggc ttctgtgtcc ttcccatata cagccatcat 12900
gtttggagta tttccttcct tcttcattcc acagaatgtt ctagatcatc tcacaatttt 12960
cttacaccag ccctggaatt aactagtctt tttaaaagcc ttgtttcctt tgattggcct 13020
gcactattta gttctatttt atgcgcatgc gaattctact cgcatgcctg gtgccacag 13080
aggtcagaag agggcatcag agctcctgga gctagagagt tatggatgtt gaaagccacc 13140
atacggatgc tggggactga accagagtcc tctgcaagag caaccagttg tcttagctgc 13200
tgagccatct ccacaggcca aggagtagag tatttacaag caaaggctctg acttctctgag 13260
ggtgcttatac agggtagag tggcttgatt ctagactctg aaggacaga gctgggacat 13320
gcatgcaaatt tgccatagag ttctttgaca catgtctttt gttgttggtt ttgagacagg 13380
gtctcacatg tagccttgggt ttccctggaa ctactatgt aaccaggct gacctgaaac 13440
tcaacagaga tctgtcttcc tctgtttccc aaatgctgag attaaagaca tgtatcacca 13500
caccagctc cgtcttcgct cctgtgtctg gccatgtgcc tgtatttcag aaactgtgct 13560
ccataactaat acttcagatt ccaatccagt ctcaaaaaat gtatttttagc tcctcccttt 13620
ttttagctt tcttctcagt gagaacaaaa atctttgttt atccacagcc tgtttattta 13680
tctgttttgt ccacttcagt atacagggtgataataata tatacgctgt ggatatgtga 13740
taatgatgat tgggtaataa cagagctact tcgaggaagg aacggcctcc ctctgggct 13800
ggataatagg ctccagacat caggcagggc tagatgacct gaaggctcatt gacacaatca 13860
gctgtcaact aaaggccatc ttctaaaaag tagtggtcac acgctggttg gctcctcggt 13920
cacagtcaca gagacctcac aagccctcac agcacgagga tcaatgagcg gtgtttccag 13980
gagacattgg ttatatggca ggtgctatgc attttgttga ttaggcatct ctaccctgt 14040
gggggcctct gtcgttacag gttggccttt tgacaatgcc acatgcaaga tgagcggctt 14100
ggtacagggc atgtccgtgt ctgcgtcggt tttcacactg gtggccattg ccgtggagag 14160
gtgagaacct tccttgggta attctgggac tggcacgctg ggactagcta gatggttgta 14220

gggagagatc ggttgagaat accaccccat ccctttctgg gaggcagagg ccactcctga 14280
caagatctca tagcaatttc tggggtctgc tcaaggcagt ctgcatcctg ggtaccagga 14340
gtcccacctc tcctttgttt gagcccggga agccagagct agaggagcct gtctgcagat 14400
gggcttgga tagctgggaa ggaccgacct tttttgttcc tatattctat ctacttgctg 14460
gtgtctggaa gccctggctt tactccgtct gcatgtctgt cgttcttggt catccannnn 14520
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnncc ccccccccc cccnnnnnnn 14580
nnnnnnnnnn tgcctagtcc ggcttcctaa gcacagagt tttatcacag actnnnnnnn 14640
nngggctgtg atgccgcta ctgaataaaa gaaaaaggaa taaaggaaag cccatgactg 14700
ctccctggat atggtggagg agaaagctta ttatagatat gtgggtgaga acggccagag 14760
gcagggacat ctccagagag tccagagtgg tcctgaccc gaacctcgtg gggagagggg 14820
gagggggagg gagagcggga aaccaaaggt cagcagccat gaggcaaag gtgcaaaagg 14880
aagtgggagg tagcccaaaa tgtctaggct atataggag gagcctctgt gggaagggca 14940
gccagtgctc tgggctggag agttcagggt agagggtggg gtaggtcagc tataccagc 15000
aacaggtagc aaccgaggga tgctgggaga acctaaagc caggtccgtt ttgatattgt 15060
aaataggaac ctcatggcc agtcctgggt tgaaccctta gtactgccag ctaattctgt 15120
ttaaaataaa gatctaagcc tctggagaga ggttgcttct tcctcatcta ttccactaaa 15180
tccacctaaa gccataacaa tttagccgga ctgtgctgcc tccttcgcaa aagacaaacc 15240
aatctacttg taaattaacc tgattagtgc cgaagcagtt ctgggtgct gcctaagtgc 15300
agtgatgaat gtttggtatc gtattccagt agcatccgaa actgcctcaa gtagggtgat 15360
gaatgtcacg tgcctcttc cagtggcccc tagtcaggtc atctctggcc cgctgggcct 15420
ccagggatcc tcccagacac ttactctgtt tctcttccca ccccttcgcc tgcaggttcc 15480
gctgcatcgt acacctttc cgtgagaagc tgacctccg gaaggcgtg ctaccatag 15540
cggatgatctg ggcgtggcg ctgctcatca tgtgtccctc ggcggtcact ctgacctca 15600
cgcgagagga gcatcacttc atgctggatg ctgcgaaccg ctctaccct ctctactcgt 15660
gctgggaggc ctggcccag aaggcatgc gcaaggtcta caccgccgtg ctcttcgcgc 15720
acatctatct ggccgctg gcgctcatcg tggatgatga cgcgcgcatc gcgcgcaagc 15780
tgtgccaggc ccccggtcca gcgcgcgacg cggaggaggc ggtggccgag ggtggccgcg 15840
cgtcgcgcg cagggccgc gtggtgcata tgctggtcat ggtggcgctc ttcttcacct 15900

tgtcctggct gccactctgg gtgctgctgc tgctcatcga ctacggggag ctgagcgagc 15960
 tgcagctgca cttgctgtcc gtctacgcct tcccgttggc aacttggtg gccttcttcc 16020
 acagcagcgc caacccatt atctacggct acttcaacga gaacttccgc cgcggcttcc 16080
 aggctgcctt cggggcacag ctctgctggc ttccctgggc cgcccacaag caagcctact 16140
 ccgagcggcc tggccgcctc ctgcgcaggc ggggtggtgt ggacgtgcaa ccagcgact 16200
 cagggtgcc atcggagtct ggccccagca gtgggggtccc agggcctaac cggctgccat 16260
 tgcgcaatgg gcgtgtggcc caccaggatg gcccgaggga agggcctggc tgcaaccaca 16320
 tgcccctcac tatcccagcc tggaacattt gaggtggtcc agagaggga cgtcctgtag 16380
 gcctgtggcc ctgaccctta actatgatgc ctgggcacaa tagcagtatt agaagagggt 16440
 gccgagatgc ctccttgata aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa cgagacagtg 16500
 aggcattgag acccaggag aggtgacaag gtctcaccgt tgggaatcct acttgacca 16560
 gactccagta agtctcccca ggaaaatgtg tcactaggtg gttaggaaga ggtgaccact 16620
 tctacacact gagcacctgt gaccgagtc cctgtgctgt gttgctgaga gagctcccct 16680
 tggcccttct ctgggaaaca tccaagctct ccgcttgcca gggccagtgt ttgagttgtt 16740
 ttattccagg aagtgccata cccacttcag catgtcaca ctgagcagct ccaagaagaa 16800
 ccctagggag cccatttaaa tggcactggg ttgagcctaa gggagactcc ccccccccc 16860
 ccagagcca agcagagctt ccaacagtac caagagctca tgggtggcag gcaaggggaa 16920
 aaggaagaca gcaatgccaa ctctcccctc aggaaatatc ttagtgggcc agtgagcatg 16980
 aacc 16984

<210> 29

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<400> 29

aggtgctcag tgtgtagaag tgg

23

<210> 30

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<400> 30

atcccagcct ggaacatttt gagg 24

<210> 31

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<400> 31

tcatagccga atacggtctc cac 23

<210> 32

<211> 17833

<212> DNA

<213> Mouse

<220>

<221> CDS

<222> (4706).. (5021)

<220>

<221> CDS

<222> (14106).. (14205)

<220>

<221> CDS

<222> (16325).. (17198)

<400> 32

caagttgccg ggcttgggag gtggggaaga gacaggggag tggcagtgag tgaggtggga 60

gggagtggggt tttctttatt taaacgtgca cttgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg 120

tgtgtgtgat gtatatgtgt gtggagacgt gattaggata tgagtgaaga tcagaggga 180
gtctgtgtgt gggagtgggg tctctctcc taccacgtag gtcccaggga tcaaactcgg 240
gtcatcaggc ttggtagaag gcatcttacc tgctgagcca tctcgatgac ctggtttggc 300
ttggcgaaa ggtctcatgt agttcaggtt ggcccaaac tcagtatgtc accaagaatg 360
accttaaacc tctcatcctt ctgcctctgg agttctaggg gtatgggtgt accctagccc 420
ttggcttgca tgggtgctggg gttggagcct gtggctttgt ggatgttaag tcaagctcct 480
atcagctgag ccccatctct agctcctgga ctgtgagtta aaaaaaaaaa aagtagaaga 540
ctatttaaaa aaaaaagat gcaaaactat ttttcagtga aaaggaatgt cggtgacac 600
tcgcttcaga gcaactgagg aggaaagtca atggatgctg caggtggaca gacttcccgt 660
gggagtcctt tttaccattc ctttctcat ggttcattaa actttatact tctgcatgtg 720
ttcgccaaaa taatctctct tgtacgtgcc cgatatata tatatattat tctattaaag 780
gtgtttgaat gctgttggag ctcttgaaag gcctgtgtgt gggggagtac catcatctct 840
cagctccttc tctatcagta gaccctcat ccgccacac cctcctacag cccctactgg 900
ctcctgcagc ccctaagtc gctagtgcag tagcctgctg cccaggtgt ctgtctccag 960
ccctcctgtg tgtgcaactgc gcctcgctcg ctcatattggc ttgcatggtg ctggggttgg 1020
agcctgtggc tttgtggatg ttaagtcaag ctccatcag ctgagcccca tctctagctc 1080
ctggactgtg agttaaaaa aaaaaagta gaagactatt taaaaaaaaa aagatgcaaa 1140
actatttttc agtgaaaagg aatgtcggct gacactcgtc tcagagcaac tgaggaggaa 1200
agtcaatgga tgctgcaggt ggacagactt ccggtgggag tcctttttac cattccattt 1260
ctcatgggtc attaaacttt atacttctgc atgtgttcgc caaaataatc tctcttgtac 1320
gtgcccgat atatatatat attattctat taaagggtgt tgaatgctgt tggagctctt 1380
gaaaggcctg tgtgtggggg agtaccatca tctctcagct cttctctat cagtagacct 1440
ctcatccgc cacaccctcc tacagcccc actggctcct gcagccccta tgccgctagt 1500
gcagtagcct gctgccccag gtgtctgtct ccagccctcc tgtgtgtgca ctgcgcctcg 1560
ctcgtcata gccagtggct gagcgtggg ctccacagaa agactcccca gggccacttc 1620
atcctccaga atgggcccc tccagcccc gaggggaagac atgaggggaa cttttaagac 1680
aacaccatga ctaccaccg ctaatgactt ccagaagag ttatgattgg aacttgact 1740
gtccctccg aaagaagact agggaaacac acactcagcc tgctgctaata gagaaacatg 1800

tggacagggc acttcccata gatactgcag gggcaggtaa acccagattg gtattcctgc 1860
cagcaggggg tgcaaagaga aagaataggt tgctatgggt gcttgggagt tctagaagca 1920
tgggctagag tgtcttgctt tgtttttctt tcctttcctt ttcttttctt ttcttttctt 1980
ctttctctct ttctgtcttt aaaacttatt tatttaatgt atgtgagtac actgtagctg 2040
tacccttcat gtggttggtt ggaattgaat tttaggacct ctgctcactc cagtcagccc 2100
tgctcgtca ggaccaaaga tttatttatt attatacata agtacactgt agctgacttc 2160
agacacacca ggagagggcg tcagatctca ttatgggttg ttgtgagcca ccatgtggtt 2220
gctgggactt gaactcagga cctctgggag agcagtcagt gctcttaccg gctgagccat 2280
ctcgccagcc ccttgcttca tttttctatt gctataacaa atatccaaga ttgagtagtt 2340
tataagaagt ccaaagcat ggcccttctg ttcagggcct gtttcctgca ttctaactg 2400
gtgagggcat cgtgtggcca actagaacaa gcacgtggcc tggcagagag gcctcggcca 2460
tcgagtgcac ttgtctttt tggtgatgga agtggttcca ttaggaggca tggccttggt 2520
ggaggaagtg tgtcactgtg taggagggtt ttgagggttc ctagtgctca agtgctaccg 2580
agtcgagaac actcagtcac tcctggttgt cctatgatca agatctagaa ctctcagctt 2640
cttctgcagc actgtgtctg tctgcatgct gccaggcttc ttgctatgat gataatggac 2700
tgaacctctg aaactgtaag ccagcccca ttaaagtgtt gcctttgtta gagtagcctt 2760
ggcatggtg cctgttcaca gcaatagaaa ccttaactaa gacacagttc ttgaagagga 2820
tggagttcct agcaccatg gccagcaact caccataact cttgttccag ggaatctggt 2880
gccctcttct ggcctttaag tgtatacaca cacaccacac acacacacac accacacaca 2940
cacacacaca cacacacaca tacacaccac acacacacac acacaccaca gagagagaga 3000
agcacaatag ctgaggattc ttcttatgta atcaccaatg atgtcacagg agctccacca 3060
tgtaacttcc tataaatcta actctcttcg attttaataa ttactatat gtgggtgtgt 3120
gtcagatctt ggattacaga cagtcatgac ctgccatgtg gatgctggga attgaaccg 3180
gattgctgag ccatctctcc tgcctcctaa ctactctca gaagccgcag ttccaaatac 3240
ctttgacaca tgctttgagg gaattaaagt gtctagacat gaggtacat tgaaggcaca 3300
ataaggactc actctacagg acaagagctg tgtctgctaa cagtactggt ccagggcagg 3360
aaggagcca ggaagcaaaa actgactcct ctcttgcttc ccacctcatt tagggcttcc 3420
cattgactga gtctaaccag aagctggcag gatgggggtc tttagaagtt agactcttgg 3480

gcccaggac atagctcagt tggatatagta cttgcctaac atgcacaaag ctccaggttc 3540
tatcacatac agtgtacagg ttgacacact tcattctcagc actcagggtgg tagaggcagg 3600
agggttaagag ttcagggccca tccttagcta aagtggtagag ttcaaggcca gcctgatatg 3660
gaagaccttg tcacccaaga agtccttctga gacccaaaag atgacatgaa gcacaggagg 3720
aagggttgga tggagactag ccaatgtgat tggaggatga gggcccagca cattgggtgt 3780
gaggtttggg caaactcaaa agtccttgat cagaggacgg aggggtggtta aatgggtcaag 3840
aatgcttggt cttccagagg accctgatct ggctcctagc accctcattg tgaccacaa 3900
aacatccata actctagtgc tagggcactc agcacacaca ccatgcacat acacgtgtgc 3960
aggcaaaaca ttcaaaaatc taaaaattaa aaaataaaat aaaataaaat tcttgacagt 4020
gtgccagtt gtccttgaga cagtggacag taataagtgg gcttagggta tatgtgatgg 4080
tttgtatatg cttgctcaga gagtagcact attaggaggt gtggtcctgt gggagtaggt 4140
gtgtcactgt ggggttgagc ttaagagcct catcctagct ccttggaagc cagtcttctc 4200
ctagcagtct tcagatgaag atgcagaact ctcagctcct cctacaccat gtctgcctgg 4260
atgctgctat gctcccacct tgatgataat ggattgaacc tctgaacctg tcagccagac 4320
ccaattaaat gttgtccttg ataagatttg ccttggtcat ggtatctgtt cacagtggta 4380
aaaccctaac taagacagta tgacacatga gacacaaaaa aactggaacc ctttctttct 4440
tttctttgca agcgtcaatt ggctgaagtt ggccataaac tctctaagta gatgagtgtc 4500
cttgactcca ctttcgaaag tgcttgggct aaaggcatgt accatgatac tgctttatgt 4560
ggtactgggg tatcaacca tagccttact catgttaggc aagcactctg agctgcatcc 4620
ccatccaagg gttggctttt tagtggtgaa aagcccgtta actcttcttc gctttgggtcc 4680
tgactcttgt gtccttca ctccagcgga accctcccag cctcccaacg gcagctggcc 4740
cccaggtctg cgagagagt atgctgaaac cgccccgtg gccagcctca cttctcttc 4800
ctactaccag cactcctctc cggtggccgc catgttcac gccgcctacg cgctcatctt 4860
cctcctctgc atgggtggga acaccctgg ctgcttcac gtgcttaaga accggcacat 4920
gcgcactgtc accaacaatg tcattcctcaa cctggccgtc agcgacctgc tgggtggcat 4980
cttctgcatg cccacaacc tcgtggacaa cttatcacc ggtgagtatg accaaggggc 5040
agcaggaagg ccctcttcac cttcgttc gcttccactt tccagctaaa gactgacgcg 5100
gaagccggga agacagagat cactgagcct cacagacaag gggcccggtg tctcaaactc 5160

tgacagagag gtgaataaga ataaccaacc taatgggcta atcagtgcc a ggc atgatgt 5220
atgatttgta agttatctta attaatccct agaataagcc aaccaagcat gctttgttat 5280
ttagcctcat ttacggatg aggaatcaag ctacagagcag ttaaggggct gatctgtaat 5340
tatttacctt gtcagtgtca gggccagtgt gctcataccc ctgtgtctat tcatatctcc 5400
tttggccaca cccttgga gaggttcccat ggacagaatt agacagggga ggagtaggag 5460
gtgggcaact ttcttctgca cgaagacctg gaaatccact cctgccatcc atcctcccat 5520
agaagatgct cttgtcctgc aggtcttgag ctccattgg ctggaagact caggagtagg 5580
gactggctga ccgatgagct gggactgggt aagaggtctt taaatggaag tagaccatca 5640
cctgcaaagt cccacagttg tcagaatgtc acacactcat ctctgatgat aaacctgtct 5700
tgtcttaaca tcagagtttg gagactcaag ctgtggagac ccttcaggtc taagggggaa 5760
gatcccctgg ctacttgggg ttactcagct gttcctaggg agtccttctt ggtctgcgct 5820
ccctctttat agtggctctg atgacgcagg cccagggagg ggaagcctga ggggtgtgcag 5880
gttcttggt cctaaaggga aatgatggag agtcttcttg ctgtatgccc ggtggagact 5940
tgctctctg ttgagttctg atccccgcag agatgccaaa cacaaccgt acaaccttct 6000
tccagcacc gcagacagtc tagatctaga tctggcctac aagtctcaa agggatttta 6060
cagtataatc atttatgtga cattttcaaa ggccaaatcg tattttctgt cccctgagat 6120
agcaaattga cagattcaag agatggaggg tgggtccggt aatgaaggac cgagtggaag 6180
cttctggag tgatgcaata ttctgtatc ttgatggacg ctgcctggct gcatgtgtgc 6240
cttaaacctg tgcacctgta tgccaaaaac agtggggctc attgtttgtc gaaaatagtt 6300
ccagtgtgaa acatgccc atgttagtcc atttccatgg ttgatatac atgatgggtg 6360
tcaagatggc tgagcaggtg agtgactgg tgggtcccaa gtctctttcc ccgagccca 6420
taaagtagaa ggagaaggcc tactcctgca agttgtctc tgacctctgt gcatgtatgc 6480
atgtgcacac gagtgcactc acacacacac acacacacac aaatacacat gtgtatgtgt 6540
gcatgcacac acatcaa atgtttttt tttaaaaaaa gagaagggt agagagatgg 6600
ctcaggggt aaagagatgg cccagtgggt agagagatgg cccagtgggt agagagatgg 6660
ctcagtgggt agagagatgg cccagtgggt agagagatgg cccagtgggt agagagatgg 6720
cccagtgggt agagagacag cccagtgggt agagagatgg ccaagtgggt acgagtgtgt 6780
acggctcact agacgcactc tcagctcca cgctgggttag cctacagatg actagctcca 6840

gttcaggaga tccaacacct ctttcacgtg cacctgtgtt catgtgcaca cacctaaaca 6900
cagagatgca gatttacaca tatagaaata cactaaaaat aaggttaate tttttttaaa 6960
aagtcatgtg gcctcctaga agaacaactc tgtggctgta agggagtctt tgttggtagg 7020
tactttttta atgggagtggt ttgcctattc tagtatgcat gtatgtatgt gtgtatatat 7080
ttattgtgta tgtatttgtg tgtatatatta tttatttggt tttttgagac aggtttctct 7140
gtatagacct caagctagct ctgcagtctt gaactcagag atctggctgc ctctgcctcc 7200
tgagtgtctg gattaaaggc gtggaccacc actgctctgc tttttttaaa actttttatc 7260
ttattttatg tgcatggaca ttttgcttaa tgtatacatg tgcaccccat gcgtctctgg 7320
tgctgcaga gacttgaggg gggcatcaga ttccctcaaa ctggagttgt agatggttct 7380
gagtcactga tgctaggaac caaacacagg tcctctgcaa gatcaacaag agctcttggc 7440
cacggagcca tctccccagc cccttgaaac aatgttagac ttaaagtaaa atagcgaagc 7500
tagcatagaa tccttggtcat atgctttgct ctccttcccc aacaatcata atagagtaaa 7560
tacctggaga aagcttcccg tgtgttgata actcatcagg gttgggtggt cttttggttt 7620
ttggttttgt ttgttttggt ctatttttaa tttcactagt gtcccctaaa tgctattttc 7680
taggagtttg aaccataatt ccaagaaaca caactgaaat gctcaaactt tgaatggtgg 7740
agccaggtgt gataatctga atgaactcaa gaggccagcc tgggggttat gcagtgaac 7800
tgaatctcaa acagaaaaca agcatcaatc acaaggatcat gacaataaca gcaatggaac 7860
aggccacttc agaggctgct ttaactataa agtaggcgac aatagcttgt attgctgcaa 7920
gcataaacac tcaggtactc aaatgatatg tgtgtgagac gatcacaggt ctgaacggtg 7980
cattactgtt cataatgggt ctaaagtga ggttggaat tgtatgcatt ccactttaga 8040
actgtggatt cctggattgc catggatgtc ttggtcattg ttttcatgct ctgaagaggc 8100
actgtgacta aggccactct tatgaaagaa agtatgtaat tgggctttgc ttacagtttc 8160
agaggttagt ccattgtcat ggtgaccgaa ggcagggcag cacagaagtc agtaagatct 8220
gcatcctgac ataggcagag agaggagaat tgggcctgtc ataggctttt taaaacctca 8280
gagccactc cagtgactca cttcctccaa caaagccatg cctcctaate cttctaatec 8340
tttcaaaggg tcccatgctc aggtgactaa gcattccaat agatgagctt ctggggccat 8400
tctttttctt ggggggaggg ggttttgaga cagggtttct ctgtgtagcc ctggttgtca 8460
ctcttttttt tttaaattaa tttatttatt tcatgtatgt gagtacattg ttgtgtctt 8520

cagacacatt agaagagggt attgaatccc cattacagat ggttgtgagc caccatgtgg 8580
ttgcagggaa ttgaactcag gacctcaaga agaacagtca gtgctcttaa tcgctgagcc 8640
atctctccag tccctggaac tcactttgta gaccaagctg acctcaaact cagaaatccg 8700
cctgcttctg cctcccaagt gctgggatta aaggcgtgct ccaccactgc ccagctctgg 8760
gggggtcgtt cttattcaaa ccaccacact ggcagaaaaac tcaaactctg tgggggctag 8820
ggtgactgtc agatattacc ctgtgggtca agcaagtctg gaattggcta tgcaaccagg 8880
ctagcctggc atgtgtgatt cttctcgcaa ctctgtcttc tgagccctgt ggtgccagct 8940
gtgttctagc tcactgtatt ctttaagacgt ttggtgggct ccacaaaaac ctttgatagg 9000
tcacttctat atagagttat agacagtggc cctgggggaa gatthttgaga aatthttgtt 9060
cccgtaaatg cagacatcaa aaagatatca ctaaatttta tttatttatt tatttattta 9120
tttatttatt tatttattta tttattttac agacacagat aaagtcagtg tggcaacagt 9180
gcacacactc ttggagccag atttacaaaa gaagatacat aaatcagaac tctctgaaag 9240
tccgtgtata gtttatattg ccagtattca aaatgggtgg gaaaagtcaa atatccagca 9300
ttaagaaaat cttacttttg ggggtggggca agaaaaaaaa aagaggaagg aaattgggct 9360
ggctaggtct ggagagatgg agatggctca gcagctaaga attaagattc cttgcagag 9420
gagccatgtt caatccccac atggcgatgt gttcaattgc acccatggat cacaacctgt 9480
taacggtttc tagctccttc ttctgtccac tgcaggtact acatgcacat ggtacacata 9540
catgcaggca aaacactcat aactaaatat agatttttta aaaagagggt gataatgtaa 9600
aaatagttag aaggttttaa aacttaaaaa aaagcaaaaa gttttaacat atgaaaatat 9660
gaaaaagtgg tacttcaggg ttatattgta agcagccaca cagaggatcat gcctaagggc 9720
tggcaagccc cgccatcatc aaccatctgc tgactgtctt ggagtgcagt aaacagttag 9780
aggcagatct tcctcgattt tccagcagcc actccatttt tgtttctcct atttttaatg 9840
tttaacgggt tatttatattg tatttacaag cgctgtatct gcatgtacac ctgcatgcca 9900
gaagagggca tcagatccca ttacagatgg ttgtgggtgc tgggaattcc agtacctctg 9960
ggtgagtagc cagtgtctt aaccactgag ccacctctct agctccccct attttcaggt 10020
tttaaatga catthttattc ttgtctctt ctctctctct ctctctctct ctctctctct 10080
ctctctcttt ctctctctct cctctctctc tctctctgtg tctgtatgtg tgtgtatctg 10140
ttactttgtg gggcatagga atgcatgtag cttaacatac atgtagaagt cagaggacag 10200

cttatggcgc tatgcagtat agattctctt ctgctatgtg ggtcttggat tgagcttagg 10260
cttgtgacaa gagctgacct tgaccgcctt ggtgtagcct agagtgaact tgaactcctc 10320
cacctctgga ttatggtaat tacaggccca tgccctacgc ttcactctca cgcattgttct 10380
gtgtgatagg tcttctctgc cttaccact caggetcaca gtctctcttg aagatatcct 10440
tactgtcaca accaaaacaa tgtctttcca ggttcccagg tgctctgcct tcctgacgtg 10500
gatacaggtc tcctgggaca gcctggggca cactgatact ccttccctgg agccttccat 10560
ggaatttgaa gctttcggct ttggttttta gggttttgat atttaggagt ttggtacttg 10620
cgaaacgttg ctttggggag cttagactca atctttctgg tgttctggat tctgactaga 10680
accacttgtc tcaccaatg tcagacctag ggtatctagc tgattttaat tatttccttc 10740
cttctttctg gaccccagtg ctagggatta gaattaggct tcaaccatac tttatcatta 10800
aactacattc tcagccatat gtatgtgtgt atacacacac acacacacat atatTTTTT 10860
ttttgaggct ggcgagatag ctacgtgggt aagagcatgt gctgctcttg cagaggacce 10920
atgtttgggt cctagatccc acacgatggc ccacactatc agtgaactca gttgcagagg 10980
ttctcaagtc ctctccagcg ccgagggctc caggcatgca tagagtgcac acatgcaggc 11040
aaacactcat acacataaaa taaaatataa aaaaccttat taacttactc atgtgtgtgt 11100
gtgtgtgtgt gtgtgtgcgc gcgtgcgcac gcgtatgcgt ggtgtatttg agtgtttata 11160
tggtcaccat acatgtgtag gtgcctgtga aggtcagaat caaatcccat agtcctggac 11220
ttattacagg tggttgtgag ctgctgttgt ggatgctgag agttgaatcc cactcctctg 11280
caggagcaac aagtgcctt aaccactgag ccatctctcc aacccttgg tctctttttg 11340
attttttttt tctttgattt tttagacag ggtctctctg tgtagcctgg ctgtcctgga 11400
actcactttg tagaccaggc tggcctcaaa cttaggaaat ccacctgcct ctgcctcca 11460
ggtgctggga ttaaaggcgt gcaccaccat gcccggtctt ctttttgatt ttattttgtg 11520
tgtggatgct tatgcacgca cacattcatg catgcatgta tacatttttt tcatgtatgt 11580
gtgagtgtat gcataggtgc ggaggcctga ggttgacatc tcctgcttta gccctgagt 11640
agctgggatg acaagtctgt gcttcccagg ccagctcacc gaagtgtttc cttagctctc 11700
tccaatcagc cctaggtgcc aggtcatgac atcacatgtt tagaagctgc tcttccatta 11760
tttgcaatat gagcattttt gttgttttct ctgatgccag gacctgcact ttggccctgg 11820
gatccttgac taaggatgcc tcgtgattag ggcattctgta aagcaacctc ttccccctt 11880

ctttaaagga cagatgttcg tacagtaaag ctgggatcag gttgggttct ctagcactac 11940
ggatgcagag cagaacctca gggagatgct cttttgatcc agcactggag ggtgtgtgtg 12000
gaacttgtct cagacggagg cctctacggg tgagcagtct caggctgtaa acatcctaaa 12060
catccaggaa ggagttgcta gtcttttcat acattggtca gtccatcata aacactctgg 12120
aaccaagcct agtggcactc acgttaaate ctagcacttg ggaggcagag gcaagcagat 12180
ctctaagtct gaggccagcc tggctccag agtgagttcc aggatagcca gggctacaca 12240
gagaaaccct gtctcaaaaa aaaaaaaaaac acaacaagaa aaaaaagggg gggatcatat 12300
tctgattcgt gaggaatgtg ctggcattcc tcttgagcct ggccaatatg acatggcttt 12360
gccaatgtcc tgtaggtcca agctttggag cctgcacatg gctatgcca ttaggcaat 12420
attcatttac tcagaacttc actccctccc gtgcgtcctc tgctccctac accttgatta 12480
gattcagttg agccattgag ggacgtcctc tgctccctac accttgatta gattcagttg 12540
agccattgag ggagagcagc atggatccgt gggcaaggca cagatgagag ccgagccttt 12600
tgctcgattg cttaggtaac tgctgtctct aggtgtgaa gccagcactt cccctttct 12660
aattatgaag taccctacgg ggtgatcctc tgagaccatg caaatgtcat ggctcgttat 12720
atttttgtac cgacttcata gtgttgccac ccacaacact gcttctcctc ctgttccctc 12780
ttaatgacat tcacatcctc tgtatttact aattggctct ctgcttctg gcgtttaatc 12840
caacatgatt gtttattttg ttgcttaaac tgctctaggt ctggcaattg caattggaag 12900
ctcacagccg ctggcttctg tgctcttccc atatacagcc atcatgtttg gagtatttcc 12960
ttccttcttc attccacaga atgttctaga tcatctcaca attttcttac accagccctg 13020
gaattaacta gttcttttaa aagccttggt tcctttgatt ggcttgcact atttagttct 13080
attttatgcg catgcgaatt ctactcgcat gcctgggtgcc cacagaggtc agaagagggc 13140
atcagagctc ctggagctag agagttatgg atgttgaaag ccaccatacg gatgctgggg 13200
actgaaccag agtcctctgc aagagcaacc agttgtctta gctgctgagc catctccaca 13260
ggccaaggag tagagtattt acaagcaaag gtctgacttc ctgagggtgc ttatcagggt 13320
tagagtggct tgattctaga ctctgaaggg acagagctgg gacatgcatg caaattgcca 13380
tagagttctt tgacacatgt cttttgttgt tgttgttgag acagggtctc acatgtagcc 13440
ttggtttccc tggaactcac tatgtaacc aggtgacct gaaactcaac agagatctgt 13500
cttctctgt ttcccaaatg ctgagattaa agacatgtat caccacaccc agctccgtct 13560

tcgtcctgt gtctggccat gtgcctgtat ttcagaaact gtgctccata ctaatacttc 13620
agattccaat ccagtctcag aaaatgtatt ttagctcctc ccttttttgt agctttcttc 13680
tcagtgagaa caaaaatcctt tgtttatcca cagcctgttt atttatctgt ttggctccact 13740
tcagtataca ggtgtgataa taatatatac gctgtggata tgtgataatg atgattgggt 13800
aataacagag ctacttcgag gaaggaacgg cctccctcct gggctggata ataggctcca 13860
gacatcagcg agggctagat gacctgaagg tcattgacac aatcagctgt caactaaagg 13920
ccatcttcct aaaagtagtg ttcacacgct gggtggctcc tcggtcacag tcacagagac 13980
ctcacaagcc ctcacagcac gaggatcaat gagcgggtgtt tccaggagac attggttata 14040
tggcaggtgc tatgcatttt gtgattagg catctctcac cctgtggggg cctctgtcgt 14100
tacaggttgg ccttttgaca atgccacatg caagatgagc ggcttggtac agggcatgtc 14160
cgtgtctgcg tcggttttca cactgggtggc cattgccgtg gagaggtgag aaccttcctt 14220
gggtaattct gggactggca cgctgggact agctagatgg ttgtaggag agatcggttg 14280
agaataccac cccatccctt tctgggaggc agaggccact cctgacaaga tctcatagca 14340
atttctgggg tctgtcaag gcagtctgca tcctgggtac caggagtccc acctctcctt 14400
tgtttgagcc cggaagcca gagctagagg agcctgtctg cagatgggct tggcatagct 14460
gggaaggacc gacctttttt gtttctatat tctatctact tgctgggtgc tggaagccct 14520
ggctttactc cgtctgcatg tctgtcgtt ctggtcaccc agcctttgcc tccagcagag 14580
gctagagtaa gaatcactct ggatgacaaa tggttctgta cgtgtggcca aggtgagctt 14640
aagctttcct tcccagaaca cacagatgtg accccacccc tgctcctcat taagtagctc 14700
agtatggcaa ggatggctca gtggttaaga gcacaggctg ttcttccaga ggtcctgagt 14760
tcaattccca gcaaccacat ggtggctcac agccatcttt agtgagaagc tgggtgccctc 14820
ttctgggtctt cagtcgtaca tgcaggagac tgttgttttag ctatgagaca cagagagaga 14880
gagagagaga gagagagaga gagagagaga gagagagaga gagagagaga acagggcaca 14940
gttgtgtgac tgtggtatct ctgaccagag agtagaaatg cttgtggttt acaaaccag 15000
aacagtgcag gttggcaaaa gtttctgcac gtattgtaaa tgccctgggac ttggctgacc 15060
tcagtttttag ccggaaggca gtctggatct agcaaatagt tcttctccaa tcattggggc 15120
gggggggggg ggggagcgga ggggggggct gtcaataggc tccaccactg atccactccc 15180
cagtcccagc tctgaggtt ttcagggagt ctataaacag ctaaaagtta cacctgttac 15240

atttgtgatg cgctgggtcaa gtggctcagt ggatcaaggt atggtcacca agcctcttga 15300
cctgaattcc attgctagga ccacatggta gaaagagatt gctgactgct gcagttgtct 15360
tttgtgtgga gagggagaaa aggctaagtg aaggagagg gagaacgaag cactaatacg 15420
tgtttttttaa aaaaagcggt tgtatatttg cctagtccgg cttcctaagc acagagtgtt 15480
tatacagac tgggctgtga tgcccgtac tgaataaaag aaaaaggaat aaaggaaagc 15540
ccatgactgc tccctggata tgggtggagg gaaagcttat tatagatatg tgggtgagaa 15600
cggccagagg caggacatc tccagagagt ccagagtggc cctgatcctg aacctcgtgg 15660
ggagaggggg agggggaggg agagcgggaa accaaaggtc agcagccatg aggccaaagg 15720
tgcaaaagga agtgggaggt agcccaaat gtctaggcta tataggagg agcctctgtg 15780
ggaagggcag ccagtgctt gggctggaga gttcagggtg gaggggtggg taggtcagct 15840
atacccagta acaggtagca accgagggat gctgggagaa cctaaaggcc aggtccgctt 15900
tgatatggta aataggaacc tcagtggcca gtccctgggt gaacccttag tactgccagc 15960
taatctgttt taaaataaag atctaagcct ctggagagag gttgttcctt cctcatctat 16020
tccactaaat ccacctaaag ccataacaat ttagccggac tgtgctgcct ccttcgcaa 16080
agacaaacca atttacttgt aaattaacct gattagtgc gaagcagttc tcgggtgctg 16140
cctaagtga gtgatgaatg tttggtatcg tattccagta gcatccgaaa ctgcctcaag 16200
taggggtgat aatgtcacgt gtccctcttc agtggcccct agtcaggtca tctctggccc 16260
gctgggcctc caggatcct ccagacact tactctgttt ctcttccac cccttcgct 16320
gcaggttccg ctgcatcgt caccctttcc gtgagaagct gaccctccgg aaggcgtgc 16380
tcaccatagc ggtgatctgg gcgctggcgc tgctcatcat gtgtccctcg gcggtcactc 16440
tgaccgtcac gcgagaggag catcacttca tgctggatgc tcgcaaccgc tctaccctc 16500
tctactcgtg ctgggaggcc tggcccgaga agggcatgcg caaggtctac accgccgtgc 16560
tcttcgcgca catctatctg gcgccgtgg cgctcatcgt ggtgatgtac gcgcgcatcg 16620
cgcgcaagct gtgccaggcc cccgtccag cgcgcgacgc ggaggaggcg gtggccgagg 16680
gtggccgcgc gtgcgcgcgc agggcccgcg tgggtcatat gctggtcatg gtggcgctct 16740
tcttcacctt gtccctggctg ccactctggg tgctgtgtgt gctcatcgac tacggggagc 16800
tgagcgagct gcagctgcac ttgtgtccg tctacgcctt cccgttggca cactggctgg 16860
ccttcttcca cagcagcgc aacccatta tctacggcta cttcaacgag aacttcgcc 16920

gcggcttcca ggctgccttc cgggcacagc tctgctggct tccctgggcc gccacaagc 16980
aagcctactc cgagcggcct ggccgcctcc tgcgcaggcg ggtgggtggg gacgtgcaac 17040
ccagcgactc agggctgcca tcggagtctg gcccagcag tggggtccca gggcctaacc 17100
ggctgccatt gcgcaatggg cgtgtggccc accaggatgg cccgaggga gggcctggct 17160
gcaaccacat gccctcact atcccagcct ggaacatttg aggtgggtcca gagagggaac 17220
gtcctgtagg cctgtggccc tgacccttaa ctatgatgcc tgggcacaat agcagtatta 17280
gaagagggtg ccgagatgcc tccttgataa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaac 17340
gagacagtga ggcattgaga cccagggaga ggtgacaagg tctcaccgtt gggaatccta 17400
cttgaccag actccagtaa gtctcccag gaaaatgtgt cactaggtgg ttaggaagag 17460
gtgaccactt ctacacactg agcacctgtg accgagtccc ctgtgctgtg ttgctgagag 17520
agctccctt ggccctttcc tgggaaacat ccaagctctc cgcttgccag ggccagtgtt 17580
tgagttgttt tattccagga agtgccatac ccaattcagc atgtcacaac tgagcagctc 17640
caagaagaac cctagggagc ccatttaa at ggcactgggt tgagcctaag ggagactccc 17700
ccccccccc ccagagccaa gcagagcttc caacagtacc aagagctcat ggggtggcagg 17760
caaggggaaa aggaagacag caatgccaac tctcccctca ggaaatatct tagtgggcca 17820
gtgagcatga acc 17833

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/10078

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ A61K38/27, 31/7088, 39/395, 45/00, 48/00, A61P3/04,
5/00, 5/38, 7/00, 9/00, 13/12, 15/00, 21/00, 21/04, 25/00,
25/02, 25/08, 25/14, 25/18, 25/20, 25/24, 27/02, 37/00,

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ A61K38/00-58, A61P21/00, 21/04

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2003
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2003 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2003

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAPLUS (STN), BIOSIS (STN), REGISTRY (STN), EMBASE (STN), MEDLINE (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 01/66134 A1 (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.), 13 September, 2001 (13.09.01), Full text; particularly, Claim 1 & EP 1262190 A1	1-12, 27, 28, 55, 56
A	EP 1132405 A1 (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.), 12 September, 2001 (12.09.01), Full text; particularly, Par. Nos. [0181], [0182] & WO 00/29441 A	1-12, 27, 28, 55, 56
A	UKENA, Kazuyoshi et al., Distribution of novel Rfamide-related peptide-like immunoreactivity in the mouse central nervous system, Neuroscience Letters, 2001, Vol.300, No.3, pages 153 to 156; full text	1-12, 27, 28, 55, 56

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
10 September, 2003 (10.09.03)

Date of mailing of the international search report
25 November, 2003 (25.11.03)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/10078

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	UKENA, Kazuyoshi et al., A novel rat hypothalamic RFamide-related peptide identified by immunoaffinity chromatography and mass spectrometry, FEBS Letters, 2002 February, Vol.512, No.1-3, pages 255 to 258; full text	1-12, 27, 28, 55, 56

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/10078

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

- 1.
- ☒
- Claims Nos.: 25, 26

because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claims 25 and 26 pertain to methods for treatment of the human body by therapy and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under the provisions of Article 17(2)(a)(i) of the PCT and Rule 39.1(iv) of the Regulations under the PCT, to search.

- 2.
- ☐
- Claims Nos.:

because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

- 3.
- ☐
- Claims Nos.:

because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
(See extra sheet.)

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
In the inventions according to claims 1 to 12, 27, 28, 55 and 56 of the present case, the relationship between the peptide represented by SEQ ID NO:1 and the use thereof described first in the claims, i.e., "myopathy" and "muscular depression".

Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/10078

Continuation of Box No.II of continuation of first sheet(1)

Claims 1 to 12, 27, 28, 55 and 56 (number of inventions:8)

It is recognized that the invention according to claim 1 of the present case relates to "a preventive, a remedy or an improving agent for myopathy, adrenal dysfunction, twitching, aggressive behaviors, gait abnormality, body temperature rise, leukopenia, thrombopenia, increase in voluntary behaviors or muscular depression - - - containing a polypeptide having an amino acid which is the same or substantially the same as the amino acid sequence represented by SEQ ID NO:1" and it is recognized that the part common to the remedies for the respective uses cited as alternatives in the claim resides in "a remedy - - - containing a polypeptide having an amino acid which is the same or substantially the same as the amino acid sequence represented by SEQ ID NO:1".

As described in claim 1 of the following document 1, "a remedy containing a polypeptide having an amino acid which is the same or substantially the same as the amino acid sequence represented by SEQ ID NO:1" had been publicly known. Thus, the above constitution cannot be considered as the gist of the invention because of not being a novel matter.

Also, it cannot be considered that they have any common problem that had remained unsolved until the application of the present case.

The same applies to claims 2 to 12, 27, 28, 55 and 56.

Such being the case, the 8 inventions described as alternatives in claims 1 to 12, 27, 28, 55 and 56, i.e., remedies to be applied respectively for "myopathy", "adrenal dysfunction", "twitching", "aggressive behaviors", "gait abnormality", "body temperature rise", "leukopenia" and "increase in voluntary behaviors" are not considered as a group of inventions so linked as to form a single general inventive concept.

(In counting the inventions, the combinations of "leukopenia" with "thrombopenia", and "myopathy" with "muscular depression" are each considered as a single invention.)

Claims 13 to 24, 27, 28, 55 and 56 (number of inventions:8)

It is recognized that the matter common to "a preventive, a remedy or an improving agent" having respective uses as described in the alternative form in claim 13 resides in "a remedy - - - containing a polypeptide having an amino acid which is the same or substantially the same as the amino acid sequence represented by SEQ ID NO:11".

As described in the following document 2, "a receptor protein OT7T022 having an amino acid which is the same or substantially the same as the amino acid sequence represented by SEQ ID NO:11 is useful in treating cystic macular edema" (p.49, lines 23-25). Thus, the above constitution cannot be considered as the gist of the invention because of not being a novel matter.

Also, it cannot be considered that they have any common problem that had remained unsolved until the application of the present case.

The same applies to claims 14 to 24, 27, 28, 55 and 56.

Such being the case, the 8 inventions described as alternatives in claims 14 to 24, 27, 28, 55 and 56 and having different uses are not considered as a group of inventions so linked as to form a single general inventive concept. (In counting the inventions, the combinations of "leukopenia" with "thrombopenia", and "myopathy" with "muscular depression" are each considered as a single invention.)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/10078

Continuation of Box No.II of continuation of first sheet(1)

The matter common to the invention according to claim 1 of the present case and the invention according to claim 13 resides in that "a preventive, a remedy or an improving agent for myopathy, adrenal dysfunction, twitching, aggressive behaviors, gait abnormality, body temperature rise, leukopenia, thrombopenia, increase in voluntary behaviors or muscular depression". However, remedies for myopathy and twitching had been well known by those skilled in the field of medicine prior to the application of the present case. Thus, the invention according to claim 13 and the invention according to claim 1 are not considered as a group of inventions so linked as to form a single general inventive concept. The same applies to claims 14 to 24, 27, 28, 55 and 56.

Claims 29 to 54 (number of inventions:1)

It is recognized that the inventions according to claims 29 to 54 of the present case relate to mammalian embryonic stem cells with inactivated OT7T0022 gene, a nonhuman mammal with the insufficient expression of OT7T0022 gene or a screening method using the animal. However, none of the stem cells, the nonhuman mammal and the screening method has any technical feature or problem common to the invention according to claim 1 of the present case.

Such being the case, the inventions according to claims 29 to 54 of the present case and the invention according to claim 1 of the present case are not considered as a group of inventions so linked as to form a single general inventive concept.

Document 1: WO 01/66134 A1 (Takeda Chemical Industries, Ltd.) 13 September, 2001 (13.09.01)

Document 2: EP 1132405 A1 (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD) 12 September, 2001 (12.09.01)

Continuation of A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

(International Patent Classification (IPC))

Int.Cl⁷ C12N5/06, 5/10, A01K67/027, C12Q1/02, 1/68, C07K14/47

(According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC)

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl⁷ A61K38/17, 31/7088, 39/395, 45/00, 48/00, A61P3/04, 5/00, 5/38, 7/00, 9/00, 13/12, 15/00, 21/00, 21/04, 25/00, 25/02, 25/08, 25/14, 25/18, 25/20, 25/24, 27/02, 37/00, C12N5/06, 5/10, A01K67/027, C12Q1/02, 1/68, C07K14/47

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl⁷ A61K38/00-58, A61P21/00, 21/04

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2003年
日本国登録実用新案公報	1994-2003年
日本国実用新案登録公報	1996-2003年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAPLUS (STN) BIOSIS (STN)
 REGISTRY (STN) EMBASE (STN)
 MEDLINE (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	WO 01/66134 A1 (武田薬品工業株式会社) 2001. 09. 13, 全文, 特に請求項1 & EP 1262190 A1	1-12, 27, 28, 55, 56
A	EP 1132405 A1 (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD) 2001. 09. 12, 全文, 特に段落番号 【0181】, 【0182】 & WO 00/29441 A1	1-12, 27, 28, 55, 56
A	UKENA, Kazuyoshi <i>et al</i> , Distribution of novel RFamide-related peptide-like immunoreactivity in the mouse central nervous system, Neuroscience Letters, 2001, Vol.300, No.3, pp153-156, 全文	1-12, 27, 28, 55, 56

☒ C欄の続きにも文献が列举されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
 「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

10. 09. 03

国際調査報告の発送日

25.11.03

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)
 郵便番号 100-8915
 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

浜田 麻子



4C

2938

電話番号 03-3581-1101 内線 3451

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	UKENA, Kazuyoshi <i>et al</i> , A novel rat hypothalamic RFamide-related peptide identified by immunoaffinity chromatography and mass spectrometry, FEBS Letters, 2002 Feb., Vol. 512, No. 1-3, pp255-258, 全文	1-12, 27, 28, 55, 56

第I欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項(PCT17条(2)(a))の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 25, 26 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、
請求の範囲25, 26は、治療による人体の処置方法に関するものであって、PCT第17条(2)(a)(i)及びPCT規則39.1(iv)の規定により、この国際調査機関が国際調査を行うことを要しない対象に係るものである。
2. ☐ 請求の範囲 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第II欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

別紙参照

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☒ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。
本願の請求の範囲1-12, 27, 28, 55, 56に係る発明のうち、配列番号1で表されるペプチドと、請求の範囲に最初に記載された用途である「筋疾患」及び「筋力低下」との関連について

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。

第Ⅱ欄

請求の範囲1-12, 27, 28, 55, 56について（発明数8）

本願の請求の範囲1に係る発明は、「配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド～（略）を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋低下の予防・治療・改善剤」であると認められ、当該請求の範囲に択一的に記載されたそれぞれの用途に用いられる治療剤の共通部は、「配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド～（略）を含有してなる治療剤」であると認められる。

ここで、下記文献1の請求項1に記載のとおり、「配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドを含有してなる治療剤」は公知であるため、当該構成は新規な事項とは認められず、発明の主要部とみることができない。

また、それらがこの出願時まで未解決であった技術上の共通の課題を持つものとも認められない。

さらに、請求の範囲2-12, 27, 28, 55, 56についても同様である。

したがって、本願の請求の範囲1-12, 27, 28, 55, 56に択一的に記載された8つの発明、つまり、公知の有効成分を共通して含有し、「筋疾患」、「副腎機能障害」、「痙攣」、「攻撃性行動」、「歩行異常」、「体温上昇」、「白血球数減少」、「自発行動量の増加」のそれぞれの疾患に適用される治療剤は、いずれも単一の一般的発明概念を形成するように互いに関連している一群の発明とは認められない。

（なお、「白血球数減少」及び「血小板数減少」、「筋疾患」及び「筋力低下」はそれぞれ1の発明として発明の数を認定した。）

請求の範囲13-24, 27, 28, 55, 56について（発明数8）

本願の請求の範囲13に択一的に記載されたそれぞれの用途を有する「予防・治療・改善剤」の共通部は、「配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド～（略）を含有してなる治療剤」であると認められる。

ここで、下記文献2には、「配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022が、嚢胞状黄斑浮腫の治療に有用であること」が記載されているため（第49頁第23-25行）、当該構成は新規な事項とは認められず、発明の主要部とみることができない。

また、それらがこの出願時まで未解決であった技術上の共通の課題を持つものとも認められない。

さらに、請求の範囲14-24, 27, 28, 55, 56についても同様である。

したがって、本願の請求の範囲14-24, 27, 28, 55, 56に択一的に記載された、異なる用途を有する8つの発明はいずれも、単一の一般的発明概念を形成するように互いに関連している一群の発明とは認められない。（発明の数の認定においては、「白血球数減少」及び「血小板数減少」、「筋疾患」及び「筋力低下」はそれぞれ1の発明とした。）

なお、本願の請求の範囲1に係る発明と、請求の範囲13に係る発明の共通部は「筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋低下の予防・治療・改善剤」であるが、本願出願前の医薬品の分野においては、筋疾患や痙攣等の治療剤は当業者に周知であると認められるところ、本願の請求の範囲13に係る発明は、請求の範囲1に係る発明と単一の一般的発明概念を形成するように関連している一群の発明とは認められない。そして、請求の範囲14-24, 27, 28, 55, 56についても同様である。

請求の範囲29-54について（発明数1）

本願請求の範囲29-54に係る発明は、OT7T022遺伝子が不活性化された哺乳動物胚幹細胞、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト哺乳動物、または当該動物を用いたスクリーニング方法であると認められるが、当該幹細胞、非ヒト哺乳動物、スクリーニング方法のいずれも、本願の請求の範囲1に係る発明と共通の技術的特徴または課題を有していない。

したがって、本願の請求の範囲29-54に係る発明は、本願の請求の範囲1に係る発明と単一の一般的発明概念を形成するように関連している一群の発明とは認められない。

文献1：WO 01/66134 A1(武田薬品工業株式会社)2001.09.13

文献2：EP 1132405 A1(TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD)2001.09.12