

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4251983号
(P4251983)

(45) 発行日 平成21年4月8日(2009.4.8)

(24) 登録日 平成21年1月30日(2009.1.30)

(51) Int.Cl.

F 1

C 12 N	15/09	(2006.01)	C 12 N	15/00	Z N A A
C 12 N	5/10	(2006.01)	C 12 N	5/00	A
A 6 1 P	7/06	(2006.01)	A 6 1 P	7/06	
A 6 1 P	43/00	(2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 O 5
C 0 7 K	14/47	(2006.01)	C 0 7 K	14/47	

請求項の数 11 (全 96 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2003-503664 (P2003-503664)	(73) 特許権者	000001029 協和発酵キリン株式会社 東京都千代田区大手町1丁目6番1号
(86) (22) 出願日	平成14年6月11日 (2002.6.11)	(74) 代理人	100100549 弁理士 川口 嘉之
(65) 公表番号	特表2005-507240 (P2005-507240A)	(74) 代理人	100090516 弁理士 松倉 秀実
(43) 公表日	平成17年3月17日 (2005.3.17)	(74) 代理人	100089244 弁理士 遠山 勉
(86) 國際出願番号	PCT/JP2002/005807	(72) 発明者	西川 光郎 日本国群馬県高崎市宮原町3番地 麒麟麦酒株式会社 医薬探索研究所内
(87) 國際公開番号	W02002/100898		
(87) 國際公開日	平成14年12月19日 (2002.12.19)		
審査請求日	平成17年5月23日 (2005.5.23)		
(31) 優先権主張番号	60/297,286		
(32) 優先日	平成13年6月11日 (2001.6.11)		
(33) 優先権主張国	米国(US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持し得るポリペプチドおよびそれをコードするDNA

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

以下の(A)のポリペプチドをコードするDNA。

(A)配列番号23のアミノ酸配列を含むポリペプチド。

【請求項2】

以下の(a)のDNAである請求項1記載のDNA。

(a)配列番号22において塩基番号630~1358からなる塩基配列を含むDNA。

【請求項3】

請求項1または2に記載のDNAを発現可能な形態で含む発現ベクター。

【請求項4】

請求項1または2に記載のDNAが発現可能な形態で導入された細胞。

【請求項5】

請求項1または2に記載のDNAの発現産物であり、BFU-Eの増殖または生存を支持する活性を有するポリペプチド。

【請求項6】

配列番号23のアミノ酸配列を含むポリペプチド。

【請求項7】

ポリエチレンギリコール(P EG)、デキストラン、ポリ(N-ビニル-ピロリドン)、ポリプロピレンギリコールホモポリマー、ポリプロピレンオキシド/エチレンオキシドのコポリマー、ポリオキシエチル化ポリオール、ポリビニルアルコールのいずれか、またはそ

これらの2種以上の組合せによって修飾された請求項5又は6に記載のポリペプチド。

【請求項8】

以下の(A)のポリペプチドをコードするDNAが強発現したストローマ細胞をBFU-Eと共に培養することを含む、BFU-Eの増殖または生存を支持する方法。

(A)配列番号23のアミノ酸配列を含むポリペプチド。

【請求項9】

DNAが以下の(a)のDNAである請求項8記載の方法。

(a)配列番号22において塩基番号630～1358からなる塩基配列を含むDNA。

【請求項10】

以下の(A)のポリペプチドであって、その存在下でBFU-Eを培養したときにBFU-Eの増殖または生存を支持する活性を示すポリペプチドの存在下でBFU-Eを培養することを含む、BFU-Eの増殖または生存を支持する方法。 10

(A)配列番号23のアミノ酸配列を含むポリペプチド。

【請求項11】

以下の(A)のポリペプチドであって、その存在下でBFU-Eを培養したときに、BFU-Eの増殖または生存を支持する活性を示すポリペプチドを有効成分として含む、BFU-Eの増殖または生存を支持し得る医薬組成物。

(A)配列番号23のアミノ酸配列を含むポリペプチド。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

20

【0001】

本発明は、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持し得るポリペプチド、同ポリペプチドをコードするDNA、および、同ポリペプチドを含む医薬組成物に関する。

【背景技術】

【0002】

生体中の成熟血液細胞の寿命は短期間であり、絶えず造血前駆細胞の分化により成熟血液細胞が供給されることにより、血液の恒常性が保たれている。造血前駆細胞は、さらに未分化な造血幹細胞により生成する。造血幹細胞は、すべての分化系列に分化できる能力(分化多能性)を有しているとともに、分化多能性を保持したまま自己複製することで生涯にわたり、造血細胞を供給する。つまり、造血幹細胞は自己複製をすることで多能性幹細胞を生じるとともに、一部は造血前駆細胞を経て各種の成熟血液細胞に分化することが知られている。 30

【0003】

このような血液細胞の分化は、種々のサイトカインにより調節されている。エリスロポエチンは赤血球系の細胞の分化を促進し、G-CSFは好中球系の、トロンボポエチンは巨核球、血小板産生細胞の分化を促進することが知られている。しかしながら、造血幹細胞が分化多能性を保持したまま自己複製するに際し、どのような因子が必要とされるかは分かっていない。造血幹細胞の増殖因子として、SCF/MGF(Williams, D. E., Cell, 63:167-174, 1990; Zsebo, K. M., Cell, 63:213-224, 1990)や、SCGF(WO98/08869)などいくつかの報告があるが、いずれも造血幹細胞の分化多能性を十分に維持する作用を有していない。また、既知のサイトカインを複数組み合わせて添加することにより造血幹細胞を培養する試みがなされているが、造血幹細胞を効率的に増幅させる系の確立はされていない(Miller CL, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 94:13648-13653, 1997; Yagi M., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 96: 8126-8131, 1999; Shih C. C. Blood, 94:5 1623-1636 1999)。 40

【0004】

一方、造血幹細胞の維持、増殖に適した環境を提供するストローマ細胞を利用して造血幹細胞を分化させずに維持、増殖させる試みがなされている(Moore K. A., Blood, 89:124337-4347 1997)。また、WO99/03980には、マウス胎児のAGM(Aorta-Gonad-Mesonephros)領域から樹立された、造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖または生存を支持し得る

50

ストローマ細胞株が開示されている。

これまでの造血細胞に作用する因子に加え、ストローマ細胞とともに、あるいはサイトカインなどの刺激因子とともに、あるいは単独で、造血幹細胞、および造血前駆細胞を効率的に増幅させる効果を持つ新たなペプチドを見いだすことが可能であると考えられる。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

ストローマ細胞と造血幹細胞および造血前駆細胞の共培養により、造血幹細胞および造血前駆細胞の生体外での増殖または生存を支持することが可能であることから、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する因子がストローマ細胞により生産されていることが予想される。本発明は、ストローマ細胞から、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する因子を提供することを課題とするものである。

10

【課題を解決するための手段】

【0006】

本発明者らは、前述の如く、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する因子がマウス由来ストローマ細胞により生産されていることを予想した。そして、ストローマ細胞の中には、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する能力（以下、「造血幹細胞支持活性」ということがある）を持つストローマ細胞と造血幹細胞支持活性をもたないストローマ細胞が存在することに注目した。本発明者らは、このような能力の違いは、造血幹細胞支持活性を担う因子をコードする遺伝子の発現が造血幹細胞支持活性を持つストローマ細胞では亢進し、造血幹細胞支持活性を持たないストローマ細胞では低いことによると推測し、造血幹細胞支持活性を有する細胞において発現の高い遺伝子の中から造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する因子を同定することが可能であると考えた。その結果、造血幹細胞支持活性を有するAGM-s3-A9細胞で発現が高く、造血幹細胞支持活性を有さないAGM-s3-A7細胞で発現が低い、あるいは発現していない遺伝子を同定し、これらの遺伝子群を強発現させた細胞の造血幹細胞支持活性を評価することにより、本発明を完成するに至った。

20

【0007】

すなわち、本発明は以下のとおりである。

(1) 以下の(A)または(B)のポリペプチドをコードするDNA。

30

(A) 配列番号19、配列番号23、および、配列番号25からなる群から選ばれるアミノ酸配列を少なくとも有するポリペプチド。

(B) (A)に記載のアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が置換、欠失または挿入されたアミノ酸配列を有し、かつ、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を有するポリペプチド。

【0008】

(2) 以下の(a)または(b)のDNAである(1)記載のDNA。

(a) 配列番号18において塩基番号1~444からなる塩基配列、配列番号22において塩基番号630~1358からなる塩基配列、および、配列番号24において塩基番号132~506からなる塩基配列からなる群から選ばれる塩基配列を少なくとも有するDNA。

40

(b) (a)に記載の塩基配列を有するDNAまたは同DNAから調製され得るプローブとストリンジエントな条件下でハイブリダイズし、かつ、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を有するポリペプチドをコードするDNA。

【0009】

(3) 前記ストリンジエントな条件が、 $6 \times$ SSC、 $5 \times$ Denhardt、0.5% SDS、68 (SSC; 3M NaCl、0.3M クエン酸ナトリウム) ($50 \times$ Denhardt; 1% BSA、1% ポリビニルピロリドン、1% Ficoll 400) または $6 \times$ SSC、 $5 \times$ Denhardt、0.5% SDS、50% ホルムアミド、42 である(2)記載のDNA。

【0010】

50

(4) (1) ~ (3) のいずれかに記載のDNAを発現可能な形態で含む発現ベクター。

【0011】

(5) (1) ~ (3) のいずれかに記載のDNAが発現可能な形態で導入された細胞。

【0012】

(6) (1) ~ (3) のいずれかに記載のDNAの発現産物であり、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を有するポリペプチド。

【0013】

(7) 配列番号19、配列番号23、および、配列番号25からなる群から選ばれるアミノ酸配列、または、このアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が置換、欠失または挿入されたアミノ酸配列を有する(6)記載のポリペプチド。
10

【0014】

(8) ポリエチレングリコール(PEG)、デキストラン、ポリ(N-ビニル-ピロリドン)、ポリブロピレングリコールホモポリマー、ポリブロピレンオキシド/エチレンオキシドのコポリマー、ポリオキシエチル化ポリオール、ポリビニルアルコールのいずれか、またはそれらの2種以上の組合せによって修飾された(6)または(7)に記載のポリペプチド。

【0015】

(9) (6) ~ (8) のいずれかに記載のポリペプチドに結合するモノクローナル抗体。
20

【0016】

(10) 以下の(A)または(B)のポリペプチドをコードするDNAが発現したストローマ細胞を造血幹細胞または造血前駆細胞と共に培養することを含む、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する方法。

(A) 配列番号9、配列番号11、配列番号13、配列番号15、配列番号17、配列番号19、配列番号21、配列番号23、配列番号25、配列番号27、および、配列番号29からなる群から選ばれるアミノ酸配列を少なくとも有するポリペプチド。

(B) (A)に記載のアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が置換、欠失または挿入されたアミノ酸配列を有し、かつ、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を有するポリペプチド。
30

【0017】

(11) DNAが以下の(a)または(b)のDNAである(10)記載の方法。

(a) 配列番号8において塩基番号1~1671からなる塩基配列、配列番号10において塩基番号1~1674からなる塩基配列、配列番号12において塩基番号1~366からなる塩基配列、配列番号14において塩基番号84~1121からなる塩基配列、配列番号16において塩基番号1~1035からなる塩基配列、配列番号18において塩基番号1~444からなる塩基配列、配列番号20において塩基番号1~444からなる塩基配列、配列番号22において塩基番号630~1358からなる塩基配列、配列番号24において塩基番号132~506からなる塩基配列、配列番号26において塩基番号1~2487からなる塩基配列、および、配列番号28において塩基番号1~2496からなる塩基配列からなる群から選ばれる塩基配列を少なくとも有するDNA。
40

(b) (a)に記載の塩基配列を有するDNAまたは同DNAから調製され得るプローブとストリングエントな条件下でハイブリダイズし、かつ、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を有するポリペプチドをコードするDNA。

【0018】

(12) 以下の(A)または(B)のポリペプチドであって、その存在下で造血幹細胞または造血前駆細胞を培養したときに造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を示すポリペプチドの存在下で造血幹細胞または造血前駆細胞を培養することを含む、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する方法。

(A) 配列番号9、配列番号11、配列番号13、配列番号15、配列番号17、配列番
50

号19、配列番号21、配列番号23、配列番号25、配列番号27、および、配列番号29からなる群から選ばれるアミノ酸配列を少なくとも有するポリペプチド。

(B)(A)に記載のアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が置換、欠失または挿入されたアミノ酸配列を有し、かつ、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を有するポリペプチド。

【0019】

(13) 以下の(A)または(B)のポリペプチドであって、その存在下で造血幹細胞または造血前駆細胞を培養したときに、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を示すポリペプチドを有効成分として含む、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持し得る医薬組成物。

(A) 配列番号9、配列番号11、配列番号13、配列番号15、配列番号17、配列番号19、配列番号21、配列番号23、配列番号25、配列番号27、および、配列番号29からなる群から選ばれるアミノ酸配列を少なくとも有するポリペプチド。

(B)(A)に記載のアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が置換、欠失または挿入されたアミノ酸配列を有し、かつ、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を有するポリペプチド。

【0020】

本明細書において用いる用語につき、以下の通り定義する。

造血幹細胞とは、血球の全ての分化系列に分化し得る多分化能を有する細胞であり、かつ、その多分化能を維持したまま自己複製することが可能な細胞である。造血前駆細胞とは、単一の血液細胞分化系列あるいは、全てではない複数の分化系列に分化できる細胞を称する。ストローマ細胞とは、生体内の造血環境を模してインビトロで造血環境を再現させようとするときに使用できる造血幹細胞と共に培養に供すことが可能な細胞を指す。インビトロで造血細胞と共に培養できる細胞であればその由来を問わない。

【0021】

赤血球前駆細胞は、インビトロの培養環境で維持増幅させることは困難であり急速に消失してしまう。赤血球前駆細胞の維持、増殖が確認される場合は、より未分化な造血幹細胞あるいは造血前駆細胞が維持、増殖されることで、赤血球前駆細胞が継続的に產生されていることと考えられる。従い、ヒト造血幹細胞の評価系では、赤血球前駆細胞(BFU-E、CFU-E、CFU-Emix)が維持、増殖されているかを指標として造血幹細胞あるいは未分化な造血前駆細胞が増殖していることを確認することができる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0022】

以下、本発明を詳細に説明する。

造血幹細胞支持活性を有するAGM-s3-A9細胞で発現が高く、造血幹細胞支持活性を有さないAGM-s3-A7細胞で発現が低い、あるいは発現していない遺伝子として同定され、それを強発現させた細胞において造血幹細胞支持活性が増強または付与されたことが確認された遺伝子は以下のものである。なお、遺伝子の番号は便宜のために本発明者らにより付与されたものである。

【0023】

遺伝子SCR-2

GenBank登録番号AF185613のマウス遺伝子Mus musculus glyican-1(GPC-1)と同一の遺伝子である。

【0024】

マウス由来のものの塩基配列及びその塩基配列から推測されるアミノ酸配列を配列番号8に示す。また、アミノ酸配列のみを配列番号9に示す。

【0025】

GPC-1のヒトアミノ酸配列はGenBank登録番号P35052に、ヒト塩基配列はGenBank登録番号AX020122で登録されている。ヒトの遺伝子でも同様の活性が検出されると考えてよい。

【0026】

10

20

30

40

50

ヒト由来のものの塩基配列及びその塩基配列から推測されるアミノ酸配列を配列番号10に示す。また、アミノ酸配列のみを配列番号11に示す。

【0027】

グリピカンは、細胞表面に存在する主要なヘパラン硫酸プロテオグリカンであり、システインに富む球状領域(cysteine rich globular domain)、短いグリコサミノグリカン結合領域、グリコシルフォスファチジルイノシトール膜結合領域の特徴的な構造を有している。これまでにグリピカン-1からグリピカン-6までの6種類のファミリー遺伝子が発見されている。(J Biol Chem 1999 Sep 17;274(38):26968-77, Glypican-6, a new member of the glypican family of cell surface heparan sulfate proteoglycans. Veugelers M, De Cat B, Ceulemans H, Bruystens AM, Coomans C, Durr J, Vermeesch J, Marynen P, David G) 10

【0028】

GPC-1の生物学活性については、種々の報告がなされている。ヘパリン結合性の成長因子(fibroblast growth factor 2 (FGF2)、heparin-binding EGF-like growth factor (HB-EGF))の増殖刺激活性を調節し、これらの増殖因子の刺激によるオートクライン増殖するガン細胞の増殖を促進する。(J Clin Invest 1998 Nov 1;102(9):1662-73, The cell-surface heparan sulfate proteoglycan glypican-1 regulates growth factor action in pancreatic carcinoma cells and is overexpressed in human pancreatic cancer. Kleeff J, Ishiwata T, Kumbasar A, Friess H, Buchler MW, Lander AD, Korc M)。HGF(hepatocyte growth factor)と結合し、抗原特異的なB細胞のサイトカインに対する反応性を促進する。細胞と接着分子との会合に関与し細胞の浸潤性に関与する(J Biol Chem 1998 Aug 28;273(35):22825-32, Heparan sulfate proteoglycans as adhesive and anti-invasive molecules. Syndecans and glypican have distinct functions. Liu W, Litwack ED, Stanley MJ, Langford JK, Lander AD, Sanderson RD)。これらの知見は、GPC-1が種々の細胞刺激因子の活性発現に関与することを示している。また、グリピカンファミリー遺伝子の骨髄での発現を確認した報告もある(Biochem J 1999 Nov 1;343 Pt 3:663-8, Expression of proteoglycan core proteins in human bone marrow stroma. Schofield KP, Gallagher JT, David G)。しかし、これらの報告では、造血幹細胞あるいは造血前駆細胞へのGPC-1の作用について記載されていない。 20

【0029】

遺伝子SCR-3

GenBank登録番号U15209、Mus musculus chemokine MMRP2 mRNA, U19482、Mus musculus C10-like chemokine mRNA、U49513、Mouse macrophage inflammatory protein-1gamma mRNAのマウス遺伝子と同一の遺伝子である。

【0030】

マウス由来のものの塩基配列及びその塩基配列から推測されるアミノ酸配列を配列番号12に示す。また、アミノ酸配列のみを配列番号13に示す。

【0031】

遺伝子SCR-4

マウス由来のものの塩基配列及びその塩基配列から推測されるアミノ酸配列を配列番号14に示す。また、アミノ酸配列のみを配列番号15に示す。 40

【0032】

この配列は、GenBank登録番号AF131820 Homo sapiens clone 25077 mRNA、sequenceと高い相同意が確認され、AF131820のマウスオーソログと判断される。また、この配列はWO 00/66784に記載されている。

【0033】

ヒト由来のものの塩基配列及びその塩基配列から推測されるアミノ酸配列を配列番号16に示す。また、アミノ酸配列のみを配列番号17に示す。

【0034】

遺伝子SCR-5

50

マウス由来のものの塩基配列及びその塩基配列から推測されるアミノ酸配列を配列番号18に示す。また、アミノ酸配列のみを配列番号19に示す。

【0035】

この配列は、GenBank登録番号AF325503 Homo sapiens esophageal cancer related gene 4 protein (ECRG4) mRNAと高い相同意が確認され、AF325503のマウスオーソログと判断される。

【0036】

ヒト由来のものの塩基配列及びその塩基配列から推測されるアミノ酸配列を配列番号20に示す。また、アミノ酸配列のみを配列番号21に示す。

【0037】

10

遺伝子SCR-6

マウス由来のものの塩基配列及びその塩基配列から推測されるアミノ酸配列を配列番号22に示す。また、アミノ酸配列のみを配列番号23に示す。

【0038】

遺伝子SCR-7

マウス由来のものの塩基配列及びその塩基配列から推測されるアミノ酸配列を配列番号24に示す。また、アミノ酸配列のみを配列番号25に示す。

【0039】

遺伝子SCR-8

GenBank登録番号AB009673 Mus musculus mRNA for ADAM23、と同一の遺伝子である。20

【0040】

マウス由来のものの塩基配列及びその塩基配列から推測されるアミノ酸配列を配列番号26に示す。また、アミノ酸配列のみを配列番号27に示す。

【0041】

この配列は、特開平11-155574に記載された配列と高い相同意を示し、従って、特開平11-155574に記載の配列はヒトオーソログ遺伝子と判断される。

【0042】

ヒト由来のものの塩基配列及びその塩基配列から推測されるアミノ酸配列を配列番号28に示す。また、アミノ酸配列のみを配列番号29に示す。

【0043】

30

これらの遺伝子の産物であるポリペプチドは、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を有する。造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を有するとは、そのポリペプチドの存在下で、または、そのポリペプチドを発現するストローマ細胞の存在下で、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存が支持されることをいう。

【0044】

従って、本発明は、上記ポリペプチド及びそれをコードするDNAの用途、及び、そのうちの新規なポリペプチド及びそれをコードするDNAを提供するものである。

【0045】

上記のDNAによりコードされるポリペプチドである幹細胞増殖支持因子は、前記DNAを適当な宿主細胞に導入して形質転換細胞を調製し、該形質転換細胞中で前記DNAを発現させることによって製造することができる。40

【0046】

上記のDNAは、コードされる幹細胞増殖支持因子の活性が損なわれない限り、1若しくは数個のアミノ酸が置換、欠失または挿入された同因子をコードするものであってもよい。このような幹細胞増殖支持因子と実質的に同一のポリペプチドをコードするDNAは、例えは部位特異的変異法によって、特定の部位のアミノ酸残基が置換、欠失、挿入、付加、または逆位を含むように塩基配列を改変することによって得られる。

【0047】

上記のような変異を有するDNAを、適当な細胞で発現させ、発現産物の造血幹細胞支

50

持活性を調べることにより、幹細胞増殖支持因子と実質的に同一の機能を有するポリペプチドをコードするDNAが得られる。また、変異を有する幹細胞増殖支持因子をコードするDNAまたはこれを保持する細胞から、例えば配列番号8、10、12、14、16、18、20、22、24、26もしくは28記載の塩基配列を有するDNA、またはこれらのDNAから調製され得るプローブヒストリングエントな条件下でハイブリダイズし、かつ、造血幹細胞支持活性を有するタンパク質をコードするDNAを単離することによつても、幹細胞増殖支持因子と実質的に同一のタンパク質をコードするDNAが得られる。プローブの長さは通常には300～1000塩基である。ストリングエントな条件としては、例えば、70%以上、好ましくは80%以上の相同性(DNASIS version 3.7(日立ソフトウェアエンジニアリング社製)のcompare機能のhomology searchを用いて特定することができる)を有するDNAがハイブリダイズし、それよりも相同性の低いDNA同士がハイブリダイズしない条件が挙げられる。前記ストリングエントな条件としては、6×SSC、5×Denhardt、0.5% SDS、68(SSC; 3M NaCl、0.3M クエン酸ナトリウム)(50×Denhardt; 1% BSA、1% ポリビニルピロリドン、1% Ficoll 400)または6×SSC、5×Denhardt、0.5% SDS、50% ホルムアミド、42などが挙げられる。
10

【0048】

上記のDNAを発現させるための宿主としては、エシェリヒア・コリ(Escherichia coli)、酵母等の微生物、動物または植物由来の培養細胞等が用いられる。宿主としては、哺乳動物由来の培養細胞が好ましい。尚、原核細胞を宿主とする場合は、シグナルペプチド部位を、-ラクタマーゼ(bla)、アルカリリフォスファターゼ(phoA)、外膜タンパク質A(ompA)等の原核細胞に適したリーダー配列に置換するか、成熟型タンパク質のN末端部位にメチオニン残基を付加した状態で発現させると良い。
20

【0049】

上記のDNAの宿主細胞への導入は、例えば、宿主に対応したベクターに、上記のDNAを発現可能な形態で組み込み、得られる組換えベクターを宿主細胞に導入することによって行うことができる。

【0050】

哺乳動物由来の培養細胞としては、CHO細胞、293細胞、COS7細胞等が挙げられる。上記のDNAを発現させるためのプロモーターなどの発現調節配列は、上記遺伝子固有のものであっても、他の遺伝子由来のもの、例えばサイトメガロウイルスプロモーター、エロンゲーションファクター1プロモーター等であってもよい。
30

【0051】

また、動物培養細胞用のベクターとしては、プラスミドベクター、レトロウイルスベクター、アデノウイルスベクター(Neering, S.J., Blood, 88:1147, 1996)、ヘルペスウイルスベクター(Diloo, D., Blood, 89:119, 1997)、HIVベクターなどが挙げられる。

【0052】

組換えベクターを培養細胞に導入するには、培養細胞の形質転換に通常用いられている方法、例えば、リン酸カルシウム共沈殿法、リポソーム法、DEAEデキストラン法、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等が用いられる。

【0053】

本発明のポリペプチドには、配列番号9、配列番号11、配列番号13、配列番号15、配列番号17、配列番号19、配列番号21、配列番号23、配列番号25、配列番号27、または、配列番号29に示すアミノ酸配列を有するポリペプチドに加えて、このアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が置換、欠失または挿入されたアミノ酸配列を有し、かつ、造血幹細胞支持活性を有するポリペプチドも含まれる。すなわち、マウスおよびヒト由来の幹細胞増殖支持因子にアミノ酸が置換、欠失または挿入等の改変を加えたものであっても、幹細胞増殖支持因子の本質的な機能を保持するものは、幹細胞増殖支持因子と実質的に同等なものとみなすことができる。
40

【0054】

このような修飾された幹細胞増殖支持因子は、幹細胞増殖支持因子をコードするDNA

または該DNAを保持する宿主を変異剤で処理するか、または該DNAに部位特異的変異法によって特定の部位のアミノ酸が置換、欠失または挿入されるように変異を導入することによって、取得することができる。得られた変異ポリペプチドが、造血幹細胞支持活性を保持することは、後記実施例に示すように、変異型ポリペプチドの存在下で培養した造血幹細胞を、放射線照射したマウスへ移植し、移植後の末梢血液像を経時的に調べることによって、確認することができる。

【0055】

また、アミノ酸の欠失については、N末端および／またはC末端のアミノ酸配列を欠失したフラグメントであってもよい。N末端および／またはC末端のアミノ酸配列を欠失したフラグメントは通常の方法により得ることができ、フラグメントが、造血幹細胞支持活性を保持することは、変異ポリペプチドについて説明したのと同様にして確認することができる。特に、アミノ酸配列にシグナル配列や膜貫通領域と予測される部分がある場合には、それを指標にして造血幹細胞支持活性を有するフラグメントを予測できる。例えば、ヒトSCR-8のコードするタンパク質は、タイプIの1回膜貫通型のタンパク質であり、膜貫通領域を欠失した可溶性タンパク質であっても造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を有することが予測される。膜貫通領域は、アミノ酸配列に基づいて公知のプログラムにより予測できる。例えば、PSORT IIと呼ばれるプログラム（インターネットにより入手可能、URL: <http://psort.nibb.ac.jp/index.html>）により予測した場合、膜貫通領域は配列番号29において790～806位のアミノ酸であり、789位までのフラグメントでも造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を有することが予測される。

【0056】

上記DNAは、本発明によってそれらの塩基配列が明らかにされたので、それらの配列に基づいて作製したオリゴヌクレオチドをプライマーとするPCRによって、または該配列に基づいて作製したオリゴヌクレオチドをプローブとするハイブリダイゼーションによって、マウスまたはヒトのcDNAライブラリーもしくは染色体DNAライブラリーから、単離することによっても取得することができる。

【0057】

本発明のDNAは、本発明を完成するに際しては、後述するように、造血幹細胞支持活性を有するマウストローマ細胞株であるAGM-s3-A9細胞のcDNAライブラリーから、SBH法（Sequencing By Hybridization）（Drmanac, S., Nat. Biotechnol., 16, 54, 1998; Drmanac, R., Methods. Enzymol., 303, 165, 1999）によって単離した。造血幹細胞支持活性を有するマウストローマ細胞株は、WO99/03980号記載の方法によって、あるいは理化学研究所細胞開発銀行またはATCCより取得することができる。

【0058】

以下に、SBH法の概要について述べる。配列の異なる8または9塩基よりなるプローブを準備する。標的遺伝子の中にプローブと一致する配列が存在すれば、そのプローブは遺伝子とハイブリダイズすることができる。ハイブリダイズしたことはプローブをRIあるいは蛍光色素でラベルしておくことで、容易に確認できる。ライブラリーのクローンを一つずつピックアップしてメンプランにプロットする。そして、上記のプローブと繰り返しハイブリダイゼーションを行い、各クローンがどのプローブとハイブリダイズしたかを検出する。遺伝子ごとにハイブリダイズするプローブの組み合わせは決まっているので、同一の遺伝子にハイブリダイズするプローブの組み合わせは一定である。すなわち、ハイブリダイズするプローブの組み合わせから同一の遺伝子を一つのグループ（クラスター）として同定することができる。cDNAライブラリーの個々のクローンを、ハイブリダイズするプローブのパターンにより分類、計数することにより、個々の遺伝子のクローンがライブラリー中に何個含まれるか知ることができる。このようにして、各遺伝子のライブラリー中の発現頻度を同定することが可能である。

【0059】

cDNAライブラリーは造血幹細胞支持活性を有する細胞、および同活性を有しない細胞か

10

20

30

40

50

ら作製する。クラスタリングはこのcDNAライブラリーに対して行う。各細胞間での遺伝子発現状況を比較し、支持細胞で特異的に発現が亢進している遺伝子を選択する。これらの遺伝子についてさらに、前述の各細胞での発現状況を、ノーザンプロット解析によりさらに検討し、造血幹細胞支持活性を有する細胞に発現が高い遺伝子を取得する。

【0060】

上記の遺伝子は、上記の過程を経て取得された支持細胞に特異的に発現が高い遺伝子である。AGM-s3-A9細胞由来cDNAライブラリーより、全長遺伝子をクローン化した。

【0061】

さらに、遺伝子産物の造血支持能について評価するため遺伝子のORFを含む遺伝子断片をストローマ細胞にレトロウィルスベクターを用いて遺伝子導入し、同細胞の造血幹細胞造支持活性の変化を検討した。実際には、遺伝子を導入していないストローマ細胞またはコントロールベクターを導入したストローマ細胞と遺伝子を導入したストローマ細胞のそれぞれと、マウス造血幹細胞を共培養したのち、放射線照射マウスに造血細胞を移植した。移植したマウスでの共培養した造血細胞の生着について検討した。その結果、遺伝子を導入した細胞で共培養した造血幹細胞を移植したマウスでは、遺伝子を導入していない細胞と比較して、移植後のキメリズムが上昇していた。この結果は、遺伝子を発現させたストローマ細胞では、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖、生存を支持する活性が増強されたまたは付与されたことを示す。この結果から、上記の遺伝子の発現は、ストローマ細胞において上記活性を増強または付与する作用を持つことが明らかとなった。したがい、上記の遺伝子の産物は造血幹細胞または造血前駆細胞に作用し、その生存あるいは増殖を支持する活性を有する、あるいは、ストローマ細胞に作用し造血幹細胞支持活性を増強または付与する活性を有することが明らかになった。

10

20

30

【0062】

本発明のポリペプチドは、造血幹細胞または造血前駆細胞に作用し、その生存あるいは増殖を支持する活性を有するものである場合、すなわち、その存在下で造血幹細胞または造血前駆細胞を培養したときに造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を示す場合には、ヒト造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または支持のための医薬として用いることができる。当該医薬組成物は、ヒトの造血幹細胞または造血前駆細胞の生体外での増殖または生存の支持に利用することができる。末梢血幹細胞移植、臍帯血幹細胞移植などの造血幹細胞移植療法では、移植する造血幹細胞数が十分量取得できず移植が実施できないときがある。十分量の幹細胞が取得できない場合でも、該ポリペプチドを利用することで造血幹細胞数を試験管内で増幅し、必要量の造血幹細胞を取得し移植することが可能である。すなわち、該ポリペプチドを培養液に含む様な培地で造血幹細胞を培養することで、造血幹細胞を分化させずに増幅することができる。その際に、種々のサイトカインを添加し、造血幹細胞をより効率的に増幅することも可能と考えられる。

【0063】

本発明のポリペプチドを含む培地で造血幹細胞または造血前駆細胞を培養する際、用いる造血幹細胞または造血前駆細胞は、これらのいずれか一方が単離されたものであってもよく、これらの両方であってもよい。また、造血幹細胞または造血前駆細胞の少なくとも一方を含み、さらに他の造血細胞を含むのであってもよい。さらには、造血幹細胞または造血前駆細胞を含む細胞群から分画された造血幹細胞または造血前駆細胞を含む分画であってもよい。

40

【0064】

本発明の方法における造血幹細胞および造血前駆細胞の採取源としては、ヒトおよびマウス等の哺乳動物の胎児肝臓、骨髄、胎児骨髄、末梢血、サイトカインおよび／または抗癌剤の投与によって幹細胞を動員した末梢血、および臍帯血等が挙げられる。造血幹細胞を含む組織であればいずれであってもよい。

【0065】

造血幹細胞または造血前駆細胞を培養するにあたっては、いわゆる培養用のシャーレ、フラスコを用いた培養法が可能である。造血幹細胞または造血前駆細胞の培養は、培地組

50

成、pHなどを機械的に制御し、高密度での培養が可能なバイオリアクターによって改善することができる(Schwartz, Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.,88:6760,1991; Koller, M.R., Bio/Technology, 11:358, 1993; Koller, M.R.,Blood, 82: 378, 1993; Palsson, B.O., Bio/Technology, 11:368, 1993)。

【 0 0 6 6 】

本発明のポリペプチドをコードするDNAを発現するストローマ細胞は、DNAの発現に関して記載したようにして得ることができる。

【 0 0 6 7 】

ストローマ細胞と造血細胞の共培養は、骨髄を採取したのち、そのまま培養を行うことで可能である。また、骨髄を採取した上で、ストローマ細胞、造血細胞、その他の細胞群などを分離し、骨髄を採取した個人以外のストローマ細胞、造血細胞の組み合わせで共培養を実施することも可能である。また、ストローマ細胞のみを培養し増殖させた後に造血細胞を添加し共培養を実施することも可能である。その際に、ストローマ細胞を、細胞刺激因子を培養系に添加することによって、より有効に増殖、生存を支持することができる。このような細胞刺激因子として、具体的には、SCF(幹細胞因子)、IL-3(インターロイキン-3)、GM-CSF(顆粒球マクロファージ・コロニー刺激因子(granulocyte/macrophage colony-stimulating factor))、IL-6(インターロイキン-6)、TPO(トロンボポエチン)、G-CSF(顆粒球コロニー刺激因子(granulocyte colony-stimulating factor))、TGF- β (トランスフォーミング成長因子- β)、MIP-1a(Davatidis, G., J. Exp. Med. 167:1939, 1988)、などのサイトカインに代表される増殖因子、EPO(エリスロポエチン)のような造血ホルモン、ケモカイン、Wnt遺伝子産物、ノッチリガンドのような分化増殖調節因子、発生調節因子などがあげられる。

10

20

30

【 0 0 6 8 】

また、本発明のポリペプチドが、造血幹細胞または造血前駆細胞に作用し、その生存あるいは増殖を支持する活性を有するものである場合、すなわち、その存在下で造血幹細胞または造血前駆細胞を培養したときに造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を示す場合には、ストローマ細胞の非存在下で本発明のポリペプチドの組換え体を単独で、あるいは細胞刺激因子の存在下に造血幹細胞または造血前駆細胞に作用させることで、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖、生存を維持することが可能である。この際使用される細胞刺激因子としては、上記に記載してある細胞刺激因子などが挙げられる。

【 0 0 6 9 】

培養に用いる培地としては、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖、生存が害されない限り特に制限されない。例えばMEM- 培地(GIBCO BRL)、SF-02培地(三光純薬)、Opti-MEM培地(GIBCO BRL)、IMDM培地(GIBCO BRL)、PRMI1640培地(GIBCO BRL)、が好ましいものとして挙げられる。培養温度は、通常25~39℃、好ましくは33~39℃である。また、培地に添加する物質としては、ウシ胎児血清、ヒト血清、ウマ血清、インシュリン、トランスフェリン、ラクトフェリン、エタノールアミン、亜セレン酸ナトリウム、モノチオグリセロール、2-メルカプトエタノール、ウシ血清アルブミン、ピルビン酸ナトリウム、ポリエチレングリコール、各種ビタミン、各種アミノ酸が挙げられる。CO₂は、通常、4~6%であり、5%が好ましい。

40

【 0 0 7 0 】

造血幹細胞は、全ての造血系の分化系列へ分化が可能なので、試験管内で造血幹細胞を増幅後種々の細胞種に分化させ移植することが可能である。例えば、赤血球が必要であれば、患者の幹細胞を培養し増幅した後、EPOなどの赤血球分化誘導を促進する因子を利用して赤血球を主成分とする造血細胞を人為的に產生することが可能である。

【 0 0 7 1 】

本発明のポリペプチドを用いて培養された造血幹細胞または造血前駆細胞は、従来の骨髄移植や臍帯血移植に代わる血液細胞移植用の移植片として用いることができる。造血幹細胞の移植は、移植片が半永久的に生着させられることから、従来の血液細胞移植治療を

50

改善することができる。

【0072】

造血幹細胞の移植は、白血病に対する全身X線療法や高度化学療法を行う際に、これらの治療と組み合わせる他、種々の疾患に用いることができる。例えば、固形癌患者の化学療法、放射線療法等の骨髄抑制が副作用として生じる治療を実施する際に、施術前に骨髄を採取しておき、造血幹細胞、造血前駆細胞を試験管内で増幅し、施術後に患者に戻すことで、副作用による造血系の障害から早期に回復させることができ、より強力な化学療法を行えるようになり、化学療法の治療効果を改善することができる。また、本発明により得られる造血幹細胞ならびに造血前駆細胞を各種血液細胞に分化させ、それらを患者の体内に移入することにより、各種血液細胞の低形成により不全な状況を呈している患者の改善を図ることができる。また、再生不良性貧血などの貧血を呈する骨髄低形成に起因する造血不全症を改善することができる。その他、本発明の方法による造血幹細胞の移植が有効な疾患としては、慢性肉芽腫症、重複免疫不全症候群、無ガンマグロブリン血症、Wiskott-Aldrich症候群、後天性免疫不全症候群(AIDS)等の免疫不全症候群、サラセミア、酵素欠損による溶血性貧血、鎌状赤血球症等の先天性貧血、Gaucher病、ムコ多糖症等のリソゾーム蓄積症、副腎白質変性症、各種の癌または腫瘍等が挙げられる。10

【0073】

造血幹細胞の移植は、用いる細胞以外は、従来行われている骨髄移植や臍帯血移植と同様に行えばよい。

【0074】

上記のような造血幹細胞移植に用いられる可能性のある造血幹細胞の由来は、骨髄に限られず、前述したような胎児肝臓、胎児骨髄、末梢血、サイトカインおよび／または抗癌剤の投与によって幹細胞を動員した末梢血、および臍帯血等を用いることができる。20

【0075】

移植片は、本発明の方法によって產生した造血幹細胞および造血前駆細胞の他に、緩衝液等を含む組成物としてもよい。

【0076】

また、本発明により產生される造血幹細胞または造血前駆細胞は、ex vivoの遺伝子治療に用いることができる。造血幹細胞に対する遺伝子治療は、幹細胞が静止期にあり染色体との組換え率が低いこと、また、培養中に幹細胞が分化してしまうこと等から困難であったが、本発明を利用することによって、幹細胞を分化させずに増幅でき、遺伝子導入効率に大幅な改善が見込める。この遺伝子治療は、造血幹細胞または造血前駆細胞に外来遺伝子(治療用遺伝子)を導入し、得られる遺伝子導入細胞を用いて行われる。導入される外来遺伝子は、疾患によって適宜選択される。血液細胞を標的細胞とする遺伝子治療の対象となる疾患としては、慢性肉芽腫症、重複免疫不全症候群、無ガンマグロブリン血症、Wiskott-Aldrich症候群、後天性免疫不全症候群(AIDS)等の免疫不全症候群、サラセミア、酵素欠損による溶血性貧血、鎌状赤血球症等の先天性貧血、Gaucher病、ムコ多糖症等のリソゾーム蓄積症、副腎白質変性症、各種の癌または腫瘍等が挙げられる。30

【0077】

造血幹細胞または造血前駆細胞に治療用遺伝子を導入するには、通常動物細胞の遺伝子導入に用いられる方法、例えば、モロニーマウス白血病ウイルス等のレトロウイルスベクター、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルス(AAV)ベクター、単純ヘルペスウイルスベクター、HIVベクター等のウイルス由来の遺伝子治療に用いられる動物細胞用ベクター(遺伝子治療用ベクターについては、Verma, I.M., Nature, 389:239, 1997 参照)を用いる方法、リン酸カルシウム共沈法、DEAE-デキストラン法、エレクトロポレーション法、リポソーム法、リポフェクション法、マイクロインジェクション法等を用いることができる。これらの中では、標的細胞の染色体DNAに組み込まれて恒久的に遺伝子の発現が期待できるという点から、レトロウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクターまたはHIVベクターが好ましい。40

【0078】

例えば、アデノ随伴ウイルス（AAV）ベクターは、次のようにして作製することができる。まず、野生型アデノ随伴ウイルスDNAの両端のITR（inverted terminal repeat）の間に治療用遺伝子を挿入したベクタープラスミドと、ウイルスタンパク質を補うためのヘルパープラスミドを293細胞にトランスフェクションする。続いてヘルパーウイルスのアデノウイルスを感染させると、AAVベクターを含むウイルス粒子が産生される。あるいは、アデノウイルスの代わりに、ヘルパー機能を担うアデノウイルス遺伝子を発現するプラスミドをトランスフェクションしてもよい。次に、得られるウイルス粒子を造血幹細胞または造血前駆細胞に感染させる。ベクターDNA中において、目的遺伝子の上流には、適当なプロモーター、エンハンサー、インシュレーター等を挿入し、これらによって遺伝子の発現を調節することが好ましい。さらに、治療用遺伝子に加えて薬剤耐性遺伝子等のマークー遺伝子を用いると、治療用遺伝子が導入された細胞の選択が容易となる。治療用遺伝子は、センス遺伝子であってもアンチセンス遺伝子であってもよい。

【0079】

遺伝子治療用組成物は、本発明の方法によって產生された造血幹細胞および造血前駆細胞の他に、緩衝液、新規の活性物質等を含む組成物としてもよい。

【0080】

また、本発明のDNAを常法により発現ベクターに組み込み、遺伝子治療用のベクターを製造することができる。当該遺伝子治療用ベクターは、ヒトの造血幹細胞の維持・増殖を必要とする疾病的治療に有用である。すなわち、造血幹細胞に当遺伝子治療ベクターを導入し、*in vitro*で培養することで造血幹細胞、造血前駆細胞を優位に増殖させることができ可能となる。このように処理した造血幹細胞を体内に戻すことで、体内で造血幹細胞を増殖させることができ可能になる。また、当遺伝子治療ベクターを体内に移入することで体内的造血幹細胞の増殖を促進することができる。あるいは、患者から取得した骨髄細胞をそのまま培養し当遺伝子治療ベクターを移入することで培養系の中で造血幹細胞、前駆細胞を増殖させることができ可能になる。あるいは、骨髄よりストローマ細胞を分離培養し得られるストローマ細胞、間質幹細胞（mesenchymal stem cell）に当遺伝子治療ベクターを移入することで、造血幹細胞支持能を付与または上昇させることができる。

【0081】

また、実施例に示すとおり造血幹細胞支持能のないストローマ細胞に本発明のDNAを導入することにより造血幹細胞支持能を付与することが可能になることから、ヒトあるいはマウス由来のストローマ細胞に遺伝子移入することで造血幹細胞支持能を有するストローマ細胞を作製することができる。本発明のDNAを発現するストローマ細胞と造血幹細胞あるいは造血前駆細胞を共培養することで造血幹細胞あるいは造血前駆細胞を維持、増殖させ種々の治療に役立てることが可能である。

【0082】

本発明のDNAがストローマ細胞に発現されることで、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖、生存が維持されることから、本発明のDNAの発現を指標にしてストローマ細胞の造血幹細胞支持能を評価することが可能である。その方法としては、本発明のDNAによりコードされるポリペプチドに対する抗体を用いてストローマ細胞での発現を確認することが可能である。また、塩基配列からPCRプライマーを作製し、目的ストローマ細胞からRNAを調製し、RT-PCRを実施することで本発明のDNAの発現を確認することも可能である。上記抗体については後述する。

【0083】

また、本発明の医薬組成物は、ヒトに投与することもできる。本発明のポリペプチドを医療上許容される希釈剤、安定化剤、担体および／またはその他の添加物と混合することにより、ヒトの造血幹細胞または造血前駆細胞に対する増殖または支持作用を有する医薬組成物を製造することができる。その際、本発明のポリペプチドは、タンパク質の生体内での安定性を高める修飾剤によって修飾されていてもよい。このような修飾剤としては、ポリエチレンギリコール（PEG）、デキストラン、ポリ（N-ビニル-ピロリドン）、ポリプロピレンギリコールホモポリマー、ポリプロピレンオキシド／エチレンオキシドのコポ

10

20

30

40

50

リマー、ポリオキシエチル化ポリオール、ポリビニルアルコール等が挙げられる。PEGによるタンパク質の修飾は、例えば、PEGの活性エステル誘導体とタンパク質を反応させる方法、あるいは、PEGの末端アルデヒド誘導体とタンパク質とを還元剤の存在下で反応させる方法等によって行うことができる。このようなタンパク質の修飾については、特表平10-510980号に詳細に開示されている。

【0084】

本発明の医薬組成物をヒトに投与することによって、抗癌剤の副作用による造血抑制からの回復、骨髄移植、末梢血幹細胞移植、臍帯血移植時の造血細胞の早期回復、再生不良性貧血(AA)、骨髄異形成症候群(MDS)などの汎血球減少症の造血機能回復が期待できる。10

【0085】

本発明の抗体は、上記本発明のポリペプチドと特異的に反応する。本発明の抗体は、該ポリペプチドと特異的に反応し得るものであればモノクローナル抗体でもポリクローナル抗体でもよい。

【0086】

本発明の抗体は、常法に従って調製することができ、例えば、アジュバントとともに抗原で動物を一回あるいは数週間をはさんで複数回追加免疫する生体内(*in vivo*)の方法、免疫細胞を分離して適当な培養系で感作させる生体外(*in vitro*)の方法のいずれかの方法によって調製し得る。本発明の抗体を產生し得る免疫細胞としては、例えば脾細胞、扁桃腺細胞、リンパ節細胞などがあげられる。20

【0087】

抗原として使用するポリペプチドは、必ずしも上記の本発明のポリペプチド全体を使用する必要はなく、該ポリペプチドの一部分を抗原として使用してもよい。抗原が短いペプチド、特にアミノ酸20残基前後の場合は、キーホールリンペットヘモシアニンや牛血清アルブミンのような抗原性の高いキャリアタンパク質と化学修飾などによって結合させて用いるか、あるいは、キャリアタンパク質のかわりに分枝骨格を持つペプチド、例えばリジンコア MAPペプチド(Posnett et al., J. Biol. Chem. 263, 1719-1725, 1988; Lu et al., Mol. Immunol. 28, 623-630, 1991; Briand et al., J. Immunol. Methods 156, 255-265, 1992)と共有結合させて用いる。

【0088】

アジュバントは、例えば、フロイントの完全、または不完全アジュバントや水酸化アルミニウムゲルなどが用いられる。抗原を投与する動物としては例えばマウス、ラット、ウサギ、ヒツジ、ヤギ、ニワトリ、ウシ、ウマ、モルモット、ハムスターなどが用いられる。ポリクローナル抗体はこれらの動物から血液を採取して血清を分離し、硫酸沈澱および陰イオン交換クロマトグラフィーまたはプロテインAまたはGクロマトグラフィーで免疫グロブリンを精製して得られる。30

【0089】

ニワトリの場合、卵より抗体を精製することもできる。モノクローナル抗体は、例えば*in vitro*で感作した、あるいは上記動物の免疫細胞を培養可能な親細胞と融合させて作製したハイブリドーマ(hybridoma)細胞の培養上清から、もしくは同ハイブリドーマ細胞を動物腹腔内接種して得られる腹水から精製して調製することができる。親細胞としては、例えばX63、NS-1、P3U1、X63.653、SP2/0、Y3、SKO-007、GM1500、UC729-6、HM2.0、NP4-1細胞などがあげられる。また、*in vitro*で感作した、あるいは上記動物の免疫細胞にEBウイルスなどの適当なウイルスを感染させ、得られる不死化抗体産生細胞を培養することにより調製することもできる。40

【0090】

これら細胞工学的手法とは別に、*in vitro*で感作した、あるいは上記動物の免疫細胞から抗体遺伝子をPCR(polymerase chain reaction)反応によって増幅して取り出し、大腸菌等の微生物に導入して抗体を產生させたり、抗体を融合タンパク質としてファージ表面に発現させたりするなど、遺伝子工学的手法により得ることもできる。50

【0091】

本発明の抗体を用いて、生体におけるポリペプチドを定量する事により、ポリペプチドの各種疾患の病態との係わりを解明する事が出来、さらに同抗体は疾患の診断ひいては治療、且つポリペプチドの効率的なアフィニティー精製に資する事が出来る。

【0092】

本発明により、造血幹細胞または造血前駆細胞に作用し、その生存あるいは増殖を支持する活性を有する、あるいは、ストローマ細胞に作用し造血幹細胞支持活性を付与する活性を有するポリペプチド、およびそれをコードするDNAが提供される。本発明のポリペプチドを用いることにより、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖、生存を効率的に維持することが可能になる。

10

【0093】

以下、実施例により本発明をさらに具体的に説明する。

【実施例1】**【0094】**

造血幹細胞支持細胞に特異的に発現する遺伝子の断片の取得

(I) マウスAGM由来ストローマ細胞株の取得

(1) マウス胎児のAGM領域の分離

C3H/HeNSLcマウス（日本エスエルシー株式会社より購入）の雌雄を SPF (specific pathogen-free) の環境のもとで飼育した。1ないし2匹の雌を1匹の雄と一緒にケージにいれ、翌朝、臍栓の存在が確認された雌マウスを新しいケージに移して飼育した。臍栓の確認された日を懐胎0.5日とした。懐胎10.5日目のマウスを頸椎脱臼により死に至らしめた後、胎児を摘出した。AGMの分離は、Godin等(Godin, I., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 92:773-777, 1995)、Medvinsky等(Medvinsky, A.L., Blood, 87:557-565, 1996)の方法に準拠して実施した。胎児が浸る程度にPBS(-)（リン酸緩衝生理食塩水）（日本製薬製）を入れた培養皿に胎児を入れ、実体顕微鏡下で、AGM領域を他の領域を含まないように慎重に切除し、新たな24ウェルの培養皿(Nunc社)に移した。

20

【0095】

(2) AGM由来細胞株の樹立

24ウェルの培養皿(Nunc社)に移したAGM領域に、10% FCS(Hyclone社)を含むMEM培地(Sigma社)を一滴加え、一晩、培養器中で培養した。培養は、10% FCS(Hyclone社)を含むMEM培地(Sigma社)、37℃、5% CO₂、湿度100%の条件下で行った。一晩の培養で、AGM領域の細胞が培養皿に付着したところで、さらに、2mlの10% FCSを含むMEM培地を添加した。その後、培養を継続することにより、AGM領域組織片の周辺には次第にストローマ細胞が出現した。さらに1週間培養を継続した後、接着細胞をトリプシン処理(0.05% トリプシン, 0.53mM EDTA(Gibco BRL社)を含むPBS中、37℃、3~5分)によって剥がした後、培地で2回洗浄し、6ウェル培養皿(Nunc社)に播種した。翌日、培養皿に付着しなかった細胞を培地とともに除去し、新たに新鮮な培地を添加した。6ウェル培養皿に移してから2週間後に、内在する造血細胞を除去するため900 Radの線を照射した。この培養系から限界希釈法で直接細胞のクローニングを行ったが、細胞の増殖は認められず、クローニングすることはできなかった。そこで、一つのウェルに播種する細胞数を増やし、少ない細胞からの増殖に耐えられるように細胞を馴化してから限界希釈法によるクローニングを実施することとした。

30

【0096】

すなわち、上記と同様にして、AGMを摘出して培養を行い、線を照射してから2週間になる培養系をトリプシン処理(0.05% トリプシン, 0.53mM EDTAを含むPBS中、37℃、3~5分)して細胞を懸濁し、50~100細胞/ウェルとなるように24-ウェル培養皿に播種した。3週間培養を継続した後、限界希釈法により、0.3細胞/ウェルとなるように96ウェル培養皿(Nunc社)に細胞を播種し、一個の細胞のみが播種されているウェルから増殖してきた細胞を拡大培養した。その結果、線維芽細胞様の細胞と、敷石状の細胞が得られ、クローニングに成功した。

40

50

【0097】

ヒト臍帯血由来CD34陽性細胞分画を、線維芽細胞様の細胞と二週間共培養し、培養系中のコロニー形成細胞の有無について検討したところ、線維芽細胞様の細胞との共培養系中にはコロニー形成細胞が認められなかった。そこで、敷石状の形態を示す細胞7クローニングについて同様の検討を行い、ヒト造血幹細胞増殖支持活性を有するクローニングが3つ得られた。これらをAGM-s1、AGM-s2およびAGM-s3と命名した。

【0098】

(II) マウス骨髄からの造血幹細胞の調製

C57BL/6-Ly5.1 pep (8~10週齢、雄) (筑波大学 中内啓光教授より供与) の大腿骨内の骨髄を採取し、PBSに懸濁した。定法に従い(高津聖志、免疫研究の基礎技術、羊土社1995)、マウス骨髄単核球細胞画分を比重遠心法により濃縮した後、染色バッファー(5% FCS, 0.05% NaN₃を含むPBS)に懸濁し、以下の方法で造血幹細胞分画を取得した(Osawa, M. et al., Science 273:242-245, 1996)。

10

【0099】

FITC結合CD34抗体、フィコエリスリン結合Sca-1抗体、アロフィコシアニンc-Kit(全てPharmingen社製)、および、分化マーカー(Lin)として以下の6種類のビオチン化した分化抗原特異的な抗体、CD45R, CD4, CD8, Gr-1, Ter119, CD11c(全てPharmingen社製)を、骨髄単核球懸濁液に添加し、氷中で20分間放置し反応させた。染色バッファーで2回洗浄した後に、セルソーター(FACS Vantage, Becton Dickinson社)により、CD34陰性、Sca-1陽性、c-Kit陽性、Lin陰性細胞を分取した。

20

【0100】

(III) マウスストローマ細胞株のサブクローニング、および各種細胞株の造血幹細胞支持活性の評価

(1) マウスストローマ細胞株のサブクローニング

1) AGM-s3サブクローニングの分離

非動化10%FCS(ウシ胎児血清、Hyclone社)を含むMEM培地(GIBCO BRL社)で継代培養をしているAGM由来ストローマ細胞株AGM-s3を5% FCS含有PBS(PBS-FCS)に懸濁し、セルソーター(FACS Vantage; Becton Dickinson)を用いて1細胞/ウェルで96ウェル培養皿(Falcon社)にクローニングソーティングを行なった。96ウェル中、細胞が増殖してきたウェルについて拡大培養し、13種のAGM-s3のサブクローニングを得た。これらのAGM-s3サブクローニングについて造血細胞の支持能を検討した。

30

【0101】

2) ヒト臍帯血CD34陽性幹細胞の分離

ヒト臍帯血は、キリンピール医薬探索研究所倫理委員会の基準に準拠し、正常分娩時に採取した。臍帯血は凝固しないようにヘパリンを添加したシリングを用いて採取した。ヘパリン処理臍帯血をLymphoprep(NYCOMED PHARMA)に重層し、比重遠心(400G、室温、30分間)により単核細胞を分離した。単核細胞に混入した赤血球は、塩化アンモニウム緩衝液(0.83% NH₄Cl-Tris HCl 20mM, pH6.8)で室温2分間処理して溶血させた。PBS-FCSで単核細胞を洗浄後、10mgのヒトIgGを添加し、氷冷下、10分間放置した後、さらに細胞をPBS-FCSで洗浄し、ヒト分化血球に特異的な抗原に対するビオチン化抗体すなわち、CD2、CD11c(ATCCハイブリドーマ入手し精製)、CD19(Pharmingen社)、CD15、CD41(Leinco Technologies, Inc.社)、Glycophorin A(コスモバイオ社)に対する抗体を添加し氷冷下、20分間放置した。細胞をPBS-FCSで洗浄後、5% FCS、10mM EDTA、0.05% NaN₃を含むPBS(PBS-FCS-EDTA-NaN₃)1mlに懸濁し、ストレプトアビジン結合磁性体ビーズ(BioMag, PerSeptive Diagnostics社)を添加して氷冷下、40分間放置した。分化抗原を発現した分化血球をマグネットセパレーター(Dynal MPC-1, Dynal社)を用いて除去し、残りの分化血球抗原陰性分画にFITC標識抗CD34抗体(Immunotech S.A., Marseilles, France)を添加し、氷冷下、20分間のインキュベーションの後、セルソーターによりCD34陽性分画を回収した。この細胞集団をヒト臍帯血由来造血幹細胞集団とした。

40

【0102】

50

3) ヒト造血幹細胞とAGM-s3サブクローンとの共培養

13種のAGM-s3のサブクローンおよびマウス骨髄由来ストローマ細胞株MS-5のそれぞれを、 1×10^4 / ウェルで24ウェル培養皿（Falcon社）に播種し、10% FCSを含むMEM 培地1mlで培養し、細胞がウェルの底一面を覆うまで増殖させた。上記ストローマ細胞上にCD34陽性ヒト臍帯血由来造血幹細胞を500個/ウェルで重層し、1mlの10% FCSを含むMEM 培地にて共培養した。共培養開始1週間後に同様の培地1mlをさらに添加した。共培養開始2週間目にトリプシン処理（0.05% トリプシン、0.5mM EDTAを含むPBS (GIBCO BRL社) で37℃、2~5分間放置）によりストローマ細胞とヒト血液細胞を同時に培養皿より剥がし、造血幹細胞支持活性をコロニーアッセイにより評価した。

【0103】

10

4) コロニーアッセイによる造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況の評価

上記共培養系にて増殖した細胞は、適宜稀釈して1mlメチルセルロース培養系に付し、解析を行なった。メチルセルロース培養系は、MethoCult H4230 (Stem Cell Technologies Inc.社) に10ng/ml ヒトSCF、ヒトIL-3、ヒトIL-6、ヒトG-CSF、ヒトTPO、2 IU/ml EPOを添加し、6ウェル培養皿（Falcon社）にて実施した。上記で用いた各種造血因子は、いずれもリコンビナント体であり、純粋なものである。2週間の培養の後、出現してきたコロニーを顕微鏡下で観察し、CFU-GM(granulocyte-macrophage colony-forming unit)、BFU-E(erythroid burst forming unit)、および、CFU-E mix(erythrocyte mixed colony-forming unit)の数を計測した。

【0104】

20

図1にCD34陽性造血幹細胞とAGM-s3サブクローンA9、A7またはD11との2週間共培養の結果を示す。13種のAGM-s3サブクローンのうちA9とD11の2クローンが、CFU-GM、BFU-E、および、CFU-E mixのすべての分化系列の細胞の増殖を支持した。特に赤血球系の前駆細胞であるBFU-E、および、CFU-E mix を維持することは通常困難であるが、A9またはD11細胞との共培養系ではその増殖が認められた。この結果は、A9またはD11細胞との共培養により造血幹細胞あるいは造血前駆細胞が増殖あるいは維持されることにより、常に赤血球系の前駆細胞が出現していることを示している。一方、A7は、その細胞の形態がA9に似ているが、CFU-GM、BFU-E、および、CFU-E mixを支持しなかった。

【0105】

5) A9とマウス胎仔由来ストローマ細胞株OP9のヒト造血幹細胞支持活性の比較

30

上記手法を用いて、さらに、AGM-s3サブクローンA9、A7とマウス胎仔由来ストローマ細胞株OP9 (RCB1124、理化学研究所 細胞開発銀行) のCD34陽性ヒト臍帯血由来造血幹細胞に対する幹細胞支持能の比較をCFU-GM、BFU-E、CFU-E、および、CFU-E mixを指標に、上記の評価系を用いて実施した。図2に2週間共培養の結果を示す。A7細胞培養系では、CFU-GM、BFU-E、および、CFU-Eの有意な減少が確認され、CFU-E mixは完全に消失していた。一方、OP9細胞ではA9には劣るが、CFU-E mixを含む各種血球前駆細胞が維持されており、造血幹細胞支持能を有することが明らかとなった。

【0106】

(2) 各種細胞株の造血幹細胞支持活性の評価

前記の各ストローマ細胞株 (AGM-s3-A9、AGM-s3-A7、AGM-s3-G1)、3T3Swiss (ATCC) 、OP9およびNIH3T3 (ATCC) を 5×10^4 個ずつ24ウェルの培養皿 (Falcon社) に播種し、非効化10% FCS (ウシ胎児血清、Hyclone社製) を含むMEM 培地 (GIBCO BRL社製) にて1日培養し、細胞が培養皿の底一面を覆うまで増殖させた。その後、1mlの新たな培地に交換し、上記(1)で得たマウス造血幹細胞 (C57BL/6-Ly5.1由来) 30個をこれらの細胞上に重層し、培養を開始した。

【0107】

培養7日目に、細胞をトリプシン処理 (0.05% トリプシン、0.5mM EDTAを含むPBS (GIBCO BRL社) で37℃、2~5分間放置) し、培養皿の全ての細胞を剥がし回収した。回収した各全細胞を、それぞれ20万個の全骨髄細胞 (C57BL/6-Ly5.2マウス由来、チャールスリバー社)と共に、8.5GyのX線を照射したC57BL/6-Ly5.2 (チャールスリバー社、8週齢

40

50

、雄)マウスに尾静注より移植した。移植後、経時に眼窩より末梢血を回収し、FACSによりC57BL/6-Ly5.1 pepマウス由来の細胞数の割合を算定した。定法に従い(高津聖志、免疫研究の基礎技術、羊土社1995)、末梢血の解析を行った。末梢血50μlに蒸留水を350μl加え、30秒間放置し、赤血球を溶血させた後に、2倍濃度のPBSを加え遠心し、白血球を回収した。細胞を染色バッファー(5% FCS、0.05% NaN₃を含むPBS)で1回洗浄した後に、抗CD16抗体、FITC結合抗Ly5.1(CD45.1)抗体、フィコエリスリン結合抗Gr-1抗体およびCD11c抗体、ならびに、アロフィコシアニン結合CD90(Thy1)抗体およびCD45R(B220)抗体(全て、Pharmingen社より購入)を添加し、氷上で30分放置して反応させた後に、染色バッファーで洗浄後、FACS解析を行った。

【0108】

10

移植後経時に、末梢血中の、Gr-1またはCD11c陽性細胞(骨髄球系)のLy5.1陽性の割合と、CD90またはCD45R陽性細胞(リンパ球系)のLy5.1陽性の割合を、それぞれ算定することにより、造血幹細胞培養期間中の再構築を行うことが可能な細胞数の増減を推定した。

【0109】

結果を図3に示す。AGM-s3-A9細胞、OP9細胞、または、3T3Swiss細胞と共に培養した細胞を移植した場合は、移植後ドナー細胞の高いキメリズムが維持され、これらのストローマ細胞が高い造血幹細胞支持活性を有することが観察された。一方、AGM-s3-A7細胞、AGM-s3-G1細胞、または、NIH3T3細胞の場合、移植した細胞由来の高いキメリズムが認められず、これらのストローマ細胞株の造血幹細胞または造血前駆細胞の支持活性は低い。

20

【0110】

(IV) 造血幹細胞支持細胞に特異的に発現する遺伝子の配列の同定

AGM-s3-A9細胞、AGM-s3-A7細胞、および、OP9細胞のそれぞれをISOGEN(日本国ニッポンジーン)20mlに溶解し、添付文書に従ってトータルRNAを調製した。トータルRNA 1mgを用いて、mRNA purification kit(米国Amersham Pharmacia社)のプロトコルに従い、メッセンジャーRNAを調製した。本メッセンジャーRNAを用いて定法によりcDNAを合成し、pSPORT1(米国GIBO Lifetech社)を用いてcDNAライブラリー(以下、それぞれAGM-s3-A9 cDNA、AGM-s3-A7 cDNAおよびOP9 cDNAともいう)を構築した。本ライブラリーを用いて、SBH法(米国Hyseq社)により、AGM-s3-A7細胞と比べた場合にAGM-s3-A9細胞あるいはOP9細胞に特異的に高発現するcDNA断片を有するクローニングを取得した。取得したクローニングについて、ABI377 DNAシーケンサー(米国Perkin Elmer社)を用いて塩基配列を決定した。

30

【0111】

この結果、それぞれ配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号4、配列番号5、配列番号6、および、配列番号7に示す塩基配列またはその一部を有する遺伝子の発現が、AGM-s3-A9あるいはOP9細胞でAGM-s3-A7細胞より高いことが判明した。これらの遺伝子を、それぞれ、SCR-2、SCR-3、SCR-4、SCR-5、SCR-6、SCR-7、および、SCR-8と命名した。

【実施例2】

【0112】

SCR-2のクローニングおよび活性評価

40

配列番号1の塩基配列に関し、GenBankデータベースをBLASTを用いて検索することで、SCR-2は、登録番号AF185613のマウス遺伝子Mus musculus glycan-1(Gpc-1)と同一の遺伝子であることが判明した。SCR-2のORF(Open Reading Frame)の塩基配列および同塩基配列より推定されるアミノ酸配列を配列番号8に示す。アミノ酸配列のみを配列番号9に示す。

【0113】

Gpc-1のヒト塩基配列は、GenBankデータベースに登録番号AX020122で登録されている。AX020122のORFの塩基配列および同塩基配列より推定されるアミノ酸配列を配列番号10に示す。アミノ酸配列のみを配列番号11に示す。

SCR-2の造血幹細胞または造血前駆細胞支持活性評価を以下のように行った。

50

【0114】

(1) マウスSCR-2発現レトロウイルスベクターの構築

SCR-2のORFの塩基配列に基づいてレトロウイルスベクタークローニング用に、下記の塩基配列を有するSCR-2FsalおよびSCR-2Recoプライマーを作製し、OP9 cDNAをテンプレートに用いてPCRを実施した。

【0115】

SCR-2Fsal

CCGGTCGACCACCatggaactccggacccgaggctgg (配列番号30)

SCR-2Reco

CCGAATTCTtaccgccacctgggcctggctgc (配列番号31)

10

【0116】

増幅断片を制限酵素EcoRIとSalIで消化し、電気泳動の後、JETSORB（独国Genomed社）を用いてDNA断片の精製を行った。精製DNA断片を、同様にEcoRIおよびXbaIで消化したpMX-IRES-GFPベクター（東大医科研、北村俊雄教授より分与）と連結した。pMX-IRES-GFPベクターは、レトロウイルスベクターpMXにIRES（Internal Ribosome Entry Site）、および、GFP（Green Fluorescence Protein）をコードする配列を挿入したプラスミドである。IRES（Internal Ribosome Entry Site）は、mRNAの途中からリボソームがアクセスできる。したがい、発現ベクターを構築するときに一つの転写単位の中にIRESを挟んで上流、下流に遺伝子を繋げることで、一つのmRNAから二つの遺伝子を発現させることが可能となる。上記プラスミドでは、上流にSCR-2のcDNAが挿入され、下流に蛍光蛋白質であるGFP（Green Fluorescence Protein）をコードする配列が挿入されており、GFPの発現状況をFACSで検出することによって、SCR-2の発現をモニターすることができる。

20

【0117】

得られた組換えベクターを大腸菌DH5⁺に遺伝子導入し、100 μg/mlアンピシリンを含むLB寒天培地に蒔き、単一コロニーを形成させた。単離したコロニーを100 μg/mlアンピシリンを含むLB培地100mlで培養後、QIAGENTip100（米国QIAGEN社）を用いてプラスミドの精製を行った。挿入遺伝子の配列を常法にしたがって決定し、SCR-2のORFの塩基配列と一致していることを確認した。

【0118】

(2) SCR-2強発現ストローマ細胞の作製

30

コラーゲンタイプIコート60mm dish（旭テクノグラス社）に2×10⁶個のBOSC23細胞を蒔き、37℃、5% CO₂、湿度100%の条件下、10% FCSを含むDMEM培地で培養を開始し、12～18時間後に前記培地をOPTI MEM培地（GIBCO BRL社）2mlで置換した。

【0119】

前記のpMX-IRES-GFPにSCR-2を挿入したプラスミド約3μgを、OPTI MEM培地100 μlで希釈したLIPOFECTAMINE Reagent（GIBCO BRL社）18 μlに加え、30分室温に静置した。調製したDNA溶液を上記で用意したBOSC23細胞培養液中に添加した。約5時間後に2mlの20% FCSを含むDMEM培地（GIBCO BRL社）を添加した。

【0120】

約24時間後に、培地を10%FCS入りDMEM 4mlに置換し、さらに約48時間後に培養液を回収した。培養液を0.45 μmフィルターでろ過後、1200gで16時間遠心し、培養上清を捨てることでウイルス沈殿を取得した。

40

【0121】

AGM-s3-A7あるいはAGM-s3-A9細胞を24wellプレート（FALCON社）に1×10⁴個ずつ、10% FCSを含むMEM 培地（GIBCO BRL社）1ml中で培養した。12～18時間後に、ウイルス沈殿を1mlの10% FCSを含むMEM 培地に懸濁し、ストローマ細胞培養液とウイルス懸濁液を置換した。さらにPOLYBRENE（シグマ、SEQUA-BRENE）を10 μg/mlになるように添加し、培養皿を700gで45分遠心後、37℃、5% CO₂、湿度100%の条件下で培養した。48時間後、培地を10% FCSを含むMEM 培地1mlに置換し、さらに24時間後、6wellプレート（FALCON社）に継代し10% FCSを含むMEM 培地3mlで培養した。継代48時間後、セルソーター（FACSVanta

50

ge、Becton Dickinson社)にてストローマ細胞のGFP発現を確認し、80%以上の細胞がSCR-2を発現していることを間接的に確認した。

【0122】

また、pMX-IRES-GFPにSCR-2を挿入したプラスミドの代わりにpMX-IRES-GFPベクターを用いて同様の操作を行い、コントロールベクターを導入したストローマ細胞を調製した。

【0123】

(3)ヒト造血幹細胞とSCR-2強発現ストローマ細胞との共培養、ならびに、コロニーアッセイによる造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況の評価

実施例1の(III)(1)3)~4)に記載のようにして、レトロウイルスによりSCR-2を強発現させたAGM-s3-A9細胞もしくはAGM-s3-A7細胞、コントロールベクターを導入したAGM-s3-A9細胞もしくはAGM-s3-A7細胞、または、AGM-s3-A9細胞もしくはAGM-s3-A7細胞を、CD34陽性ヒト臍帯血由来造血幹細胞と共に培養し、コロニーアッセイにより造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況を評価した。

【0124】

図4に、CD34陽性造血幹細胞と、SCR-2を強発現するAGM-s3-A9(A9/SCR-2)、コントロールベクターを導入したAGM-s3-A9(A9/pMXIG)またはAGM-s3-A9(A9)とを2週間共培養したときの結果を示す。また、図5にSCR-2を強発現するAGM-s3-A7、コントロールベクターを導入したAGM-s3-A7またはAGM-s3-A7とを2週間共培養したときの結果を示す。この結果、SCR-2強発現AGM-s3-A9またはSCR-2強発現AGM-s3-A7で共培養により、BFU-EおよびCFU-Cの増加が認められた。従い、SCR-2を強発現することにより、AGM-s3-A9あるいはAGM-s3-A7の造血幹細胞あるいは造血前駆細胞の支持活性が増強されることが示された。この結果から、SCR-2の遺伝子産物は、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖、生存を支持する活性を有するあるいはストローマ細胞に作用し造血細胞支持活性を増強または付与する活性を有することが明らかとなった。

【実施例3】

【0125】

SCR-3のクローニングおよび活性評価

配列番号2の塩基配列に関し、GenBankデータベースをBLASTを用いて検索することで、SCR-3は、登録番号U15209、Mus musculus chemokine MMRP2 mRNA、U19482、Mus musculus C10-like chemokine mRNA、および、U49513、Mouse macrophage inflammatory protein-1gamma mRNAのマウス遺伝子と同一の遺伝子であることが判明した。SCR-3のORFの塩基配列および同塩基配列より推定されるアミノ酸配列を配列番号12に示す。アミノ酸配列のみを配列番号13に示す。

SCR-3の造血幹細胞または造血前駆細胞支持活性評価を以下のように行った。

【0126】

(1)マウスSCR-3発現レトロウイルスベクターの構築

SCR-3のORFの塩基配列に基づいてレトロウイルスベクタークローニング用に、下記の塩基配列を有するSCR-3FholおよびSCR-3Reco配列のプライマーを作製し、AGM-s3-A9 cDNAをテンプレートに用いてPCRを実施した。増幅断片を、実施例2の(1)と同様の方法によりレトロウイルスベクターpMX-IRES-GFPに挿入した。

【0127】

SCR-3Fhol

ccgCTCGAGccaccATGAAGCCTTTCATACTGCC (配列番号32)

SCR-3Reco

tccGAATTCTtatgttgttaggtccgtgg (配列番号33)

【0128】

(2)SCR-3強発現ストローマ細胞株の作製

上記のレトロウイルスベクターを用いて、実施例2の(2)と同様にしてSCR-3強発現AGM-s3-A7細胞を作製した。

【0129】

10

20

30

40

50

(3) SCR-3強発現ストローマ細胞の造血幹細胞支持活性の評価

AGM-s3-A7細胞、レトロウイルスによりSCR-3を強発現させたAGM-s3-A7細胞、ならびに、コントロールベクターを導入したAGM-s3-A7細胞を、それぞれ、 1×10^5 個ずつ24ウエルの培養皿に播種することの他は、実施例1の(111)(2)と同様にして造血幹細胞支持活性の評価を行った。

【0130】

結果を図6に示す。SCR-3を強発現するAGM-s3-A7細胞と共に培養した造血幹細胞(A7/SCR-3)は移植後、それぞれの親株またはコントロールベクターを導入した細胞と共に培養した造血幹細胞(A7またはA7/pMXIG)に比べて、レシピエント個体で高いキメリズムを示した。この高いキメリズムは2ヶ月後の骨髄球系およびリンパ球系細胞で確認され、放射線照射マウスの体内で造血系を再構築できる造血幹細胞および造血前駆細胞が、共培養期間中に、SCR-3を導入されていない細胞との共培養と比べて優位に維持・増幅されていたことが判明した。この結果から、SCR-3の強発現により、ストローマ細胞の造血幹細胞または造血前駆細胞の生存、増殖支持能が増強されることが示された。したがい、SCR-3の発現産物は造血幹細胞または造血前駆細胞に作用し、その生存あるいは増殖を支持する活性を有する、あるいは、ストローマ細胞に作用し造血幹細胞支持活性を増強または付与する活性を有することが明らかになった。

【実施例4】

【0131】

SCR-4のクローニングおよび活性評価

配列番号3の塩基配列に関し、GenBankデータベースをBLASTを用いて検索したところ、SCR-4は、登録番号AF131820 Homo sapiens clone 25077 mRNAと高い相同意識が確認され、SCR-4はAF131820のマウスオーソログと判明した。また、この配列はWO 00/66784に記載されている。

【0132】

AF131820のORFの塩基配列および同塩基配列より推定されるアミノ酸配列を配列番号16に示す。アミノ酸配列のみを配列番号17に示す。

【0133】

その塩基配列およびその塩基配列においてORFと考えられる塩基配列から推定されるアミノ酸配列を配列番号14に示す。アミノ酸配列のみを配列番号15に示す。

SCR-4の造血幹細胞または造血前駆細胞支持活性評価を以下のように行った。

【0134】

(1) ヒトSCR-4発現レトロウイルスベクターの構築

胎児肝臓由来メッセンジャーRNA(米国CLONTECH社)3μgより、オリゴdTプライマー、逆転写酵素(SuperscriptII、GIBCO-BRL社)を用いてcDNAを合成した。本cDNAを鋳型として、ヒトSCR-4のORF領域を下記の塩基配列を有するプライマーHSCR-4FxholおよびHSCR-4RecoRVでPCR増幅し、Xholで消化した後に、実施例2(1)と同様の方法によりレトロウイルスベクターpMX-IRES-GFPに挿入した。その際、pMX-IRES-GFPは制限酵素EcoRIで消化の後、KOD DNA合成酵素(東洋紡日本国)を用いて平滑化した後に制限酵素Xholで消化した。

【0135】

HSCR-4Fxhol

CCGCTCGAGCCACatgttggctgcaaggctggtgt (配列番号34)

HSCR-4RecoRV

CCGGATATCtcatttcttctgttgcccca (配列番号35)

【0136】

(2) ヒトSCR-4強発現ストローマ細胞株の作製

上記のレトロウイルスベクターを用いて、実施例2の(2)と同様にしてヒトSCR-4強発現AGM-s3-A9細胞を作製した。

【0137】

10

20

30

40

50

(3) ヒト造血幹細胞とヒトSCR-4強発現ストローマ細胞との共培養、ならびに、コロニーアッセイによる造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況の評価

実施例1の(III)(1)3)~4)に記載のようにして、レトロウイルスによりSCR-4を強発現させたAGM-s3-A9細胞、コントロールベクターを導入したAGM-s3-A9細胞、または、AGM-s3-A9細胞細胞を、CD34陽性ヒト臍帯血由来造血幹細胞と共に培養し、コロニーアッセイにより造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況を評価した。

【0138】

図7に、CD34陽性造血幹細胞と、ヒトSCR-4を強発現させたAGM-s3-A9、コントロールベクターを導入したAGM-s3-A9、または、AGM-s3-A9とを2週間共培養したときの結果を示す。この結果、ヒトSCR-4強発現AGM-s3-A9との共培養により、BFU-E、ならびにCFU-Cの増加が認められた。従い、ヒトSCR-4を強発現することにより、AGM-s3-A9の造血幹細胞あるいは造血前駆細胞の支持活性が増強されることが示された。この結果から、ヒトSCR-4は、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖、生存を支持する活性を有するあるいはストローマ細胞に作用し造血幹細胞支持活性を付与する活性を有することが明らかとなった。

【実施例5】

【0139】

SCR-5のクローニングおよび活性評価

SBH解析で得られた配列番号4の塩基配列には、ORFの存在が推測された。ORFの塩基配列および同塩基配列より推定されるアミノ酸配列を配列番号18に示す。アミノ酸配列のみを配列番号19に示す。

【0140】

配列番号18の塩基配列に関し、GenBankデータベースをBLASTを用いて検索したところ、登録番号AF325503 Homo sapiens esophageal cancer related gene 4 protein (ECRG4) mRNAと高い相同性が確認され、SCR-5はAF325503のマウスオーソログと判明した。

【0141】

AF325503のORFの塩基配列および同塩基配列より推定されるアミノ酸配列を配列番号20に示す。アミノ酸配列のみを配列番号21に示す。

SCR-5の造血幹細胞または造血前駆細胞支持活性評価を以下のように行った。

【0142】

(1) マウスSCR-5発現レトロウイルスベクターの構築

SCR-5のORFの配列に基づいてレトロウイルスベクタークローニング用に、下記の塩基配列を有するSCR-5F_{Xba}IおよびSCR-5R_{Bln}トプライマーを作製し、配列番号23の塩基配列を有するDNAをテンプレートに用いてPCRを実施し、增幅断片を制限酵素XbaIで消化後、実施例2の(1)と同様の方法によりレトロウイルスベクターpMX-IRES-GFPに挿入した。その際、pMX-IRES-GFPは制限酵素EcoRIで消化の後、KOD DNA合成酵素(東洋紡日本国)を用いて平滑化した後に制限酵素XbaIで消化した。

【0143】

SCR-5F_{Xba}I

ccgCTCGAGccaccatgagcacctcggtctgcgcg (配列番号36)

SCR-5R_{Bln}

tccGTTAACttaatagtcatcatagttca (配列番号37)

【0144】

(2) SCR-5強発現ストローマ細胞株の作製

上記のレトロウイルスベクターを用いて、実施例2の(2)と同様にしてSCR-5強発現AGM-s3-A7細胞を作製した。

【0145】

(3) SCR-5強発現ストローマ細胞の造血幹細胞支持活性の評価

実施例3の(3)と同様にして造血幹細胞支持活性の評価を行った。

【0146】

結果を図8に示す。SCR-5を強発現するAGM-s3-A7細胞と共に培養した造血幹細胞(A7/SCR

10

20

30

40

50

-5)は移植後、それぞれの親株あるいはコントロールベクターのみを発現させた細胞と共に培養した造血幹細胞(A7もしくはA7/pMXIG)に比べて、レシピエント個体で高いキメリズムを示した。この高いキメリズムは2ヶ月後の骨髄球系およびリンパ球系細胞で確認され、放射線照射マウスの体内で造血系を再構築できる造血幹細胞および造血前駆細胞が、共培養期間中にSCR-5を導入されていない細胞より優位に維持・増幅されていたことが判明した。この結果から、SCR-5の強発現により、ストローマ細胞の造血幹細胞あるいは造血前駆細胞の生存、増殖支持能が増強されることが示された。したがい、SCR-5の遺伝子産物は造血幹細胞または造血前駆細胞に作用し、その生存あるいは増殖を支持する活性を有する、あるいは、ストローマ細胞に作用し造血幹細胞支持活性を増強または付与する活性を有することが明らかになった。

10

【実施例6】

【0147】

SCR-6のクローニングおよび活性評価

配列番号5の塩基配列とともにプローブを作製し、AGM-s3-A9 cDNAをハイブリダイゼーションによりスクリーニングすることで、マウスSCR-6のORFを含む遺伝子を取得した。

【0148】

AGM-S3-A9細胞 1.4×10^8 個をISOGEN(日本国ニッポンジーン)20mlに溶解し、添付文書に従ってトータルRNAを調製した。トータルRNA 1mgを用いて、mRNA purification kit(米国Amersham Pharmacia社)のプロトコルに従い、メッセンジャーRNAを調製した。調製したメッセンジャーRNA 2μgより、SMART cDNAライブラリー作製キット(米国CLONTECH)を用いて、添付文書に従ってcDNAライブラリーを15画分に分けて作製した。本ライブラリーは、独立なクローンを合計で約40万種類含んでいた。各画分について以下の条件にてPCRを実施し、SCR-6 cDNAを含む画分を同定した。

20

【0149】

マウスSCR-6部分遺伝子断片の配列に基づいて以下のプライマーを合成し、AGM-S3-A9 cDNAライブラリー各画分を鑄型として、94、30秒、55、30秒、72、1分からなる工程を1サイクルとして35サイクルのPCRを実施した。

【0150】

SCR-6F

AGCTCATTACTGTATTTTA (配列番号22:1971-1990) (配列番号38)

30

SCR-6R

GCTATATTCATAAGTCATC (配列番号22:2330-2349) (配列番号39)

【0151】

PCR産物を2%アガロースゲルにて電気泳動し、予想されるサイズのPCR産物が得られた画分を同定した。陽性画分のうち2画分について、15cmのシャーレに50,000ブラークずつ各2枚蒔き、37で10時間保温した後、Biodyne(米国Pall社)ナイロンフィルターに各1枚ずつブラークを写しとった。転写したナイロンフィルターに対し添付文書に従ってDNAの固定処理を行い、32P標識したDNAプローブにてスクリーニングを実施した。

【0152】

プローブは、以下のようにして調製した。SCR-6FとSCR-6Rを用いて、マウスSCR-6部分遺伝子断片を含むプラスミドを鑄型として、94、30秒、55、30秒、72、1分からなる工程を1サイクルとして35サイクルのPCRを実施した。PCR産物を2%アガロースゲルにて電気泳動し、増幅断片をJETSORBを用いて精製した。得られたPCR断片25ngを鑄型として、Megaprime labeling kit(米国Amersham Pharmacia社)を用いて、32P標識したDNAプローブを調製した。

40

【0153】

ハイブリダイゼーション及び洗浄は、ExpressHybSolution(米国CLONTECH社)を用いて、添付文書に従って実施し、X線フィルム(日本国フジフィルム)に一日間露光し、フジフィルム自動現像機にて現像し、結果を解析した。その結果、強く露光された部分に相当する位置のブラークをシャーレから掻き取り、10cmシャーレに200個程度のブラーク

50

が出るように再度蒔き直した。上記方法にて再度スクリーニングを実施し、単一のプラーカを単離した。得られたクローンについて、SMART cDNAライブラリー作製キットの添付文書に従って大腸菌BM25.8株に感染させ、感染細胞を、50 µg/mlのアンピシリンを含むLB寒天培地上で培養しコロニーを形成させた。單一コロニーを、50 µg/mlのアンピシリンを含むLB培地3mlに植菌し、30 ℃で一夜培養したのち、RPM Kit（米国BI0101）にてプラスミドを抽出し、約10mgのプラスミドを取得した。

【0154】

挿入断片の両端を、TriplEx5'LD-Insert Screening Amplimer (CTCGGGAAGCGCGCCATTG TGTTGGT (配列番号40) :米国CLONTECH) を用いて、ABI377 DNAシーケンサーにより配列決定したところ、配列番号5の1番目以降の塩基配列を含むcDNAを含むことが判明した。さらにABI377 DNAシーケンサーを用いて全長の塩基配列を決定した。その塩基配列およびその塩基配列においてORFと考えられる塩基配列から推定されるアミノ酸配列を配列番号22に示す。アミノ酸配列のみを配列番号23に示す。

SCR-6の造血幹細胞または造血前駆細胞支持活性評価を以下のように行った。

【0155】

(1) マウスSCR-6発現レトロウイルスベクターの構築

SCR-6のORFの塩基配列に基づいてレトロウイルスベクタークローニング用に、下記の塩基配列を有するSCR-6FxFholおよびSCR-6Recoプライマーを作製し、配列番号22の塩基配列を有するDNAをテンプレートに用いてPCRを実施し、增幅断片を実施例2の(1)と同様の方法によりレトロウイルスベクターpMX-IRES-GFPに挿入した。

【0156】

SCR-6FxFhol

ccgcgtcgagccaccATGCGTTTTGCCTCTTCTC (配列番号41)

SCR-6Reco

cggaaattcTTATTGGTTCACTCTGTCTG (配列番号42)

【0157】

(2) SCR-6高発現ストローマ細胞株の作製

上記のレトロウイルスベクターを用いて、実施例2の(2)と同様にしてSCR-6強発現AGM-s3-A9細胞を作製した。

【0158】

(3) ヒト造血幹細胞とSCR-6強発現ストローマ細胞との共培養、ならびに、コロニーアッセイによる造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況の評価

実施例1の(1)(1)(1)(1)～(4)に記載のようにして、レトロウイルスによりSCR-6を強発現させたAGM-s3-A9細胞、コントロールベクターを導入したAGM-s3-A9細胞、または、AGM-s3-A9細胞を、CD34陽性ヒト臍帯血由来造血幹細胞と共に培養し、コロニーアッセイにより造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況を評価した。

【0159】

図9に、CD34陽性造血幹細胞と、SCR-6を強発現させたAGM-s3-A9 (A9/SCR-6)、コントロールベクターを導入したAGM-s3-A9 (A9/pMXIG) またはAGM-s3-A9 (A9) とを2週間共培養した結果を示す。この結果、SCR-6発現AGM-s3-A9との共培養により、BFU-E、ならびにCFU-Cの増加が認められた。従い、SCR-6を強発現することにより、AGM-s3-A9の造血幹細胞あるいは造血前駆細胞の支持活性が増強されることが示された。この結果から、SCR-6の遺伝子産物は、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖、生存を支持する活性を有するあるいはストローマ細胞に作用し造血細胞支持活性を増強または付与する活性を有することが明らかとなった。

【実施例7】

【0160】

SCR-7のクローニングおよび活性評価

SBH解析で得られた配列番号6の塩基配列には、ORFの存在が推測された。ORFの塩基配列および同塩基配列より推定されるアミノ酸配列を配列番号24に示す。アミノ酸配列の

10

20

30

40

50

みを配列番号25に示す。

SCR-7の造血幹細胞または造血前駆細胞支持活性評価を以下のように行った。

【0161】

(1) マウスSCR-7発現レトロウイルスベクターの構築

SCR-7のORFの塩基配列に基づいてレトロウイルスベクタークローニング用に、下記の塩基配列を有するSCR-7FsalIおよびSCR-7Recoのプライマーを作製し、配列番号24の塩基配列を有するDNAをテンプレートに用いてPCRを実施し、増幅断片を実施例2の(1)と同様の方法によりレトロウイルスベクターpMX-IRES-GFPに挿入した。

【0162】

SCR-7FsalI

10

acgcgtcgaccaccATGCCCGCTACGAGTTG (配列番号43)

SCR-7Reco

attGAATTCTCACTTCTTCCTCCTCTTG (配列番号44)

【0163】

(2) SCR-7高発現ストローマ細胞株の作製

上記のレトロウイルスベクターを用いて、実施例2の(2)と同様にしてSCR-7強発現AGM-s3-A9細胞を作製した。

【0164】

(3) ヒト造血幹細胞とSCR-7強発現ストローマ細胞との共培養、ならびに、コロニーアッセイによる造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況の評価

20

実施例1の(III)(1)3)~4)に記載のようにして、レトロウイルスによりSCR-7を強発現させたAGM-s3-A9細胞、コントロールベクターを導入したAGM-s3-A9細胞、または、AGM-s3-A9細胞を、CD34陽性ヒト臍帯血由来造血幹細胞と共に培養し、コロニーアッセイにより造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況を評価した。

【0165】

図10に、CD34陽性造血幹細胞と、SCR-7を強発現するAGM-s3-A9(A9/SCR-7)、コントロールベクターを導入したAGM-s3-A9(A9/pMXIG)、または、AGM-s3-A9(A9)と2週間共培養したときの結果を示す。この結果、SCR-7強発現AGM-s3-A9との共培養により、BFU-E、ならびにCFU-Cの増加が認められた。従い、SCR-7を強発現することにより、AGM-s3-A9の造血幹細胞あるいは造血前駆細胞の支持活性が増強されることが示された。この結果から、SCR-7の遺伝子産物は、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖、生存を支持する活性を有する、あるいはストローマ細胞に作用し造血細胞支持活性を増強または付与する活性を有することが明らかとなった。

30

【実施例8】

【0166】

SCR-8のクローニングおよび活性評価

配列番号7の塩基配列に関し、GenBankデータベースをBLASTを用いて検索することで、SCR-8は、登録番号AB009673 Mus musculus mRNA for ADAM23、と同一の遺伝子であることが判明した。SCR-8のORFの塩基配列および同塩基配列より推定されるアミノ酸配列を配列番号26に示す。アミノ酸配列のみを配列番号27に示す。

40

【0167】

また、JP11155574-Aに記載されたHuman MDC3 protein. [Homo sapiens]のコードする配列は、SCR-8と90%以上の相同意を示し、SCR-8のヒトオーソログ遺伝子である。このORFの塩基配列および同塩基配列より推定されるアミノ酸配列を配列番号28に示す。アミノ酸配列のみを配列番号29に示す。

SCR-8の造血幹細胞または造血前駆細胞支持活性評価を以下のように行った。

【0168】

(1) マウスSCR-8発現レトロウイルスベクターの構築

SCR-8のORFの塩基配列に基づいてレトロウイルスベクタークローニング用に下記の塩基配列を有するSCR-8FxoおよびSCR-8Recoプライマーを作製し、AGM-s3-A9 cDNAをテンプレ

50

ートに用いてPCRを実施し、増幅断片を実施例2の(1)と同様の方法によりレトロウィルスベクターpMX-IRES-GFPに挿入した。

【0169】

SCR-8F_{Xba}I

ccgctcgagccaccATGAAGCCGCCGGCAGCATC (配列番号45)

SCR-8Reco

cggaaattcTCAGATGGGCCTTGCTGAGT (配列番号46)

【0170】

(2) SCR-8高発現ストローマ細胞株の作製

上記のレトロウィルスベクターを用いて、実施例2の(2)と同様にしてSCR-8強発現A GM-s3-A9細胞を作製した。 10

【0171】

(3) ヒト造血幹細胞とSCR-8強発現ストローマ細胞との共培養、ならびに、コロニーアッセイによる造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況の評価

実施例1の(III)(1)3)~4)に記載のようにして、レトロウイルスによりSCR-8を強発現させたAGM-s3-A9細胞、コントロールベクターを導入したAGM-s3-A9細胞、または、AGM-s3-A9細胞を、CD34陽性ヒト臍帯血由来造血幹細胞と共に培養し、コロニーアッセイにより造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況を評価した。

【0172】

図11に、CD34陽性造血幹細胞と、SCR-8を強発現するAGM-s3-A9、コントロールベクターを導入したAGM-s3-A9、または、AGM-s3-A9とを2週間共培養したときの結果を示す。この結果、SCR-8発現AGM-s3-A9との共培養により、BFU-EおよびCFU-Cの増加が認められた。従い、SCR-8を強発現することにより、AGM-s3-A9の造血幹細胞あるいは造血前駆細胞の支持活性が増強されることが示された。この結果から、SCR-8の遺伝子産物は、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖、生存を支持する活性を有する、あるいはストローマ細胞に作用し造血細胞支持活性を増強または付与する活性を有することが明らかとなった。 20

【図面の簡単な説明】

【0173】

【図1】CD34陽性造血幹細胞とAGM-s3サブクローンA9、A7、D11とを2週間共培養した後のコロニーアッセイによる造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況を示す図である。 30

【図2】CD34陽性造血幹細胞とAGM-s3サブクローンA9、A7、またはOP9細胞とを2週間共培養した後のコロニーアッセイによる造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況を示す図である。

【図3】各種ストローマ細胞株と共に培養した造血幹細胞を移植された放射線照射マウスの末梢血における、骨髄球系およびリンパ球系細胞のドナー由来細胞キメリズムの経時変化を示す図である。

【図4】CD34陽性造血幹細胞と、遺伝子SCR-2を強発現するAGM-S3-A9細胞(A9/SCR-2)、コントロールベクターを導入したAGM-S3-A9細胞(A9/pMXIG)、または、AGM-S3-A9細胞(A9)とを2週間共培養した後のコロニーアッセイによる造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況を示す図である。 40

【図5】CD34陽性造血幹細胞と、遺伝子SCR-2を強発現するAGM-S3-A7細胞(A7/SCR-2)、コントロールベクターを導入したAGM-S3-A7細胞(A7/pMXIG)、または、AGM-S3-A7細胞(A7)とを2週間共培養した後のコロニーアッセイによる造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況を示す図である。

【図6】遺伝子SCR-3を強発現するAGM-S3-A7細胞(A7/SCR-3)、コントロールベクターを導入したAGM-S3-A7細胞(A7/pMXIG)、または、AGM-S3-A7細胞(A7)と共に培養した造血幹細胞を移植された放射線照射マウスの末梢血における、骨髄球系およびリンパ球系細胞のドナー由来細胞キメリズムの経時変化を示す図である。

【図7】CD34陽性造血幹細胞と、遺伝子SCR-4を強発現するAGM-S3-A9細胞(A9/SCR-4)、コントロールベクターを導入したAGM-S3-A9細胞(A9/pMXIG)、または、AGM-S3-A9細胞(50

A9)とを2週間共培養した後のコロニーアッセイによる造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況を示す図である。

【図8】遺伝子SCR-5を強発現するAGM-S3-A7細胞(A7/SCR-5)、コントロールベクターを導入したAGM-S3-A7細胞(A7/pMXIG)、または、AGM-S3-A7細胞(A7)と共に培養した造血幹細胞を移植された放射線照射マウスの末梢血における、骨髄球系およびリンパ球系細胞のドナー由来細胞キメリズムの経時変化を示す図である。

【図9】CD34陽性造血幹細胞と、遺伝子SCR-6を強発現するAGM-S3-A9細胞(A9/SCR-6)、コントロールベクターを導入したAGM-S3-A9細胞(A9/pMXIG)、または、AGM-S3-A9細胞(A9)とを2週間共培養した後のコロニーアッセイによる造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況を示す図である。

【図10】CD34陽性造血幹細胞と、遺伝子SCR-7を強発現するAGM-S3-A9細胞(A9/SCR-7)、コントロールベクターを導入したAGM-S3-A9細胞(A9/pMXIG)、または、AGM-S3-A9細胞(A9)とを2週間共培養した後のコロニーアッセイによる造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況を示す図である。

【図11】CD34陽性造血幹細胞と、遺伝子SCR-8を強発現するAGM-S3-A9細胞(A9/SCR-8)、コントロールベクターを導入したAGM-S3-A9細胞(A9/pMXIG)、または、AGM-S3-A9細胞(A9)とを2週間共培養した後のコロニーアッセイによる造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況を示す図である。

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> KIRIN BEER KABUSHIKI KAISHA

<120> POLYPEPTIDE HAVING AN ACTIVITY TO SUPPORT PROLIFERATION OR SURVIVAL OF HEMATOPOIETIC STEM CELL AND HEMATOPOIETIC PROGENITOR CELL, AND DNA CODING FOR THE SAME

<130> OP1337-PCT

<150> US 60/297286

<151> 2001-06-11

10

<160> 46

<170> PatentIn version 3.0

<210> 1

<211> 343

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 1

cctatggcgg caacgacgtg gacttccagg atgctagtga tgacggcagt ggctccggca 60

20

gcggtggcgg atgcccagat gacacctgtg gccggagggt cagcaagaag agttccagct 120

cccgacccc cttgaccat gccctccccg gcctgtcaga acaggaggga cagaagacct 180

cagctgccac ctgcccagag ccccacagct tcttcctgtct cttcctcgtc accitggtcc 240

ttgcggcagc caggcccagg tggcgtaac tgccccctat cccagacagt aactctgagt 300

gctgcggcag ggtgcatgga ggggtccctc cctcattgag tcg 343

30

<210> 2

<211> 546

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 2

tgtacccag ggacttcctg atcctcttac atgtataaat agcaagacccg ggccaggaac 60

agcaagcagt ctgaaggcca gctgggtctg cccactaaga agatgaagcc ttttctact 120

gccctctcct tcctcattct tacaactgct cttggaatct gggccagat cacacatgca	180
acagagacaa aagaagtcca gagcagtcg aaggcacagc aagggcitga aattgaaatg	240
tttcacatgg gcttcagaag ctcttcagat tgctgcgtt cctataactc acggattcag	300
tgttcaagat ttataggtta ttttcccacc agtggtggt gtaccaggcc gggcatcatc	360
tttatcagca agagggggtt ccaggtctgt gccaaaccca gtgatcgag agttcagaga	420
tgcattgaaa gattggagca aaactcacaa ccacggacct acaaacaata acatttgctt	480
gaagagaagg gtgtgaactg ccagctactt tcttggctt tccccagtga ccacctaagt	540
ggctct	546

<210> 3
<211> 1223
<212> DNA
<213> Mus musculus

<400> 3	60	20
gtgaccggga agggagcccc gtggtagagg tgaccggagc tgagcatttc agatctgctt	60	
agtaaacccgg tgtatcgccc accatgttgg ctgcaaggct tgtgtgtctc cggacactac	120	
cttccagggt tttccagccc actttcatca ccaaggcctc tccacttgt aagaattcca	180	
tcacaaagaa ccaatggctc gtaacaccca gcagggata tgctaccaag acaagaattha	240	
ggactcaccg tggaaaact ggacaagaac taaaagaggc agccttggaa ccatcaatgg	300	
aaaaaatctt taaaatcgat caaatggaa ggtggttgt tgctggagga gcagctgtt	360	
gtcttggagc gctctgctac tatggcttgg gaatgtctaa tgagatttgg gctatcgaaa	420	30
aggctgtaat ttggcctcag tatgtaaagg atagaattca ttctacttac atgtacttag	480	
caggaaggta ttgttaaca gctttgtctg cttggcagt agccagaaca cctgtctca	540	
tgaacttcat gatgacaggc tcttgggiga caattgggc gacctttgca gccatgatgt	600	
gagctggaat gcttgtacac tcaatatcat atgagcagag cccaggccca aagcatctgg	660	
cttggatgtt gcatctgtt gtgtatgggtt cagttgtggc tccctctgacg atcttaggg	720	

ggcctttct cctgagagcc gcatggtaca ccgcgttat tgtggaggc ctctactg	780
tggccatgtg tgcgcctagt gagaagttc tgaacatggg agcacccctg ggagtggcc	840
tgggtcttgt ctgtcgctc tctctgggt ctatgttct tccccctacc tctgtggctg	900
gtgccactct gtactcagtg gcaatgtatg gtggattagt tctttcagc atgttcctc	960
tgtatgatac tcagaaaagta atcaaacgtg cagaaataac acccatgtat ggagctaaa	1020
agtatgatcc catcaattcg atgttgacaa tctacatgga tacattaaat atatttatgc	1080
gagttgcaac tatgtctaga actggaagca acagaaagaa atgaagtaac cgcttgtat	1140
gtctccgctc actgatgtct tgcttgttta ataggagcag atagtcatta cagttgcat	1200
cagcagaatt cccgcgcggc cgc	1223

<210> 4
<211> 839
<212> DNA
<213> Mus musculus

<400> 4	20
gctgtgcctg gcatcagtct tgccctctcc ccittggcca cgcggccctt ctcagcgatt	60
tgcagcagac ccgcaggcgtgtgcctcg gtggcattga actgaagctt ggctctcgcc	120
ctggcctgct ggctagttgc ccaccctgtg ggtcccggcc agagcaagga tactggagct	180
ttcgccctgcc tcactgagcc tgggtctcca ctccagtcat ccctccagct actttgcagc	240
actctgtcgc catgagcacc tcgtctgcgc ggcctgcagt cctggccctt gccgggctgg	300
ctctgctcct tctgtgtgc ctgggtccag atggcataag tggaaacaaa ctcaagaaga	360
tgctccagaa acgagaagga cctgtccgt caaagactaa ttagtctgtat ggcgagaaca	420
cagcaaagga attccttaggt ggcctgaagc gtgcacaaacg acagctgtgg gaccgtacgc	480
ggcctgaggt acagcagtgg taccagcagt tcctctacat gggctttgat gaggctaaat	540
ttgaagatga tgtcaactat tggctaaaca gaaatcgaaa cggccatgac tactatggtg	600

actactacca	ggttcattat	gatgaagatg	cggccattgg	tccccacagc	cggaaagct	660
tcaggcatgg	agccagtgt	aactatgatg	actattaagc	ttcctgaggt	gcccacagag	720
cttgtgcctg	cttcagtagg	ccttctctac	ctataaccacg	tgaccatcag	gctaaaggaa	780
agaatataag	tgcttttgc	atttcatgca	tgtgcttaac	gatatgtctc	actaaaaaa	839

<210> 5
<211> 1420
<212> DNA
<213> Mus musculus

<400> 5	60						
cctgtgccta	ttttatggaa	tggcaatgt	aagcaagcaa	gcactgttca	cttgtactt	60	
tcatttctca	cactgtgcac	tgtcaaagac	aatgtgcat	ggaaaaatgt	tttgttgcac	120	
ctcatggcgt	tctcagcattc	agtgacc	aaacggctt	acaatgagac	tgtgttctag	180	
ctagggat	gctgtggaaa	ttcctgtac	atttcatctt	agtgctaaca	tgtacagatt	240	
ctgctgcgt	acattcaaag	ctcattactg	tatatttatg	ctttctctgt	gtaacaagtt	300	20
ataacctgata	agatgtca	ttgtttctag	tgattctaa	ccatggct	gtacatggct	360	
attcttagtt	tggaaattaa	caagtgttt	gttgcctt	gtttctttt	gttcctatca	420	
tttttggcgg	gggttgggtg	ggcttgattc	taaccgtaag	tataggataa	gctagtttg	480	
tatata	caatgactg	atgtcagagg	atcagtgt	atagaacttc	cccagttcat	540	
gtcacgatac	acacagagag	aaagcagcat	gaggcatctt	gccatcagaa	gccaatttc	600	
ttttgagtcc	caaaattgat	gacttatgaa	atatacgta	aaacaagatt	tgggtgt	660	30
tacttgtatt	tattatacaa	tttccaattt	cattttttt	caaactcaa	ataacccatg	720	
actttgagt	ataggtca	tggcaatgtt	cttgaattac	tggggaaagct	gttgtca	780	
agataatgag	agagaaaata	gaatggctt	gcccaagtga	gagccacatc	ttacatttct	840	
ctgttgaatc	ggaatcaact	atattagaac	agaagcctga	tagaagctt	ctgttaca	900	
cacacaaggc	catggtttca	aaaacatctt	tgtcccctt	ggtcagttt	tccttagatt	960	

atgaattggc aggttctaat tgcattattt ccctggctga tccaggaaaa agttagaaca 1020
 aaataagttg catagtttg aggaaacatc caaagcaagg cgaagcctt cctgcctg 1080
 cattggcaaa actacccttt tagcatttat gttgattcag aaacatcttg ctgatatgtg 1140
 tagatgtttt aagcttcatt gtgaaaatat tgatgcaaga taagccatat atgaatgtg 1200
 tattcaactt tagggcttga aattaatcct aaagtgtca cctctctcca tgtctattta 1260
 cactctgttc ctatTTacta agaggtagg ggtctcctta atatcatact tcattgttaa 1320
 taagtcaatg ctgttatgt ttcttgctg ttgttttgt gcattaaaaa ctcaaaattg 1380
 gaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1420

<210> 6
 <211> 763
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 6
 cccgcctcg cgaccccgcc tctcctggac tcggcgccgc caacctggc gatgccccgc 60 20
 tacgagttgg ctgttattct gaaagccatg cggcgccag agaccgctgc tgctttgaaa 120
 cgtacaatag aatccctgat ggaccgagga gccatagtga ggaacttgga aagcctgggt 180
 gagcgtgcgc tcccctacag gatctcgagt cacagccagc agcacagccg aggagggat 240
 ttccctggatgg atttttatgc tccgacaagt gctgtggaga acatactggaa acacttggcg 300
 cgagacattt acgtggtagt accaaatattt gtgaaacacc ctctgaccca ggaagtaaaa 360
 gagtgacg gcatagtccc agtcccactt gaagaaaaac tgtattcaac aaagaggagg 420 30
 aagaagttag aagattcacc agattctggc ctttatattt atcctaaggg cactatgggt 480
 gctgcttagt tggtgtctag gatacttttag cccatgacca tttgctgca ggaggttagaa 540
 actgctggcc gagacctgcc ctgatgtctc tgctgagatt tcatcccact tgtgggttt 600
 gtcggagtg ggggtgtca cagtaccact gtgcgtttc caagagcaaa atgtttgtca 660

ttcacacttg gttgtcttgc aagcctatat ggaacactgg gagcagagta ataaacatga 720
 ctttatcaac actggaaaaa aaaaaaaaaaaa aaa 763

<210> 7
 <211> 1300
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 7		
ggtagtcagt cttecgcttg aatttgctgt ttgtttatat agtaataaca gcgttatcta	60	10
taaggcttac tggcatttatt cctgggtcca taagacacag gctgtacccc tttactgaat	120	
ggcatggct cagcttggag gaaagtca gaaattcag ataacttgtt atctttcct	180	
glcgttgcaa tgtttcgggg tccacttcac tatgagatac caaggagctg ccaacctcac	240	
catactcatt tcgttacaat ttctgaggca ccgtggtgac ttgatccgac atacgaccac	300	
glcagttaca aaccagatct ttatggtaa ctttgaaca tttcacaaac aacattgtaa	360	
atgtgcgtat ttatgtttt aatcagacca cagtggccc caaatattat gtacatatga	420	20
caaatgtcag tgtaactttt tgttacactg acagttcat aggtaaacaa acctacgctc	480	
caatgttaaa ttatgcttgt gtatgtaaaa tacacaagca ttggctatg tgtgtacgga	540	
catgagggtt gtcaatcgt actgtacgaa atgggtcaga atcattttca gtgggttag	600	
gttatgttgt ttcaagactcc atgctgcatt ttcttttgc catgccatcc atttgcttat	660	
tttggagtgt gagtattccct tcttattaaat ttgaattcaa agcacaagcc tccattttt	720	
caacattacc caacaagagt gtccagtgat gaccgagttt ttcacccggg tatactttt	780	30
ctgcaataat taatgacacc tggatgagga ggcgtgcgt gacttcattt ttcacccggg	840	
atagtgcattt agccactga attagagctg ctttaccatg caaaagttag cagtagacat	900	
aggtgcattt ttgaaacatg aatcacatag agctatggag ttttgcacag tgatgtttt	960	
tctttttttt tttttttttt tttttttttt cttttttttt ttccctttct tctttttttt	1020	
cttttttttt ttttttacta tgcaaaatgtt ggaaatgcac aaacttccaa gacatgtctg	1080	

aagaacttta caatacttga atttttctt taatcatccc atcacattt tggcatttat 1140
 gctccattt gatttttctt ttgtcccttc aacttcaatg gttttaattt tcaatgcaca 1200
 acctaacttt tgtttgcaagt aacttccaaat cctattggct gcctggaacg gagattctgt 1260
 catcctacac gcatctttta gttgactgtg cataaaagtt 1300

<210> 8
 <211> 1674
 <212> DNA
 <213> Mus musculus 10

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(1671)

<400> 8
 atg gaa ctc cgg acc cga ggc tgg tgg ctg ctg tgc gcg gcc gcc gcg 48
 Met Glu Leu Arg Thr Arg Gly Trp Trp Leu Leu Cys Ala Ala Ala Ala
 1 5 10 15

ctg gtc gtc tgc gcc cgc ggg gac ccc gcc agc aag agc cgg agc tgc 96 20
 Leu Val Val Cys Ala Arg Gly Asp Pro Ala Ser Lys Ser Arg Ser Cys
 20 25 30

agc gaa gtc cgc cag atc tac ggg gct aag ggc ttt agc ctg agc gat 144
 Ser Glu Val Arg Gln Ile Tyr Gly Ala Lys Gly Phe Ser Leu Ser Asp
 35 40 45

gtg ccc cag gca gag atc tcg ggt gag cac ctg cgg atc tgc ccc cag 192
 Val Pro Gln Ala Glu Ile Ser Gly Glu His Leu Arg Ile Cys Pro Gln
 50 55 60

ggc tac act tgc tgt acc agt gag atg gag gag aat ttg gcc aac cac 240 30
 Gly Tyr Thr Cys Cys Thr Ser Glu Met Glu Glu Asn Leu Ala Asn His
 65 70 75 80

agc cga atg gag ctg gag agc gca ctc cat gac agc agc cgc gcc ctg 288
 Ser Arg Met Glu Leu Glu Ser Ala Leu His Asp Ser Ser Arg Ala Leu
 85 90 95

cag gcc aca ctg gcc acc cag ctg cat ggc atc gat gac cac ttc cag 336
 Gln Ala Thr Leu Ala Thr Gln Leu His Gly Ile Asp Asp His Phe Gln

100	105	110	
cgc ctg ctg aat gac tcg gag cgc aca ctg cag gag gct ttc cct ggg Arg Leu Leu Asn Asp Ser Glu Arg Thr Leu Gln Glu Ala Phe Pro Gly			384
115	120	125	
gcc ttt ggg gac ctg tat acg cag aac act cgt gcc ttc cg ^g gac cta Ala Phe Gly Asp Leu Tyr Thr Gln Asn Thr Arg Ala Phe Arg Asp Leu			432
130	135	140	
tat gtt gag ctg cgc ctc tac tac cgt ggg gcc aac ctg cac ctt gag Tyr Val Glu Leu Arg Leu Tyr Arg Gly Ala Asn Leu His Leu Glu			480
145	150	155	160
10			
gag acg ctg gcc gag ttc tgg gca cg ^g ctg gag cgc ctc ttc aag Glu Thr Leu Ala Glu Phe Trp Ala Arg Leu Leu Glu Arg Leu Phe Lys			528
165	170	175	
cag ctg cac ccc cag ctg ctg cct gat gac tac ctg gac tgc ctg ggc Gln Leu His Pro Gln Leu Leu Pro Asp Asp Tyr Leu Asp Cys Leu Gly			576
180	185	190	
aag cag gcg gag gca ctg cg ^g ccg ttt gga gat gcc cct cga gaa ctg Lys Gln Ala Glu Ala Leu Arg Pro Phe Gly Asp Ala Pro Arg Glu Leu			624
195	200	205	
20			
cgc ctg cg ^g gcc acc cgt gcc ttt gtg gct gca cgt tcc ttt gtg cag Arg Leu Arg Ala Thr Arg Ala Phe Val Ala Ala Arg Ser Phe Val Gln			672
210	215	220	
ggc ctg ggt gtg gcc agt gat gta gtc cg ^g aag gtg gcc cag gta cct Gly Leu Gly Val Ala Ser Asp Val Val Arg Lys Val Ala Gln Val Pro			720
225	230	235	240
ctg gcc cca gaa tgt tct cg ^g gcc atc atg aag ttg gtc tac tgt gct Leu Ala Pro Glu Cys Ser Arg Ala Ile Met Lys Leu Val Tyr Cys Ala			768
245	250	255	
30			
cat tgc cg ^g gga gtc ccg gg ^c gcc cg ^g ccc tgc ccc gac tat tgc cga His Cys Arg Gly Val Pro Gly Ala Arg Pro Cys Pro Asp Tyr Cys Arg			816
260	265	270	
aat gtg ctc aaa ggc tgc ctt gcc aac cag gcc gac ctg gat gcc gag Asn Val Leu Lys Gly Cys Leu Ala Asn Gln Ala Asp Leu Asp Ala Glu			864
275	280	285	

tgg agg aac ctc ctg gac tcc atg gtg ctc atc act gac aag ttc tgg Trp Arg Asn Leu Leu Asp Ser Met Val Leu Ile Thr Asp Lys Phe Trp 290 295 300	912
ggc ccg tcg ggt gcg gag agt gtc att ggc ggt gtg cac gtg tgg ctg Gly Pro Ser Gly Ala Glu Ser Val Ile Gly Gly Val His Val Trp Leu 305 310 315 320	960
gct gag gcc atc aac gcc ctc cag gac aac aag gac aca ctc aca gct Ala Glu Ala Ile Asn Ala Leu Gln Asp Asn Lys Asp Thr Leu Thr Ala 325 330 335	1008
aag gtc atc cag gcc tgt gga aac ccc aag gtc aat ccc cac ggc tct Lys Val Ile Gln Ala Cys Gly Asn Pro Lys Val Asn Pro His Gly Ser 340 345 350	1056
ggg ccc gag gag aag cgt cgc cgt ggc aaa ttg gca ctg cag gag aag Gly Pro Glu Glu Lys Arg Arg Gly Lys Leu Ala Leu Gln Glu Lys 355 360 365	1104
ccc tcc aca ggt act ctg gaa aaa ctg gtc tct gag gcc aag gcc cag Pro Ser Thr Gly Thr Leu Glu Lys Leu Val Ser Glu Ala Lys Ala Gln 370 375 380	1152
ctc cga gac att cag gac ttc tgg atc agc ctc cca ggg aca ctg tgc Leu Arg Asp Ile Gln Asp Phe Trp Ile Ser Leu Pro Gly Thr Leu Cys 385 390 395 400	1200
agt gag aag atg gcc atg agt cct gcc agt gat gac cgc tgc tgg aat Ser Glu Lys Met Ala Met Ser Pro Ala Ser Asp Asp Arg Cys Trp Asn 405 410 415	1248
gga att tcc aag ggc cgg tac cta cca gag gtg atg ggt gac ggg ctg Gly Ile Ser Lys Gly Arg Tyr Leu Pro Glu Val Met Gly Asp Gly Leu 420 425 430	1296
gcc aac cag atc aac aac cct gag gtg gaa gtg gac atc acc aag cca Ala Asn Gln Ile Asn Asn Pro Glu Val Glu Val Asp Ile Thr Lys Pro 435 440 445	1344
gac atg acc atc cgc cag cag att atg cag ctc aag atc atg acc aac Asp Met Thr Ile Arg Gln Gln Ile Met Gln Leu Lys Ile Met Thr Asn 450 455 460	1392
cgt tta cgt ggc gcc tat ggc ggc aac gac gtg gac ttc cag gat gct Arg Leu Arg Gly Ala Tyr Gly Gly Asn Asp Val Asp Phe Gln Asp Ala	1440

465	470	475	480	
agt gat gac ggc agt ggc tcc ggc agc ggt ggc gga tgc cca gat gac Ser Asp Asp Gly Ser Gly Ser Gly Gly Gly Cys Pro Asp Asp 485				1488
acc tgt ggc cg agg gtc agc aag aag agt tcc agc tcc cg acc ccc Thr Cys Gly Arg Arg Val Ser Lys Lys Ser Ser Ser Arg Thr Pro 500				1536
ttg acc cat gcc ctc ccc ggc ctg tca gaa cag gag gga cag aag acc Leu Thr His Ala Leu Pro Gly Leu Ser Glu Gln Glu Gly Gln Lys Thr 515				1584
tca gct gcc acc tgc cca gag ccc cac agc ttc ttc ctg ctc ttc ctc Ser Ala Ala Thr Cys Pro Glu Pro His Ser Phe Phe Leu Leu Phe Leu 530				1632
gtc acc ttg gtc ctt gcg gca gcc agg ccc agg tgg cg taa Val Thr Leu Val Leu Ala Ala Arg Pro Arg Trp Arg 545				1674
<210> 9 <211> 557 <212> PRT <213> Mus musculus				20
<400> 9 Met Glu Leu Arg Thr Arg Gly Trp Trp Leu Leu Cys Ala Ala Ala Ala 1				15
Leu Val Val Cys Ala Arg Gly Asp Pro Ala Ser Lys Ser Arg Ser Cys 20				30
Ser Glu Val Arg Gln Ile Tyr Gly Ala Lys Gly Phe Ser Leu Ser Asp 35				45
Val Pro Gln Ala Glu Ile Ser Gly Glu His Leu Arg Ile Cys Pro Gln 50				60
Gly Tyr Thr Cys Cys Thr Ser Glu Met Glu Glu Asn Leu Ala Asn His				

65

70

75

80

Ser Arg Met Glu Leu Glu Ser Ala Leu His Asp Ser Ser Arg Ala Leu
85 90 95

Gln Ala Thr Leu Ala Thr Gln Leu His Gly Ile Asp Asp His Phe Gln
100 105 110

Arg Leu Leu Asn Asp Ser Glu Arg Thr Leu Gln Glu Ala Phe Pro Gly
115 120 125

10

Ala Phe Gly Asp Leu Tyr Thr Gln Asn Thr Arg Ala Phe Arg Asp Leu
130 135 140

Tyr Val Glu Leu Arg Leu Tyr Tyr Arg Gly Ala Asn Leu His Leu Glu
145 150 155 160

Glu Thr Leu Ala Glu Phe Trp Ala Arg Leu Leu Glu Arg Leu Phe Lys
165 170 175

20

Gln Leu His Pro Gln Leu Leu Pro Asp Asp Tyr Leu Asp Cys Leu Gly
180 185 190

Lys Gln Ala Glu Ala Leu Arg Pro Phe Gly Asp Ala Pro Arg Glu Leu
195 200 205

Arg Leu Arg Ala Thr Arg Ala Phe Val Ala Ala Arg Ser Phe Val Gln
210 215 220

30

Gly Leu Gly Val Ala Ser Asp Val Val Arg Lys Val Ala Gln Val Pro
225 230 235 240

Leu Ala Pro Glu Cys Ser Arg Ala Ile Met Lys Leu Val Tyr Cys Ala
245 250 255

His Cys Arg Gly Val Pro Gly Ala Arg Pro Cys Pro Asp Tyr Cys Arg
260 265 270

Asn Val Leu Lys Gly Cys Leu Ala Asn Gln Ala Asp Leu Asp Ala Glu
275 280 285

Trp Arg Asn Leu Leu Asp Ser Met Val Leu Ile Thr Asp Lys Phe Trp
290 295 300

Gly Pro Ser Gly Ala Glu Ser Val Ile Gly Gly Val His Val Trp Leu
305 310 315 320

Ala Glu Ala Ile Asn Ala Leu Gln Asp Asn Lys Asp Thr Leu Thr Ala
325 330 335

Lys Val Ile Gln Ala Cys Gly Asn Pro Lys Val Asn Pro His Gly Ser
340 345 350

Gly Pro Glu Glu Lys Arg Arg Gly Lys Leu Ala Leu Gln Glu Lys
355 360 365

Pro Ser Thr Gly Thr Leu Glu Lys Leu Val Ser Glu Ala Lys Ala Gln
370 375 380

Leu Arg Asp Ile Gln Asp Phe Trp Ile Ser Leu Pro Gly Thr Leu Cys
385 390 395 400

Ser Glu Lys Met Ala Met Ser Pro Ala Ser Asp Asp Arg Cys Trp Asn
405 410 415

Gly Ile Ser Lys Gly Arg Tyr Leu Pro Glu Val Met Gly Asp Gly Leu
420 425 430

Ala Asn Gln Ile Asn Asn Pro Glu Val Glu Val Asp Ile Thr Lys Pro

10

20

30

435 440 445

Asp Met Thr Ile Arg Gln Gln Ile Met Gln Leu Lys Ile Met Thr Asn
 450 455 460

Arg Leu Arg Gly Ala Tyr Gly Gly Asn Asp Val Asp Phe Gln Asp Ala
 465 470 475 480

Ser Asp Asp Gly Ser Gly Ser Gly Gly Cys Pro Asp Asp 10
 485 490 495

Thr Cys Gly Arg Arg Val Ser Lys Lys Ser Ser Ser Arg Thr Pro
 500 505 510

Leu Thr His Ala Leu Pro Gly Leu Ser Glu Gln Glu Gly Gln Lys Thr
 515 520 525

Ser Ala Ala Thr Cys Pro Glu Pro His Ser Phe Phe Leu Leu Phe Leu 20
 530 535 540

Val Thr Leu Val Leu Ala Ala Ala Arg Pro Arg Trp Arg
 545 550 555

<210> 10
 <211> 1677
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(1674)

<400> 10
 atg gag ctc cgg gcc cga ggc tgg tgg ctg cta tgt gcg gcc gca gcg 48
 Met Glu Leu Arg Ala Arg Gly Trp Trp Leu Leu Cys Ala Ala Ala Ala
 1 5 10 15

ctg gtc gcc tgc gcc cgc ggg gac ccg gcc agc aag agc cggtgc 96

Leu Val Ala Cys Ala Arg Gly Asp Pro Ala Ser Lys Ser Arg Ser Cys		
20	25	30
ggc gag gtc cgc cag atc tac gga gcc aag ggc ttc agc ctg agc gac	144	
Gly Glu Val Arg Gln Ile Tyr Gly Ala Lys Gly Phe Ser Leu Ser Asp		
35	40	45
gtg ccc cag gcg gag atc tcg ggt gag cac ctg cgg atc tgt ccc cag	192	
Val Pro Gln Ala Glu Ile Ser Gly Glu His Leu Arg Ile Cys Pro Gln		
50	55	60
ggc tac acc tgc tgc acc agc gag atg gag gag aac ctg gcc aac cgc	240	10
Gly Tyr Thr Cys Cys Thr Ser Glu Met Glu Glu Asn Leu Ala Asn Arg		
65	70	75
agc cat gcc gag ctg gag acc gcg ctc cgg gac agc agc cgc gtc ctg	288	
Ser His Ala Glu Leu Glu Thr Ala Leu Arg Asp Ser Ser Arg Val Leu		
85	90	95
cag gcc atg ctt gcc acc cag ctg cgc agc ttc gat gac cac ttc cag	336	
Gln Ala Met Leu Ala Thr Gln Leu Arg Ser Phe Asp Asp His Phe Gln		
100	105	110
cac ctg ctg aac gac tcg gag cgg acg ctg cag gcc acc ttc ccc ggc	384	20
His Leu Leu Asn Asp Ser Glu Arg Thr Leu Gln Ala Thr Phe Pro Gly		
115	120	125
gcc ttc gga gag ctg tac acg cag aac gcg agg gcc ttc cgg gac ctg	432	
Ala Phe Gly Glu Leu Tyr Thr Gln Asn Ala Arg Ala Phe Arg Asp Leu		
130	135	140
tac tca gag ctg cgc ctg tac tac cgc ggt gcc aac ctg cac ctg gag	480	
Tyr Ser Glu Leu Arg Leu Tyr Arg Gly Ala Asn Leu His Leu Glu		
145	150	155
gag acg ctg gcc gag ttc tgg gcc cgc ctg ctc gag cgc ctc ttc aag	528	30
Glu Thr Leu Ala Glu Phe Trp Ala Arg Leu Leu Glu Arg Leu Phe Lys		
165	170	175
cag ctg cac ccc cag ctg ctg cct gat gac tac ctg gac tgc ctg	576	
Gln Leu His Pro Gln Leu Leu Leu Pro Asp Asp Tyr Leu Asp Cys Leu		
180	185	190
ggc aag cag gcc gag gcg ctg cgg ccc ttc egg gag gcc ccg aga gag	624	
Gly Lys Gln Ala Glu Ala Leu Arg Pro Phe Gly Glu Ala Pro Arg Glu		
195	200	205

ctg cgc ctg cgg gcc acc cgt gcc ttc gtg gct gct cgc tcc ttt gtg Leu Arg Leu Arg Ala Thr Arg Ala Phe Val Ala Ala Arg Ser Phe Val 210 215 220	672
cag ggc ctg ggc gtg gcc agc gac gtg gtc cgg aaa gtg gct cag gtc Gln Gly Leu Gly Val Ala Ser Asp Val Val Arg Lys Val Ala Gln Val 225 230 235 240	720
ccc ctg ggc ccg gag tgc tcg aga gct gtc atg aag ctg gtc tac tgt Pro Leu Gly Pro Glu Cys Ser Arg Ala Val Met Lys Leu Val Tyr Cys 245 250 255	768
gct cac tgc ctg gga gtc ccc ggc gcc agg ccc tgc cct gac tat tgc Ala His Cys Leu Gly Val Pro Gly Ala Arg Pro Cys Pro Asp Tyr Cys 260 265 270	816
cga aat gtg ctc aag ggc tgc ctt gcc aac cag gcc gac ctg gac gcc Arg Asn Val Leu Lys Gly Cys Leu Ala Asn Gln Ala Asp Leu Asp Ala 275 280 285	864
gag tgg agg aac ctc ctg gac tcc atg gtg ctc atc acc gac aag ttc Glu Trp Arg Asn Leu Leu Asp Ser Met Val Leu Ile Thr Asp Lys Phe 290 295 300	912
tgg ggt aca tcg ggt gtg gag agt gtc atc ggc agc gtg cac acg tgg Trp Gly Thr Ser Gly Val Glu Ser Val Ile Gly Ser Val His Thr Trp 305 310 315 320	960
ctg gcg gag gcc atc aac gcc ctc cag gac aac agg gac acg ctc acg Leu Ala Glu Ala Ile Asn Ala Leu Gln Asp Asn Arg Asp Thr Leu Thr 325 330 335	1008
gcc aag gtc atc cag ggc tgc ggg aac ccc aag gtc aac ccc cag ggc Ala Lys Val Ile Gln Gly Cys Gly Asn Pro Lys Val Asn Pro Gln Gly 340 345 350	1056
cct ggg cct gag gag aag cgg cgc cgg ggc aag ctg gcc ccg cgg gag Pro Gly Pro Glu Glu Lys Arg Arg Gly Lys Leu Ala Pro Arg Glu 355 360 365	1104
agg cca cct tca ggc acg ctg gag aag ctg gtc tct gaa gcc aag gcc Arg Pro Pro Ser Gly Thr Leu Glu Lys Leu Val Ser Glu Ala Lys Ala 370 375 380	1152
cag ctc cgc gac gtc cag gac ttc tgg atc acg ctc cca ggg aca ctg	1200

10

20

30

Gln Leu Arg Asp Val Gln Asp Phe Trp Ile Ser Leu Pro Gly Thr Leu 385 390 395 400		
tgc agt gag aag atg gcc ctg agc act gcc agt gat gac cgc tgc tgg Cys Ser Glu Lys Met Ala Leu Ser Thr Ala Ser Asp Asp Arg Cys Trp 405 410 415	1248	
aac ggg atg gcc aga ggc cggt tac ctc ccc gag gtc atg ggt gac ggc Asn Gly Met Ala Arg Gly Arg Tyr Leu Pro Glu Val Met Gly Asp Gly 420 425 430	1296	
ctg gcc aac cag atc aac aac ccc gag gtg gag gtg gac atc acc aag Leu Ala Asn Gln Ile Asn Asn Pro Glu Val Glu Val Asp Ile Thr Lys 435 440 445	1344	10
ccg gac atg acc atc cgg cag cag atc cag ctg aag atc atg acc Pro Asp Met Thr Ile Arg Gln Gln Ile Met Gln Leu Lys Ile Met Thr 450 455 460	1392	
aac cgg ctg cgc agc gcc tac aac ggc aac gac gtg gac ttc cag gac Asn Arg Leu Arg Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Asp Val Asp Phe Gln Asp 465 470 475 480	1440	
gcc agt gac gac ggc agc ggc tcg ggc agc ggt gat ggc tgt ctg gat Ala Ser Asp Asp Gly Ser Gly Ser Gly Asp Gly Cys Leu Asp 485 490 495	1488	20
gac ctc tgc ggc cgg aag gtc agc agg aag agc tcc agc tcc cgg acg Asp Leu Cys Gly Arg Lys Val Ser Arg Lys Ser Ser Ser Arg Thr 500 505 510	1536	
ccc ttg acc cat gcc ctc cca ggc ctg tca gag cag gaa gga cag aag Pro Leu Thr His Ala Leu Pro Gly Leu Ser Glu Gln Glu Gly Gln Lys 515 520 525	1584	
acc tcg gct gcc agc tgc ccc cag ccc ccg acc ttc ctc ctg ccc ctc Thr Ser Ala Ala Ser Cys Pro Gln Pro Pro Thr Phe Leu Leu Pro Leu 530 535 540	1632	30
ctc ctc ttc ctg gcc ctt aca gta gcc agg ccc cgg tgg cgg taa Leu Leu Phe Leu Ala Leu Thr Val Ala Arg Pro Arg Trp Arg 545 550 555	1677	
<210> 11		
<211> 558		

<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 11
Met Glu Leu Arg Ala Arg Gly Trp Trp Leu Leu Cys Ala Ala Ala Ala
1 5 10 15

Leu Val Ala Cys Ala Arg Gly Asp Pro Ala Ser Lys Ser Arg Ser Cys
20 25 30

Gly Glu Val Arg Gln Ile Tyr Gly Ala Lys Gly Phe Ser Leu Ser Asp
35 40 45

Val Pro Gln Ala Glu Ile Ser Gly Glu His Leu Arg Ile Cys Pro Gln
50 55 60

Gly Tyr Thr Cys Cys Thr Ser Glu Met Glu Glu Asn Leu Ala Asn Arg
65 70 75 80

Ser His Ala Glu Leu Glu Thr Ala Leu Arg Asp Ser Ser Arg Val Leu
85 90 95

Gln Ala Met Leu Ala Thr Gln Leu Arg Ser Phe Asp Asp His Phe Gln
100 105 110

His Leu Leu Asn Asp Ser Glu Arg Thr Leu Gln Ala Thr Phe Pro Gly
115 120 125

Ala Phe Gly Glu Leu Tyr Thr Gln Asn Ala Arg Ala Phe Arg Asp Leu
130 135 140

Tyr Ser Glu Leu Arg Leu Tyr Tyr Arg Gly Ala Asn Leu His Leu Glu
145 150 155 160

Glu Thr Leu Ala Glu Phe Trp Ala Arg Leu Leu Glu Arg Leu Phe Lys
165 170 175

Gln Leu His Pro Gln Leu Leu Leu Pro Asp Asp Tyr Leu Asp Cys Leu
180 185 190

Gly Lys Gln Ala Glu Ala Leu Arg Pro Phe Gly Glu Ala Pro Arg Glu
195 200 205

Leu Arg Leu Arg Ala Thr Arg Ala Phe Val Ala Ala Arg Ser Phe Val
210 215 220

10
Gln Gly Leu Gly Val Ala Ser Asp Val Val Arg Lys Val Ala Gln Val
225 230 235 240

Pro Leu Gly Pro Glu Cys Ser Arg Ala Val Met Lys Leu Val Tyr Cys
245 250 255

Ala His Cys Leu Gly Val Pro Gly Ala Arg Pro Cys Pro Asp Tyr Cys
260 265 270

20
Arg Asn Val Leu Lys Gly Cys Leu Ala Asn Gln Ala Asp Leu Asp Ala
275 280 285

Glu Trp Arg Asn Leu Leu Asp Ser Met Val Leu Ile Thr Asp Lys Phe
290 295 300

Trp Gly Thr Ser Gly Val Glu Ser Val Ile Gly Ser Val His Thr Trp
305 310 315 320

30
Leu Ala Glu Ala Ile Asn Ala Leu Gln Asp Asn Arg Asp Thr Leu Thr
325 330 335

Ala Lys Val Ile Gln Gly Cys Gly Asn Pro Lys Val Asn Pro Gln Gly
340 345 350

Pro Gly Pro Glu Glu Lys Arg Arg Arg Gly Lys Leu Ala Pro Arg Glu
355 360 365

Arg Pro Pro Ser Gly Thr Leu Glu Lys Leu Val Ser Glu Ala Lys Ala
370 375 380

Gln Leu Arg Asp Val Gln Asp Phe Trp Ile Ser Leu Pro Gly Thr Leu
385 390 395 400

10 Cys Ser Glu Lys Met Ala Leu Ser Thr Ala Ser Asp Asp Arg Cys Trp
405 410 415

Asn Gly Met Ala Arg Gly Arg Tyr Leu Pro Glu Val Met Gly Asp Gly
420 425 430

Leu Ala Asn Gln Ile Asn Asn Pro Glu Val Val Asp Ile Thr Lys
435 440 445

20 Pro Asp Met Thr Ile Arg Gln Gln Ile Met Gln Leu Lys Ile Met Thr
450 455 460

Asn Arg Leu Arg Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Asp Val Asp Phe Gln Asp
465 470 475 480

Ala Ser Asp Asp Gly Ser Gly Ser Gly Asp Gly Cys Leu Asp
485 490 495

30 Asp Leu Cys Gly Arg Lys Val Ser Arg Lys Ser Ser Ser Arg Thr
500 505 510

Pro Leu Thr His Ala Leu Pro Gly Leu Ser Glu Gln Glu Gly Gln Lys
515 520 525

Thr Ser Ala Ala Ser Cys Pro Gln Pro Pro Thr Phe Leu Leu Pro Leu
530 535 540

Leu Leu Phe Leu Ala Leu Thr Val Ala Arg Pro Arg Trp Arg
 545 550 555

<210> 12
 <211> 369
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(366)

10

<400> 12
 atg aag cct ttt cat act gcc ctc tcc ttc ctc att ctt aca act gct
 Met Lys Pro Phe His Thr Ala Leu Ser Phe Leu Ile Leu Thr Thr Ala
 1 5 10 15

48

ctt gga atc tgg gcc cag atc aca cat gca aca gag aca aaa gaa gtc
 Leu Gly Ile Trp Ala Gln Ile Thr His Ala Thr Glu Thr Lys Glu Val
 20 25 30

96

cag agc agt ctg aag gca cag caa ggg ctt gaa att gaa atg ttt cac
 Gln Ser Ser Leu Lys Ala Gln Gln Gly Leu Glu Ile Glu Met Phe His
 35 40 45

144

20

atg ggc ttt caa gac tct tca gat tgc tgc ctg tcc tat aac tca cgg
 Met Gly Phe Gln Asp Ser Ser Asp Cys Cys Leu Ser Tyr Asn Ser Arg
 50 55 60

192

att cag tgt tca aga ttt ata ggt tat ttt ccc acc agt ggt ggg tgt
 Ile Gln Cys Ser Arg Phe Ile Gly Tyr Phe Pro Thr Ser Gly Gly Cys
 65 70 75 80

240

acc agg ccg ggc atc atc ttt atc agc aag agg ggg ttc cag gtc tgt
 Thr Arg Pro Gly Ile Ile Phe Ile Ser Lys Arg Gly Phe Gln Val Cys
 85 90 95

288

30

gcc aac ccc agt gat cgg aga gtt cag aga tgc att gaa aga ttg gag
 Ala Asn Pro Ser Asp Arg Arg Val Gln Arg Cys Ile Glu Arg Leu Glu
 100 105 110

336

caa aac tca caa cca ccg acc tac aaa caa taa
 Gln Asn Ser Gln Pro Arg Thr Tyr Lys Gln

369

115

120

<210> 13
<211> 122
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 13
Met Lys Pro Phe His Thr Ala Leu Ser Phe Leu Ile Leu Thr Thr Ala
1 5 10 15

10

Leu Gly Ile Trp Ala Gln Ile Thr His Ala Thr Glu Thr Lys Glu Val
20 25 30

Gln Ser Ser Leu Lys Ala Gln Gln Gly Leu Glu Ile Glu Met Phe His
35 40 45

Met Gly Phe Gln Asp Ser Ser Asp Cys Cys Leu Ser Tyr Asn Ser Arg
50 55 60

20

Ile Gln Cys Ser Arg Phe Ile Gly Tyr Phe Pro Thr Ser Gly Gly Cys
65 70 75 80

Thr Arg Pro Gly Ile Ile Phe Ile Ser Lys Arg Gly Phe Gln Val Cys
85 90 95

Ala Asn Pro Ser Asp Arg Arg Val Gln Arg Cys Ile Glu Arg Leu Glu
100 105 110

30

Gln Asn Ser Gln Pro Arg Thr Tyr Lys Gln
115 120

<210> 14
<211> 1223
<212> DNA
<213> Mus musculus

<220>

<221> CDS

<222> (84)..(1121)

<400> 14

gtgaccggaa agggagcccc gtggtagagg tgaccggagc tgagcatttc agatctgctt 60

agtaaacccg tgtatcgccc acc atg ttg gct gca agg ctt gtg tgt ctc cgg
Met Leu Ala Ala Arg Leu Val Cys Leu Arg
1 5 10aca cta cct tcc agg gtt ttc cag ccc act ttc atc acc aag gcc tct 161 10
Thr Leu Pro Ser Arg Val Phe Gln Pro Thr Phe Ile Thr Lys Ala Ser
15 20 25cca ctt gtg aag aat tcc atc aca aag aac caa tgg ctc gta aca ccc 209
Pro Leu Val Lys Asn Ser Ile Thr Lys Asn Gln Trp Leu Val Thr Pro
30 35 40agc agg gaa tat got acc aag aca aga att agg act cac cgt ggg aaa 257
Ser Arg Glu Tyr Ala Thr Lys Thr Arg Ile Arg Thr His Arg Gly Lys
45 50 55act gga caa gaa ctg aaa gag gca gcc ttg gaa cca tca atg gaa aaa 305 20
Thr Gly Gln Glu Leu Lys Glu Ala Ala Leu Glu Pro Ser Met Glu Lys
60 65 70atc ttt aaa atc gat caa atg gga agg tgg ttt gtt gct gga gga gca 353
Ile Phe Lys Ile Asp Gln Met Gly Arg Trp Phe Val Ala Gly Gly Ala
75 80 85 90gct gtt ggt ctt gga gcg ctc tgc tac tat ggc ttg gga atg tct aat 401
Ala Val Gly Leu Gly Ala Leu Cys Tyr Tyr Gly Leu Gly Met Ser Asn
95 100 105gag att gga gct atc gaa aag gct gta att tgg cct cag tat gta aag 449 30
Glu Ile Gly Ala Ile Glu Lys Ala Val Ile Trp Pro Gln Tyr Val Lys
110 115 120gat aga att cat tct act tac atg tac tta gca gga agg tat tgt tta 497
Asp Arg Ile His Ser Thr Tyr Met Tyr Leu Ala Gly Arg Tyr Cys Leu
125 130 135aca gct ttg tct gcc ttg gca gta gcc aga aca cct gct ctc atg aac 545
Thr Ala Leu Ser Ala Leu Ala Val Ala Arg Thr Pro Ala Leu Met Asn
140 145 150

ttc atg atg aca gac tct tgg gtg aca att ggt gac acc ttt gca gcc Phe Met Met Thr Gly Ser Trp Val Thr Ile Gly Ala Thr Phe Ala Ala 155 160 165 170	593
atg att gga gct gga atg ctt gta cac tca ata tca tat gag cag agc Met Ile Gly Ala Gly Met Leu Val His Ser Ile Ser Tyr Glu Gln Ser 175 180 185	641
cca ggc cca aag cat ctg gct tgg atg ctg cat tct ggt gtg atg ggt Pro Gly Pro Lys His Leu Ala Trp Met Leu His Ser Gly Val Met Gly 190 195 200	689
gca gtt gtg gct cct ctg acg atc tta ggg ggg cct ctt ctc ctg aga Ala Val Val Ala Pro Leu Thr Ile Leu Gly Gly Pro Leu Leu Leu Arg 205 210 215	737
gcc gca tgg tac acc gct ggt att gtg gga ggc ctc tct act gtg gcc Ala Ala Trp Tyr Thr Ala Gly Ile Val Gly Gly Leu Ser Thr Val Ala 220 225 230	785
atg tgt gcg cct agt gag aag ttt ctg aac atg gga gca ccc ctg gga Met Cys Ala Pro Ser Glu Lys Phe Leu Asn Met Gly Ala Pro Leu Gly 235 240 245 250	833
gtg ggc ctg ggt ctt gtc ttt gcg tct tct ctg ggg tct atg ttt ctt Val Gly Leu Gly Leu Val Phe Ala Ser Ser Leu Gly Ser Met Phe Leu 255 260 265	881
ccc cct acc tct gtg gct ggt gcc act ctg tac tca gtg gca atg tat Pro Pro Thr Ser Val Ala Gly Ala Thr Leu Tyr Ser Val Ala Met Tyr 270 275 280	929
ggt gga tta gtt ctt ttc agc atg ttc ctt ctg tat gat act cag aaa Gly Gly Leu Val Leu Phe Ser Met Phe Leu Leu Tyr Asp Thr Gln Lys 285 290 295	977
gta atc aaa cgt gca gaa ata aca ccc atg tat gga gct caa aag tat Val Ile Lys Arg Ala Glu Ile Thr Pro Met Tyr Gly Ala Gln Lys Tyr 300 305 310	1025
gat ccc atc aat tcg atg ttg aca atc tac atg gat aca tta aat ata Asp Pro Ile Asn Ser Met Leu Thr Ile Tyr Met Asp Thr Leu Asn Ile 315 320 325 330	1073
ttt atg cga gtt gca act atg cta gca act gga agc aac aga aag aaa	1121

10

20

30

Phe Met Arg Val Ala Thr Met Leu Ala Thr Gly Ser Asn Arg Lys Lys
 335 340 345

tgaagtaacc gcttgtatg tctccgctca ctgatgtctt gcttgtaa taggacaga 1181

tagtcattac agtttgcatc agcagaattc ccgcgcggcc gc 1223

<210> 15

<211> 346

<212> PRT

<213> Mus musculus

10

<400> 15

Met Leu Ala Ala Arg Leu Val Cys Leu Arg Thr Leu Pro Ser Arg Val

1 5 10 15

Phe Gln Pro Thr Phe Ile Thr Lys Ala Ser Pro Leu Val Lys Asn Ser
 20 25 30

Ile Thr Lys Asn Gln Trp Leu Val Thr Pro Ser Arg Glu Tyr Ala Thr
 35 40 45

20

Lys Thr Arg Ile Arg Thr His Arg Gly Lys Thr Gly Gln Glu Leu Lys
 50 55 60

Glu Ala Ala Leu Glu Pro Ser Met Glu Lys Ile Phe Lys Ile Asp Gln
 65 70 75 80

Met Gly Arg Trp Phe Val Ala Gly Gly Ala Ala Val Gly Leu Gly Ala
 85 90 95

30

Leu Cys Tyr Tyr Gly Leu Gly Met Ser Asn Glu Ile Gly Ala Ile Glu
 100 105 110

Lys Ala Val Ile Trp Pro Gln Tyr Val Lys Asp Arg Ile His Ser Thr
 115 120 125

Tyr Met Tyr Leu Ala Gly Arg Tyr Cys Leu Thr Ala Leu Ser Ala Leu
130 135 140

Ala Val Ala Arg Thr Pro Ala Leu Met Asn Phe Met Met Thr Gly Ser
145 150 155 160

Trp Val Thr Ile Gly Ala Thr Phe Ala Ala Met Ile Gly Ala Gly Met
165 170 175

Leu Val His Ser Ile Ser Tyr Glu Gln Ser Pro Gly Pro Lys His Leu
180 185 190

Ala Trp Met Leu His Ser Gly Val Met Gly Ala Val Val Ala Pro Leu
195 200 205

Thr Ile Leu Gly Gly Pro Leu Leu Leu Arg Ala Ala Trp Tyr Thr Ala
210 215 220

Gly Ile Val Gly Gly Leu Ser Thr Val Ala Met Cys Ala Pro Ser Glu
225 230 235 240

Lys Phe Leu Asn Met Gly Ala Pro Leu Gly Val Gly Leu Gly Leu Val
245 250 255

Phe Ala Ser Ser Leu Gly Ser Met Phe Leu Pro Pro Thr Ser Val Ala
260 265 270

Gly Ala Thr Leu Tyr Ser Val Ala Met Tyr Gly Gly Leu Val Leu Phe
275 280 285

Ser Met Phe Leu Leu Tyr Asp Thr Gln Lys Val Ile Lys Arg Ala Glu
290 295 300

Ile Thr Pro Met Tyr Gly Ala Gln Lys Tyr Asp Pro Ile Asn Ser Met
305 310 315 320

10

20

30

Leu Thr Ile Tyr Met Asp Thr Leu Asn Ile Phe Met Arg Val Ala Thr
325 330 335

Met Leu Ala Thr Gly Ser Asn Arg Lys Lys
340 345

<210> 16
<211> 1038
<212> DNA
<213> *Homo sapiens* 10

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1035)

```

<400> 16
atg ttg gct gca agg ctg gtg tgt ctc cgg aca cta cct tct agg gtt 48
Met Leu Ala Ala Arg Leu Val Cys Leu Arg Thr Leu Pro Ser Arg Val
1           5           10          15

```

ttc cac cca gct ttc acc aag gcc tcc cct gtt gtg aag aat tcc atc 96
 Phe His Pro Ala Phe Thr Lys Ala Ser Pro Val Val Lys Asn Ser Ile
 20 25 30

acg aag aat caa tgg ctg tta aca cct agc agg gaa tat gcc acc aaa 144
Thr Lys Asn Gln Trp Leu Leu Thr Pro Ser Arg Glu Tyr Ala Thr Lys
35 40 45

aca aga att ggg atc cg^g cgt ggg aga act ggc caa gaa ctc aaa gag 192
Thr Arg Ile Gly Ile Arg Arg Gly Arg Thr Gly Gln Glu Leu Lys Glu
50 55 60

```

gca gca ttg gaa cca tcg atg gaa aaa ata ttt aaa att gat cag atg      240
Ala Ala Leu Glu Pro Ser Met Glu Lys Ile Phe Lys Ile Asp Gln Met
65          70          75          80

```

gga aga tgg ttt gtt gct gga ggg gct gct gtt ggt ctt gga gca ttg 288
Gly Arg Trp Phe Val Ala Gly Gly Ala Ala Val Gly Leu Gly Ala Leu
85 90 95

tgc tac tat ggc ttg gga ctg tct aat gag att gga gct att gaa aag 336
Cys Tyr Tyr Gly Leu Gly Leu Ser Asn Glu Ile Gly Ala Ile Glu Lys

100	105	110	
gct gta att tgg cct cag tat gtc aag gat aga att cat tcc acc tat Ala Val Ile Trp Pro Gln Tyr Val Lys Asp Arg Ile His Ser Thr Tyr			384
115	120	125	
atg tac tta gca ggg agt att ggt tta aca gct ttg tct gcc ata gca Met Tyr Leu Ala Gly Ser Ile Gly Leu Thr Ala Leu Ser Ala Ile Ala			432
130	135	140	
atc agc aga acg cct gtt ctc atg aac ttc atg atg aga ggc tct tgg Ile Ser Arg Thr Pro Val Leu Met Asn Phe Met Met Arg Gly Ser Trp			480
145	150	155	10
atc agc aga acg cct gtt ctc atg aac ttc atg atg aga ggc tct tgg Ile Ser Arg Thr Pro Val Leu Met Asn Phe Met Met Arg Gly Ser Trp			480
gtg aca att ggt gtg acc ttt gca gcc atg gtt gga gct gga atg ctg Val Thr Ile Gly Val Thr Phe Ala Ala Met Val Gly Ala Gly Met Leu			528
165	170	175	
gta cga tca ata cca tat gac cag agc cca ggc cca aag cat ctt gct Val Arg Ser Ile Pro Tyr Asp Gln Ser Pro Gly Pro Lys His Leu Ala			576
180	185	190	
tgg ttg cta cat tct ggt gtg atg ggt gca gtg gtg gct cct ctg aca Trp Leu Leu His Ser Gly Val Met Gly Ala Val Val Ala Pro Leu Thr			624
195	200	205	20
ata tta ggg ggt cct ctt ctc atc aga gct gca tgg tac aca gct ggc Ile Leu Gly Gly Pro Leu Leu Ile Arg Ala Ala Trp Tyr Thr Ala Gly			672
210	215	220	
att gtg gga ggc ctc tcc act gtg gcc atg tgt ggc ccc agt gaa aag Ile Val Gly Gly Leu Ser Thr Val Ala Met Cys Ala Pro Ser Glu Lys			720
225	230	235	240
ttt ctg aac atg ggt gca ccc ctg gga gtg ggc ctg ggt ctc gtc ttt Phe Leu Asn Met Gly Ala Pro Leu Gly Val Gly Leu Gly Leu Val Phe			768
245	250	255	30
gtg tcc tca ttg gga tct atg ttt ctt cca cct acc acc gtg gct ggt Val Ser Ser Leu Gly Ser Met Phe Leu Pro Pro Thr Thr Val Ala Gly			816
260	265	270	
gcc act ctt tac tca gtg gca atg tac ggt gga tta gtt ctt ttc agc Ala Thr Leu Tyr Ser Val Ala Met Tyr Gly Gly Leu Val Leu Phe Ser			864
275	280	285	

atg ttc ctt ctg tat gat acc cag aaa gta atc aag cgt gca gaa gta Met Phe Leu Leu Tyr Asp Thr Gln Lys Val Ile Lys Arg Ala Glu Val 290 295 300	912
tca cca atg tat gga gtt caa aaa tat gat ccc att aac tcg atg ctg Ser Pro Met Tyr Gly Val Gln Lys Tyr Asp Pro Ile Asn Ser Met Leu 305 310 315 320	960
agt atc tac atg gat aca tta aat ata ttt atg cga gtt gca act atg Ser Ile Tyr Met Asp Thr Leu Asn Ile Phe Met Arg Val Ala Thr Met 325 330 335	1008
ctg gca act gga ggc aac aga aag aaa tga Leu Ala Thr Gly Gly Asn Arg Lys Lys 340 345	1038
<210> 17	
<211> 345	
<212> PRT	
<213> Homo sapiens	
<400> 17	
Met Leu Ala Ala Arg Leu Val Cys Leu Arg Thr Leu Pro Ser Arg Val 1 5 10 15	20
Phe His Pro Ala Phe Thr Lys Ala Ser Pro Val Val Lys Asn Ser Ile 20 25 30	
Thr Lys Asn Gln Trp Leu Leu Thr Pro Ser Arg Glu Tyr Ala Thr Lys 35 40 45	
Thr Arg Ile Gly Ile Arg Arg Gly Arg Thr Gly Gln Glu Leu Lys Glu 50 55 60	30
Ala Ala Leu Glu Pro Ser Met Glu Lys Ile Phe Lys Ile Asp Gln Met 65 70 75 80	
Gly Arg Trp Phe Val Ala Gly Gly Ala Ala Val Gly Leu Gly Ala Leu 85 90 95	

Cys Tyr Tyr Gly Leu Gly Leu Ser Asn Glu Ile Gly Ala Ile Glu Lys
100 105 110

Ala Val Ile Trp Pro Gln Tyr Val Lys Asp Arg Ile His Ser Thr Tyr
115 120 125

Met Tyr Leu Ala Gly Ser Ile Gly Leu Thr Ala Leu Ser Ala Ile Ala
130 135 140

Ile Ser Arg Thr Pro Val Leu Met Asn Phe Met Met Arg Gly Ser Trp
145 150 155 160

Val Thr Ile Gly Val Thr Phe Ala Ala Met Val Gly Ala Gly Met Leu
165 170 175

Val Arg Ser Ile Pro Tyr Asp Gln Ser Pro Gly Pro Lys His Leu Ala
180 185 190

Trp Leu Leu His Ser Gly Val Met Gly Ala Val Val Ala Pro Leu Thr
195 200 205

Ile Leu Gly Gly Pro Leu Leu Ile Arg Ala Ala Trp Tyr Thr Ala Gly
210 215 220

Ile Val Gly Gly Leu Ser Thr Val Ala Met Cys Ala Pro Ser Glu Lys
225 230 235 240

Phe Leu Asn Met Gly Ala Pro Leu Gly Val Gly Leu Val Phe
245 250 255

Val Ser Ser Leu Gly Ser Met Phe Leu Pro Pro Thr Thr Val Ala Gly
260 265 270

Ala Thr Leu Tyr Ser Val Ala Met Tyr Gly Gly Leu Val Leu Phe Ser

275

280

285

Met Phe Leu Leu Tyr Asp Thr Gln Lys Val Ile Lys Arg Ala Glu Val
 290 295 300

Ser Pro Met Tyr Gly Val Gln Lys Tyr Asp Pro Ile Asn Ser Met Leu
 305 310 315 320

Ser Ile Tyr Met Asp Thr Leu Asn Ile Phe Met Arg Val Ala Thr Met
 325 330 335

Leu Ala Thr Gly Gly Asn Arg Lys Lys
 340 345

<210> 18

<211> 447

<212> DNA

<213> Mus musculus

20

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(444)

<400> 18

atg agc acc tcg tct gcg cgg cct gca gtc ctg gcc ctt gcc ggg ctg
 Met Ser Thr Ser Ser Ala Arg Pro Ala Val Leu Ala Leu Ala Gly Leu
 1 5 10 15

48

gct ctg ctc ctt ctg ctg tgc ctg ggt cca gat ggc ata agt gga aac
 Ala Leu Leu Leu Leu Cys Leu Gly Pro Asp Gly Ile Ser Gly Asn
 20 25 30

96

30

aaa ctc aag aag atg ctc cag aaa cga gaa gga cct gtc ccg tca aag
 Lys Leu Lys Lys Met Leu Gln Lys Arg Glu Gly Pro Val Pro Ser Lys
 35 40 45

144

act aat gta gct gta gcc gag aac aca gca aag gaa ttc cta ggt ggc
 Thr Asn Val Ala Val Ala Glu Asn Thr Ala Lys Glu Phe Leu Gly Gly
 50 55 60

192

ctg aag cgt gcc aaa cga cag ctg tgg gac cgt acg cgg cct gag gta

240

Leu Lys Arg Ala Lys Arg Gln Leu Trp Asp Arg Thr Arg Pro Glu Val			
65	70	75	80
cag cag tgg tac cag cag ttc ctc tac atg ggc ttt gat gag gct aaa			288
Gln Gln Trp Tyr Gln Gln Phe Leu Tyr Met Gly Phe Asp Glu Ala Lys			
85	90	95	
ttt gaa gat gat gtc aac tat tgg cta aac aga aat cga aac ggc cat			336
Phe Glu Asp Asp Val Asn Tyr Trp Leu Asn Arg Asn Arg Asn Gly His			
100	105	110	
gac tac tat ggt gac tac tac cag cgt cat tat gat gaa gat gcg gcc			384
Asp Tyr Tyr Gly Asp Tyr Tyr Gln Arg His Tyr Asp Glu Asp Ala Ala			
115	120	125	
att ggt ccc cac agc cgg gaa agc ttc agg cat gga gcc agt gtg aac			432
Ile Gly Pro His Ser Arg Glu Ser Phe Arg His Gly Ala Ser Val Asn			
130	135	140	
tat gat gac tat taa			447
Tyr Asp Asp Tyr			
145			
20			
<210> 19			
<211> 148			
<212> PRT			
<213> Mus musculus			
<400> 19			
Met Ser Thr Ser Ser Ala Arg Pro Ala Val Leu Ala Leu Ala Gly Leu			
1	5	10	15
Ala Leu Leu Leu Leu Cys Leu Gly Pro Asp Gly Ile Ser Gly Asn			
20	25	30	
30			
Lys Leu Lys Lys Met Leu Gln Lys Arg Glu Gly Pro Val Pro Ser Lys			
35	40	45	
Thr Asn Val Ala Val Ala Glu Asn Thr Ala Lys Glu Phe Leu Gly Gly			
50	55	60	

Leu Lys Arg Ala Lys Arg Gln Leu Trp Asp Arg Thr Arg Pro Glu Val
 65 70 75 80

Gln Gln Trp Tyr Gln Gln Phe Leu Tyr Met Gly Phe Asp Glu Ala Lys
 85 90 95

Phe Glu Asp Asp Val Asn Tyr Trp Leu Asn Arg Asn Arg Asn Gly His
 100 105 110

Asp Tyr Tyr Gly Asp Tyr Tyr Gln Arg His Tyr Asp Glu Asp Ala Ala
 115 120 125

Ile Gly Pro His Ser Arg Glu Ser Phe Arg His Gly Ala Ser Val Asn
 130 135 140

Tyr Asp Asp Tyr
 145

<210> 20
<211> 447
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(444)

<400> 20
atg gct gcc tcc ccc gcg cgg cct gct gtc ctg gcc ctg acc ggg ctg 48
Met Ala Ala Ser Pro Ala Arg Pro Ala Val Leu Ala Leu Thr Gly Leu
1 5 10 15

gcg ctg ctc ctg ctc ctg tgc tgg ggc cca ggt ggc ata agt gga aat 96
Ala Leu Leu Leu Leu Cys Trp Gly Pro Gly Gly Ile Ser Gly Asn
20 25 30

aaa ctc aag ctg atg ctt caa aaa cga gaa gca cct gtt cca act aag 144
Lys Leu Lys Leu Met Leu Gln Lys Arg Glu Ala Pro Val Pro Thr Lys
35 40 45

10

20

30

act aaa gtg gcc gtt gat gag aat aaa gcc aaa gaa ttc ctt ggc agc Thr Lys Val Ala Val Asp Glu Asn Lys Ala Lys Glu Phe Leu Gly Ser 50 55 60	192
ctg aag cgc cag aag cgg cag ctg tgg gac cgg act cgg ccc gag gtg Leu Lys Arg Gln Lys Arg Gln Leu Trp Asp Arg Thr Arg Pro Glu Val 65 70 75 80	240
cag cag tgg tac cag cag ttt ctc tac atg ggc ttt gac gaa gcg aaa Gln Gln Trp Tyr Gln Gln Phe Leu Tyr Met Gly Phe Asp Glu Ala Lys 85 90 95	288
ttt gaa gat gac atc acc tat tgg ctt aac aga gat cga aat gga cat Phe Glu Asp Asp Ile Thr Tyr Trp Leu Asn Arg Asp Arg Asn Gly His 100 105 110	336
gaa tac tat ggc gat tac tac caa cgt cac tat gat gaa gac tct gca Glu Tyr Tyr Gly Asp Tyr Tyr Gln Arg His Tyr Asp Glu Asp Ser Ala 115 120 125	384
att ggt ccc cgg agc ccc tac ggc ttt agg cat gga gcc agc gtc aac Ile Gly Pro Arg Ser Pro Tyr Gly Phe Arg His Gly Ala Ser Val Asn 130 135 140	432
tac gat gac tac taa Tyr Asp Asp Tyr 145	447
<210> 21	
<211> 148	
<212> PRT	
<213> Homo sapiens	
<400> 21	
Met Ala Ala Ser Pro Ala Arg Pro Ala Val Leu Ala Leu Thr Gly Leu 1 5 10 15	30
Ala Leu Leu Leu Leu Cys Trp Gly Pro Gly Gly Ile Ser Gly Asn 20 25 30	
Lys Leu Lys Leu Met Leu Gln Lys Arg Glu Ala Pro Val Pro Thr Lys 35 40 45	

Thr Lys Val Ala Val Asp Glu Asn Lys Ala Lys Glu Phe Leu Gly Ser
 50 55 60

Leu Lys Arg Gln Lys Arg Gln Leu Trp Asp Arg Thr Arg Pro Glu Val
 65 70 75 80

Gln Gln Trp Tyr Gln Gln Phe Leu Tyr Met Gly Phe Asp Glu Ala Lys
 85 90 95

Phe Glu Asp Asp Ile Thr Tyr Trp Leu Asn Arg Asp Arg Asn Gly His
 100 105 110

Glu Tyr Tyr Gly Asp Tyr Tyr Gln Arg His Tyr Asp Glu Asp Ser Ala
 115 120 125

Ile Gly Pro Arg Ser Pro Tyr Gly Phe Arg His Gly Ala Ser Val Asn
 130 135 140

Tyr Asp Asp Tyr
 145

<210> 22
 <211> 3132
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<220>
 <221> CDS
 <222> (630)..(1358)

<400> 22
 ggggtctgc atctccatcg gaaagtgcgc tggccacate cttcggcct ccggcagtg 60
 ttctgtctcc cttagctcaag gcagcgagaa acttcagctg tgaagtggtg gtggagagag 120
 ccctgggagc agcgactgga cccggacacc aagaagagag tggacgcgcc cctcgactag 180
 gaatcgctct cgcaaggcgga gaccaggcat ctcagcgctt gcggtcgcc ttgccccggcc 240

gcgcgtttt gctaggcgcc gccagccccg aaggaccctc ggggtccgcg gaccctctg	300	
cagccggcgg aatcctaaag ctgccaagag ctcccgccg gtgtcggcaa acttttccg	360	
agcccacgtg ctgaccaaac agcccggtc gcitccagag cctggcatgg agcgccgcmc	420	
ctaggcacgc cgtgcagccc gagagacgcg agcgcacggt tcaccgtgga gggagagatg	480	
ctcatcgagc caaattgatc attgcagccc cagggcagtg acatctgtct ctgagtcctc	540	
cctaggagcg cgaccgcac tgtctccctc caggagcccg tcatttcctc gacttttag	600	
aggtgtctct ccccagcccc accgtccag atg cgt ttt tgc ctc ttc tca ttt	653	10
Met Arg Phe Cys Leu Phe Ser Phe		
1 5		
gcc ctc atc att ctg aac tgt atg gat tac agc cag tgc caa ggc aac	701	
Ala Leu Ile Ile Leu Asn Cys Met Asp Tyr Ser Gln Cys Gln Gly Asn		
10 15 20		
cga tgg aga cgc aat aag cga gct agt tat gta tca aat ccc att tgc	749	
Arg Trp Arg Arg Asn Lys Arg Ala Ser Tyr Val Ser Asn Pro Ile Cys		
25 30 35 40		
aag ggt tgt ttg tct tgt tcg aag gac aat ggt tgc agc cga tgt caa	797	20
Lys Gly Cys Leu Ser Cys Ser Lys Asp Asn Gly Cys Ser Arg Cys Gln		
45 50 55		
cag aag ttg ttc ttt ttc ctt cga aga gaa gga atg cgt cag tat gga	845	
Gln Lys Leu Phe Phe Leu Arg Arg Glu Gly Met Arg Gln Tyr Gly		
60 65 70		
gag tgc ctg cat tcc tgc cca tca ggg tat tat gga cac cga gcc cca	893	
Glu Cys Leu His Ser Cys Pro Ser Gly Tyr Tyr Gly His Arg Ala Pro		
75 80 85		
gat atg aac aga tgt gca cga tgc aga ata gaa aac tgt gat tct tgc	941	30
Asp Met Asn Arg Cys Ala Arg Cys Arg Ile Glu Asn Cys Asp Ser Cys		
90 95 100		
ttt agc aaa gac ttt tgt acg aag tgc aaa gta ggc ttt tat ttg cat	989	
Phe Ser Lys Asp Phe Cys Thr Lys Cys Lys Val Gly Phe Tyr Leu His		
105 110 115 120		
aga ggc cgc tgc ttt gat gaa tgt cca gat ggt ttt gca ccg tta gat	1037	

Arg Gly Arg Cys Phe Asp Glu Cys Pro Asp Gly Phe Ala Pro Leu Asp		
125	130	135
gag act atg gaa tgt gta gaa ggt tgt gaa gtt ggt cat tgg agc gaa	1085	
Glu Thr Met Glu Cys Val Glu Gly Cys Glu Val Gly His Trp Ser Glu		
140	145	150
tgg gga acg tgt agc aga aac aac cgc acg tgt gga ttt aaa tgg ggt	1133	
Trp Gly Thr Cys Ser Arg Asn Asn Arg Thr Cys Gly Phe Lys Trp Gly		
155	160	165
ctg gaa acc aga aca cgg cag att gtt aaa aag cca gca aaa gac aca	1181	10
Leu Glu Thr Arg Thr Arg Gln Ile Val Lys Lys Pro Ala Lys Asp Thr		
170	175	180
ata cca tgt ccg acc att gcg gag tcc agg aga tgc aag atg gcc atg	1229	
Ile Pro Cys Pro Thr Ile Ala Glu Ser Arg Arg Cys Lys Met Ala Met		
185	190	195
agg cac tgt cca gga gga aag aga aca cca aag gca aaa gag aag aga	1277	
Arg His Cys Pro Gly Gly Lys Arg Thr Pro Lys Ala Lys Glu Lys Arg		
205	210	215
aac aag aag aag agg cgg aag ctg att gag aga gcc caa gag cag cac	1325	20
Asn Lys Lys Arg Arg Lys Ile Glu Arg Ala Gln Glu Gln His		
220	225	230
agc gtc ttc ctc gct aca gac aga gtg aac caa taaaatacaa gaaatagctg	1378	
Ser Val Phe Leu Ala Thr Asp Arg Val Asn Gln		
235	240	
gggcattttg aggtttctg ttttgttat gttgtgttt tgcaaaagtg cacaagcta	1438	
ctctccagtc cacactggtg gacagcattc ctgatcctct gaccagtatac catttcagt	1498	
aatgctgcag agggaggtgc ccaagcatgg actcagcggtt atttatgctt tgattggaa	1558	30
ctggggcctg tcatggcagg agcttgtga gctgagtcag cgggagctga tgcattgtta	1618	
cttttgtat gggcacatgt tgtcataaga acctgtccct ggcacggtgg acccacagga	1678	
ggcacaaggc ttagatcac caccagagaa tgcacctgtg cctatttga tggatggcaa	1738	
tgttaagcaa gcaaggactg ttcaactgtg actttcattt ctcacactgt gcactgtcaa	1798	
agacaaatgt gcatggaaaa atgttttagtg tcacacctatg gcgttctcag catcagtgac	1858	

<210> 23
<211> 243
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 23
Met Arg Phe Cys Leu Phe Ser Phe Ala Leu Ile Ile Leu Asn Cys Met
1 5 10 15

Asp Tyr Ser Gln Cys Gln Gly Asn Arg Trp Arg Arg Asn Lys Arg Ala
20 25 30 10

Ser Tyr Val Ser Asn Pro Ile Cys Lys Gly Cys Leu Ser Cys Ser Lys
35 40 45

Asp Asn Gly Cys Ser Arg Cys Gln Gln Lys Leu Phe Phe Phe Leu Arg
50 55 60

Arg Glu Gly Met Arg Gln Tyr Gly Glu Cys Leu His Ser Cys Pro Ser
65 70 75 80 20

Gly Tyr Tyr Gly His Arg Ala Pro Asp Met Asn Arg Cys Ala Arg Cys
85 90 95

Arg Ile Glu Asn Cys Asp Ser Cys Phe Ser Lys Asp Phe Cys Thr Lys
100 105 110

Cys Lys Val Gly Phe Tyr Leu His Arg Gly Arg Cys Phe Asp Glu Cys
115 120 125 30

Pro Asp Gly Phe Ala Pro Leu Asp Glu Thr Met Glu Cys Val Glu Gly
130 135 140

Cys Glu Val Gly His Trp Ser Glu Trp Gly Thr Cys Ser Arg Asn Asn
145 150 155 160

Arg Thr Cys Gly Phe Lys Trp Gly Leu Glu Thr Arg Thr Arg Gln Ile
 165 170 175

Val Lys Lys Pro Ala Lys Asp Thr Ile Pro Cys Pro Thr Ile Ala Glu
 180 185 190

Ser Arg Arg Cys Lys Met Ala Met Arg His Cys Pro Gly Gly Lys Arg
 195 200 205

10
 Thr Pro Lys Ala Lys Glu Lys Arg Asn Lys Lys Lys Arg Arg Lys Leu
 210 215 220

Ile Glu Arg Ala Gln Glu Gln His Ser Val Phe Leu Ala Thr Asp Arg
 225 230 235 240

Val Asn Gln

20
 <210> 24
 <211> 843
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<220>
 <221> CDS
 <222> (132)..(506)

<400> 24
 ggccattatg gcccggggct ttccgcgtcc gggagctgac cggccgtgtt cctctctcgt 60
 cttcctctgc gccccgcgtc cccgcctcg cgaccccgcc tctcctggac tcggcgccgc 30
 caacctgggc g atg ccc cgc tac gag ttg gct ttg att ctg aaa gcc atg 120
 Met Pro Arg Tyr Glu Leu Ala Leu Ile Leu Lys Ala Met
 1 5 10

cgg cgg cca gag acc gct gct ttg aaa cgt aca ata gaa tcc ctg 218
 Arg Arg Pro Glu Thr Ala Ala Leu Lys Arg Thr Ile Glu Ser Leu
 15 20 25

atg gac cga gga gcc ata gtg agg aac ttg gaa agc ctg ggt gag cgt Met Asp Arg Gly Ala Ile Val Arg Asn Leu Glu Ser Leu Gly Glu Arg 30 35 40 45	266
gcg ctc ccc tac agg atc tcg agt cac agc cag cag cac agc cga gga Ala Leu Pro Tyr Arg Ile Ser Ser His Ser Gln Gln His Ser Arg Gly 50 55 60	314
ggg tat ttc ctg gtg gat ttt tat gct ccg aca agt gct gtg gag aac Gly Tyr Phe Leu Val Asp Phe Tyr Ala Pro Thr Ser Ala Val Glu Asn 65 70 75	362
ata ctg gaa cac ttg gcg cga gac att gac gtg gtt aga cca aat att Ile Leu Glu His Leu Ala Arg Asp Ile Asp Val Val Arg Pro Asn Ile 80 85 90	410
gtg aaa cac cct ctg acc cag gaa gta aaa gag tgt gac ggc ata gtc Val Lys His Pro Leu Thr Gln Glu Val Lys Glu Cys Asp Gly Ile Val 95 100 105	458
cca gtc cca ctt gaa gaa aaa ctg tat tca aca aag agg agg aag aag Pro Val Pro Leu Glu Glu Lys Leu Tyr Ser Thr Lys Arg Arg Lys Lys 110 115 120 125	506
tgagaagatt caccagattc tggcctata tttaatccta agggcactat gggtgctgct 566	
agtttgttgt ctaggatact ttagccatg accatttgc tgcatggagg agaaactgct 626	
ggccgagacc tgccctgatg tctctgctga gatttcatcc cacttgtggg gtttgcggg 686	
agtgggggtg ttcacagtac cactgttagcg tttccaagag caaatgttt gtcattcaca 746	
cttggttgtc ttgcaagcct atatgaaaca ctgggagcag agtaataaac atgactttat 806	
caacactgga aaaaaaaaaaaa aaaaaaaaaaaa aaaaaaaaa 843	
<210> 25 <211> 125 <212> PRT <213> Mus musculus	
<400> 25 Met Pro Arg Tyr Glu Leu Ala Leu Ile Leu Lys Ala Met Arg Arg Pro 1 5 10 15	

Glu Thr Ala Ala Ala Leu Lys Arg Thr Ile Glu Ser Leu Met Asp Arg
 20 25 30

Gly Ala Ile Val Arg Asn Leu Glu Ser Leu Gly Glu Arg Ala Leu Pro
 35 40 45

Tyr Arg Ile Ser Ser His Ser Gln Gln His Ser Arg Gly Gly Tyr Phe
 50 55 60

Leu Val Asp Phe Tyr Ala Pro Thr Ser Ala Val Glu Asn Ile Leu Glu
 65 70 75 80

His Leu Ala Arg Asp Ile Asp Val Val Arg Pro Asn Ile Val Lys His
 85 90 95

Pro Leu Thr Gln Glu Val Lys Glu Cys Asp Gly Ile Val Pro Val Pro
 100 105 110

Leu Glu Glu Lys Leu Tyr Ser Thr Lys Arg Arg Lys Lys
 115 120 125

<210> 26
<211> 2490
<212> DNA
<213> Mus musculus

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(2487)

<400> 26
atg aag ccg ccc ggc agc atc tcc cg^g ccg acc ctg acg ggt tgc 48
Met Lys Pro Pro Gly Ser Ile Ser Arg Arg Pro Thr Leu Thr Gly Cys
1 5 10 15

agc ctt ccc ggc gcc tcc tgc ggc ccc ggc cgc tgc ccc gcc ggc ccg 96
Ser Leu Pro Gly Ala Ser Cys Gly Pro Gly Arg Cys Pro Ala Gly Pro
20 25 30

gtg ccg gcc cgc gcg ccc tgc cgc ctg ctc ctc gtc ctt ctc ctg Val Pro Ala Arg Ala Pro Pro Cys Arg Leu Leu Leu Val Leu Leu Leu 35 40 45	144
cta cct gcg ctc gcc acc tca tcc cgg ccc cgt gcc cgg ggg gcc gct Leu Pro Ala Leu Ala Thr Ser Ser Arg Pro Arg Ala Arg Gly Ala Ala 50 55 60	192
gcg ccc agc gct ccg cac tgg aat gaa act gca gaa aaa acc ctg gga Ala Pro Ser Ala Pro His Trp Asn Glu Thr Ala Glu Lys Thr Leu Gly 65 70 75 80	240
gtc ctg gca gat gaa gac aac aca ttg caa caa aat agc agc agc aga Val Leu Ala Asp Glu Asp Asn Thr Leu Gln Gln Asn Ser Ser Ser Arg 85 90 95	288
aat acc agc tac agc agt gca gtg caa aaa gaa atc aca ctg cct tca Asn Thr Ser Tyr Ser Ser Ala Val Gln Lys Glu Ile Thr Leu Pro Ser 100 105 110	336
aga ctg gtg tat tac atc aac cag gac tca gaa agc ccc tat cat gtt Arg Leu Val Tyr Tyr Ile Asn Gln Asp Ser Glu Ser Pro Tyr His Val 115 120 125	384
ctt gac aca aag gcc aga cac caa cag aaa cac aat aag gct gtg cat Leu Asp Thr Lys Ala Arg His Gln Gln Lys His Asn Lys Ala Val His 130 135 140	432
ctg gcc cag gca agc ttc cag atc gaa gct ttc ggc tcc aag ttc att Leu Ala Gln Ala Ser Phe Gln Ile Glu Ala Phe Gly Ser Lys Phe Ile 145 150 155 160	480
ctt gac ctc aca ctg aac aat ggt ttg cta tct tct gac tac gtg gag Leu Asp Leu Thr Leu Asn Asn Gly Leu Leu Ser Ser Asp Tyr Val Glu 165 170 175	528
atc cac tat gaa gac ggg aag cag atg tac tct aag ggt gga gag cac Ile His Tyr Glu Asp Gly Lys Gln Met Tyr Ser Lys Gly Gly Glu His 180 185 190	576
tgt tac tac cac gga agc atc aga ggc gtc aag gat tcc agg gtg gct Cys Tyr Tyr His Gly Ser Ile Arg Gly Val Lys Asp Ser Arg Val Ala 195 200 205	624
cta tcg acc tgc aat gga ctc cat ggc atg ttt gag gat gac acc tti	672

10

20

30

Leu Ser Thr Cys Asn Gly Leu His Gly Met Phe Glu Asp Asp Thr Phe			
210	215	220	
gtg tat atg ata gag cct ctg gaa ctg act gat gat gag aaa agc aca			720
Val Tyr Met Ile Glu Pro Leu Glu Leu Thr Asp Asp Glu Lys Ser Thr			
225	230	235	240
ggc cga ccg cac ata atc cag aaa acc ttg gca gga cag tat tct aag			768
Gly Arg Pro His Ile Ile Gln Lys Thr Leu Ala Gly Gln Tyr Ser Lys			
245	250	255	
cag atg aag aat ctc agc aca gat ggc agt gac cag tgg cct ttg cta			816
Gln Met Lys Asn Leu Ser Thr Asp Gly Ser Asp Gln Trp Pro Leu Leu			
260	265	270	
cct gaa tta caa tgg ctg aga aga agg aaa aga gcg gtc aat cca tct			864
Pro Glu Leu Gln Trp Leu Arg Arg Arg Lys Arg Ala Val Asn Pro Ser			
275	280	285	
cgt ggt gtg ttt gaa gaa atg aag tat ttg gag ctt atg att gtt aat			912
Arg Gly Val Phe Glu Glu Met Lys Tyr Leu Glu Leu Met Ile Val Asn			
290	295	300	
gat cac aag acg tat aag aag cac cgc tct tct cac gcg cat acc aac			960
Asp His Lys Thr Tyr Lys His Arg Ser Ser His Ala His Thr Asn			
305	310	315	320
aac ttc gca aag tct gtg gtc aac ctt gta gat tct att tac aag gaa			1008
Asn Phe Ala Lys Ser Val Val Asn Leu Val Asp Ser Ile Tyr Lys Glu			
325	330	335	
cag ctc aac acc agg gtt gtc ctg gtg gct gtc gag acc tgg acc gag			1056
Gln Leu Asn Thr Arg Val Val Leu Val Ala Val Glu Thr Trp Thr Glu			
340	345	350	
aag gat cac att gac atc acc atc aac ccc gtg cag atg cta cat gac			1104
Lys Asp His Ile Asp Ile Thr Ile Asn Pro Val Gln Met Leu His Asp			
355	360	365	
ttc tcc aag tac cgg cag cga atc aaa cag cac gct gac gcg gtc cac			1152
Phe Ser Lys Tyr Arg Gln Arg Ile Lys Gln His Ala Asp Ala Val His			
370	375	380	
ctc atc tcg cgc gtg aca ttc cat tat aag aga agc agt ctg agt tac			1200
Leu Ile Ser Arg Val Thr Phe His Tyr Lys Arg Ser Ser Leu Ser Tyr			
385	390	395	400

ttt gga ggc gtg tgt tct cga ata aga ggg gtt ggt gtg aat gag tat Phe Gly Gly Val Cys Ser Arg Ile Arg Gly Val Gly Val Asn Glu Tyr 405 410 415	1248	
ggt ctt cca atg gcg gtg gca caa gta tta tca cag agc ctg gct caa Gly Leu Pro Met Ala Val Ala Gln Val Leu Ser Gln Ser Leu Ala Gln 420 425 430	1296	
aac ctt gga atc cag tgg gaa cct tcg agc agg aag cca aaa tgt gaa Asn Leu Gly Ile Gln Trp Glu Pro Ser Ser Arg Lys Pro Lys Cys Glu 435 440 445	1344	
tgc ata gag tcc tgg ggc tgc atc atg gaa gaa aca ggg gtg tcc Cys Ile Glu Ser Trp Gly Gly Cys Ile Met Glu Glu Thr Gly Val Ser 450 455 460	1392	10
cac tct cga aag ttc tca aag tgc agc att ttg gag tac aga gac ttt His Ser Arg Lys Phe Ser Lys Cys Ser Ile Leu Glu Tyr Arg Asp Phe 465 470 475 480	1440	
tta cag aga ggt ggc gga gca tgt ctt ttc aat agg cca act aag ctg Leu Gln Arg Gly Gly Ala Cys Leu Phe Asn Arg Pro Thr Lys Leu 485 490 495	1488	
ttt gag ccc acg gaa tgt gga aat gga tat gtg gag gcc ggg gag gaa Phe Glu Pro Thr Glu Cys Gly Asn Gly Tyr Val Glu Ala Gly Glu Glu 500 505 510	1536	20
tgc gac tgt ggt ttc cat gtg gaa tgc tat gga gtt tgc tgt aag aag Cys Asp Cys Gly Phe His Val Glu Cys Tyr Gly Val Cys Cys Lys Lys 515 520 525	1584	
tgt tcg ctc tcc aat ggg gcc cac tgc agt gac ggc ccc tgc tgt aac Cys Ser Leu Ser Asn Gly Ala His Cys Ser Asp Gly Pro Cys Cys Asn 530 535 540	1632	
aac acc tca tgt ctt ttt cag tca cga ggg tat gaa tgt cgg gat gcc Asn Thr Ser Cys Leu Phe Gln Ser Arg Gly Tyr Glu Cys Arg Asp Ala 545 550 555 560	1680	30
gta aac agc tgt gat atc acc gag tac tgc act gga gac tct ggc cag Val Asn Ser Cys Asp Ile Thr Glu Tyr Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gln 565 570 575	1728	
tgc cca ccg aac ctc cat aaa caa gat ggc tat agc aat caa aat	1776	

Cys Pro Pro Asn Leu His Lys Gln Asp Gly Tyr Ser Cys Asn Gln Asn		
580	585	590
cag ggt cgc tgc tac aat ggc gag tgc aag aca agg gac aat caa tgc		1824
Gln Gly Arg Cys Tyr Asn Gly Glu Cys Lys Thr Arg Asp Asn Gln Cys		
595	600	605
cag tac atc tgg ggg aca aag gct gcg ggg tca gac aag ttc tgc tat		1872
Gln Tyr Ile Trp Gly Thr Lys Ala Ala Gly Ser Asp Lys Phe Cys Tyr		
610	615	620
gaa aag ctg aac acg gaa ggc acc gag aag ggc aat tgt gga aag gat		1920
Glu Lys Leu Asn Thr Glu Gly Thr Glu Lys Gly Asn Cys Gly Lys Asp		
625	630	635
640		
gga gac cgg tgg atc ccg tgc agc aag cat gat gtg ttc tgt gga ttt		1968
Gly Asp Arg Trp Ile Pro Cys Ser Lys His Asp Val Phe Cys Gly Phe		
645	650	655
ctg ctt tgc acc aat ctt acc cga gct cca cgt atc ggt caa ctt caa		2016
Leu Leu Cys Thr Asn Leu Thr Arg Ala Pro Arg Ile Gly Gln Leu Gln		
660	665	670
gga gag atc atc ccg act tcc ttc tat cat caa ggc cga gtg att gac		2064
Gly Glu Ile Ile Pro Thr Ser Phe Tyr His Gln Gly Arg Val Ile Asp		
675	680	685
tgc agt ggt gct cat gta gtt tta gac gat gat aca gac gtg ggt tac		2112
Cys Ser Gly Ala His Val Val Leu Asp Asp Asp Thr Asp Val Gly Tyr		
690	695	700
gtt gaa gat ggg act ccg tgt ggc ccc tcc atg atg tgc tta gat cgg		2160
Val Glu Asp Gly Thr Pro Cys Gly Pro Ser Met Met Cys Leu Asp Arg		
705	710	715
720		
aag tgc cta cag att caa gcc ctg aat atg agc agc tgc cca ctt gac		2208
Lys Cys Leu Gln Ile Gln Ala Leu Asn Met Ser Ser Cys Pro Leu Asp		
725	730	735
tca agg ggt aaa gtc tgc tcc ggc cac ggg gtg tgt agc aac gaa gcc		2256
Ser Arg Gly Lys Val Cys Ser Gly His Gly Val Cys Ser Asn Glu Ala		
740	745	750
acc tgc atc tgt gat ttc act tgg gca ggc aca gac tgc agc atc cgg		2304
Thr Cys Ile Cys Asp Phe Thr Trp Ala Gly Thr Asp Cys Ser Ile Arg		
755	760	765

gat cca gtt cg^g aac ccc aac ccc cct aag gat gaa ggc cct aag ggt 2352
 Asp Pro Val Arg Asn Pro Asn Pro Pro Lys Asp Glu Gly Pro Lys Gly
 770 775 780

cct agc gcc acc aat ctc ata ata ggc tcc atc gct ggt gcc atc ctg 2400
 Pro Ser Ala Thr Asn Leu Ile Ile Gly Ser Ile Ala Gly Ala Ile Leu
 785 790 795 800

gta gca gct att gtc ctt ggg ggc aca ggc tgg gga ttt aaa aac gtc 2448
 Val Ala Ala Ile Val Leu Gly Gly Thr Gly Trp Gly Phe Lys Asn Val
 805 810 815

aag aag agg aga ttc gat ccc act cag caa ggc ccc atc tga 2490
 Lys Lys Arg Arg Phe Asp Pro Thr Gln Gln Gly Pro Ile
 820 825

<210> 27
<211> 829
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 27
Met Lys Pro Pro Gly Ser Ile Ser Arg Arg Pro Thr Leu Thr Gly Cys 20
1 5 10 15

Ser Leu Pro Gly Ala Ser Cys Gly Pro Gly Arg Cys Pro Ala Gly Pro
20 25 30

Val Pro Ala Arg Ala Pro Pro Cys Arg Leu Leu Leu Val Leu Leu Leu
35 40 45

Leu Pro Ala Leu Ala Thr Ser Ser Arg Pro Arg Ala Arg Gly Ala Ala
50 55 60

Ala Pro Ser Ala Pro His Trp Asn Glu Thr Ala Glu Lys Thr Leu Gly
65 70 75 80

Val Leu Ala Asp Glu Asp Asn Thr Leu Gln Gln Asn Ser Ser Ser Arg
85 90 95

10

20

30

Asn Thr Ser Tyr Ser Ser Ala Val Gln Lys Glu Ile Thr Leu Pro Ser
100 105 110

Arg Leu Val Tyr Tyr Ile Asn Gln Asp Ser Glu Ser Pro Tyr His Val
115 120 125

Leu Asp Thr Lys Ala Arg His Gln Gln Lys His Asn Lys Ala Val His
130 135 140

10
Leu Ala Gln Ala Ser Phe Gln Ile Glu Ala Phe Gly Ser Lys Phe Ile
145 150 155 160

Leu Asp Leu Thr Leu Asn Asn Gly Leu Leu Ser Ser Asp Tyr Val Glu
165 170 175

Ile His Tyr Glu Asp Gly Lys Gln Met Tyr Ser Lys Gly Gly Glu His
180 185 190

20
Cys Tyr Tyr His Gly Ser Ile Arg Gly Val Lys Asp Ser Arg Val Ala
195 200 205

Leu Ser Thr Cys Asn Gly Leu His Gly Met Phe Glu Asp Asp Thr Phe
210 215 220

Val Tyr Met Ile Glu Pro Leu Glu Leu Thr Asp Asp Glu Lys Ser Thr
225 230 235 240

30
Gly Arg Pro His Ile Ile Gln Lys Thr Leu Ala Gly Gln Tyr Ser Lys
245 250 255

Gln Met Lys Asn Leu Ser Thr Asp Gly Ser Asp Gln Trp Pro Leu Leu
260 265 270

Pro Glu Leu Gln Trp Leu Arg Arg Arg Lys Arg Ala Val Asn Pro Ser
275 280 285

Arg Gly Val Phe Glu Glu Met Lys Tyr Leu Glu Leu Met Ile Val Asn
290 295 300

Asp His Lys Thr Tyr Lys Lys His Arg Ser Ser His Ala His Thr Asn
305 310 315 320

10

Asn Phe Ala Lys Ser Val Val Asn Leu Val Asp Ser Ile Tyr Lys Glu
325 330 335

Gln Leu Asn Thr Arg Val Val Leu Val Ala Val Glu Thr Trp Thr Glu
340 345 350

Lys Asp His Ile Asp Ile Thr Ile Asn Pro Val Gln Met Leu His Asp
355 360 365

20

Phe Ser Lys Tyr Arg Gln Arg Ile Lys Gln His Ala Asp Ala Val His
370 375 380

Leu Ile Ser Arg Val Thr Phe His Tyr Lys Arg Ser Ser Leu Ser Tyr
385 390 395 400

Phe Gly Gly Val Cys Ser Arg Ile Arg Gly Val Gly Val Asn Glu Tyr
405 410 415

30

Gly Leu Pro Met Ala Val Ala Gln Val Leu Ser Gln Ser Leu Ala Gln
420 425 430

Asn Leu Gly Ile Gln Trp Glu Pro Ser Ser Arg Lys Pro Lys Cys Glu
435 440 445

Cys Ile Glu Ser Trp Gly Gly Cys Ile Met Glu Glu Thr Gly Val Ser
450 455 460

His Ser Arg Lys Phe Ser Lys Cys Ser Ile Leu Glu Tyr Arg Asp Phe
465 470 475 480

Leu Gln Arg Gly Gly Ala Cys Leu Phe Asn Arg Pro Thr Lys Leu
485 490 495

Phe Glu Pro Thr Glu Cys Gly Asn Gly Tyr Val Glu Ala Gly Glu Glu
500 505 510

Cys Asp Cys Gly Phe His Val Glu Cys Tyr Gly Val Cys Cys Lys Lys
515 520 525

Cys Ser Leu Ser Asn Gly Ala His Cys Ser Asp Gly Pro Cys Cys Asn
530 535 540

Asn Thr Ser Cys Leu Phe Gln Ser Arg Gly Tyr Glu Cys Arg Asp Ala
545 550 555 560

Val Asn Ser Cys Asp Ile Thr Glu Tyr Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gln
565 570 575

Cys Pro Pro Asn Leu His Lys Gln Asp Gly Tyr Ser Cys Asn Gln Asn
580 585 590

Gln Gly Arg Cys Tyr Asn Gly Glu Cys Lys Thr Arg Asp Asn Gln Cys
595 600 605

Gln Tyr Ile Trp Gly Thr Lys Ala Ala Gly Ser Asp Lys Phe Cys Tyr
610 615 620

Glu Lys Leu Asn Thr Glu Gly Thr Glu Lys Gly Asn Cys Gly Lys Asp
625 630 635 640

10

20

30

Gly Asp Arg Trp Ile Pro Cys Ser Lys His Asp Val Phe Cys Gly Phe
645 650 655

Leu Leu Cys Thr Asn Leu Thr Arg Ala Pro Arg Ile Gly Gln Leu Gln
660 665 670

Gly Glu Ile Ile Pro Thr Ser Phe Tyr His Gln Gly Arg Val Ile Asp
675 680 685

10
Cys Ser Gly Ala His Val Val Leu Asp Asp Asp Thr Asp Val Gly Tyr
690 695 700

Val Glu Asp Gly Thr Pro Cys Gly Pro Ser Met Met Cys Leu Asp Arg
705 710 715 720

Lys Cys Leu Gln Ile Gln Ala Leu Asn Met Ser Ser Cys Pro Leu Asp
725 730 735

20
Ser Arg Gly Lys Val Cys Ser Gly His Gly Val Cys Ser Asn Glu Ala
740 745 750

Thr Cys Ile Cys Asp Phe Thr Trp Ala Gly Thr Asp Cys Ser Ile Arg
755 760 765

Asp Pro Val Arg Asn Pro Asn Pro Lys Asp Glu Gly Pro Lys Gly
770 775 780

30
Pro Ser Ala Thr Asn Leu Ile Ile Gly Ser Ile Ala Gly Ala Ile Leu
785 790 795 800

Val Ala Ala Ile Val Leu Gly Gly Thr Gly Trp Gly Phe Lys Asn Val
805 810 815

Lys Lys Arg Arg Phe Asp Pro Thr Gln Gln Gly Pro Ile
820 825

<210> 28
 <211> 2499
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(2496)

 <400> 28
 atg aag ccg ccc ggc agc agc tcg cg¹ cag ccc ctg g² g³ g⁴ g⁵ g⁶ tgc
 Met Lys Pro Pro Gly Ser Ser Ser Arg Gln Pro Pro Leu Ala Gly Cys
 1 5 10 15 48

 agc ctt gcc ggc gct tcc tgc g⁷ g⁸ ccc caa cgc g⁹ g¹⁰ ccc g¹¹ g¹² g¹³ tgc
 Ser Leu Ala Gly Ala Ser Cys Gly Pro Gln Arg Gly Pro Ala Gly Ser
 20 25 30 96

 gtg cct gcc agc g¹⁴ ccc g¹⁵ ccc acg c¹⁶ ccc tgc cgc ctg ctt ctc
 Val Pro Ala Ser Ala Pro Ala Arg Thr Pro Pro Cys Arg Leu Leu Leu
 35 40 45 144

 gtc ctt ctc ctg cct ccg ctc gcc g¹⁷ tgc cgg ccc cgc g¹⁸
 Val Leu Leu Leu Leu Pro Pro Leu Ala Ala Ser Ser Arg Pro Arg Ala
 50 55 60 192

 tgg ggg gct gct g¹⁹ ccc agc gct ccg cat tgg aat gaa act gca gaa
 Trp Gly Ala Ala Ala Pro Ser Ala Pro His Trp Asn Glu Thr Ala Glu
 65 70 75 80 240

 aaa aat ttg gga gtc ctg gca gat gaa gac aat aca ttg caa cag aat
 Lys Asn Leu Gly Val Leu Ala Asp Glu Asp Asn Thr Leu Gln Gln Asn
 85 90 95 288

 agc agc agt aat atc agt tac agc aat gca atg cag aaa gaa atc aca
 Ser Ser Ser Asn Ile Ser Tyr Ser Asn Ala Met Gln Lys Glu Ile Thr
 100 105 110 336

 ctg cct tca aga ctc ata tat tac atc aac caa gac tcg gaa agc cct
 Leu Pro Ser Arg Leu Ile Tyr Tyr Ile Asn Gln Asp Ser Glu Ser Pro
 115 120 125 384

 tat cac gtt ctt gac aca aag gca aga cac cag caa aaa cat aat aag
 Tyr His Val Leu Asp Thr Lys Ala Arg His Gln Gln Lys His Asn Lys
 432

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

10

20

30

cat acc aac aac ttt gca aag tcc gtg gtc aac ctt gtg gat tct att		1008
His Thr Asn Asn Phe Ala Lys Ser Val Val Asn Leu Val Asp Ser Ile		
325	330	335
tac aag gag cag ctc aac acc agg gtt gtc ctg gtg gct gta gag acc		1056
Tyr Lys Glu Gln Leu Asn Thr Arg Val Val Leu Val Ala Val Glu Thr		
340	345	350
tgg act gag aag gat cag att gac atc acc aac cct gtg cag atg		1104
Trp Thr Glu Lys Asp Gln Ile Asp Ile Thr Thr Asn Pro Val Gln Met		
355	360	365
10		
ctc cat gag ttc tca aaa tac cgg cag cgc att aag cag cat gct gat		1152
Leu His Glu Phe Ser Lys Tyr Arg Gln Arg Ile Lys Gln His Ala Asp		
370	375	380
gct gtg cac ctc atc tcg cgg gtg aca ttt cac tat aag aga agc agt		1200
Ala Val His Leu Ile Ser Arg Val Thr Phe His Tyr Lys Arg Ser Ser		
385	390	395
400		
ctg agt tac ttt gga ggt gtc tgt tct cgc aca aga gga gtt ggt gtg		1248
Leu Ser Tyr Phe Gly Gly Val Cys Ser Arg Thr Arg Gly Val Gly Val		
405	410	415
20		
aat gag tat ggt ctt cca atg gca gtg gca caa gta tta tcg cag agc		1296
Asn Glu Tyr Gly Leu Pro Met Ala Val Ala Gln Val Leu Ser Gln Ser		
420	425	430
ctg gct caa aac ctt gga atc caa tgg gaa cct tct agc aga aag cca		1344
Leu Ala Gln Asn Leu Gly Ile Gln Trp Glu Pro Ser Ser Arg Lys Pro		
435	440	445
aaa tgt gac tgc aca gaa tcc tgg ggt ggc tgc atc atg gag gaa aca		1392
Lys Cys Asp Cys Thr Glu Ser Trp Gly Gly Cys Ile Met Glu Glu Thr		
450	455	460
30		
ggg gtg tcc cat tct cga aaa ttt tca aag tgc agc att ttg gag tat		1440
Gly Val Ser His Ser Arg Lys Phe Ser Lys Cys Ser Ile Leu Glu Tyr		
465	470	475
480		
aga gac ttt tta cag aga gga ggt gga gcc tgc ctt ttc aac agg cca		1488
Arg Asp Phe Leu Gln Arg Gly Gly Ala Cys Leu Phe Asn Arg Pro		
485	490	495
aca aag cta ttt gag ccc acg gaa tgt gga aat gga tac gtg gaa gct		1536
Thr Lys Leu Phe Glu Pro Thr Glu Cys Gly Asn Gly Tyr Val Glu Ala		

500	505	510	
ggg gag gag tgt gat tgt ggt ttt cat gtg gaa tgc tat gga tta tgc Gly Glu Glu Cys Asp Cys Gly Phe His Val Glu Cys Tyr Gly Leu Cys 515	520	525	1584
tgt aag aaa tgt tcc ctc tcc aac ggg gct cac tgc agc gac ggg ccc Cys Lys Lys Cys Ser Leu Ser Asn Gly Ala His Cys Ser Asp Gly Pro 530	535	540	1632
tgc tgt aac aat acc tca tgt ctt ttt cag cca cga ggg tat gaa tgc Cys Cys Asn Asn Thr Ser Cys Leu Phe Gln Pro Arg Gly Tyr Glu Cys 545	550	555	1680
cg ^g gat gct gtg aac gag tgt gat att act gaa tat tgt act gga gac Arg Asp Ala Val Asn Glu Cys Asp Ile Thr Glu Tyr Cys Thr Gly Asp 565	570	575	1728
tct ggt cag tgc cca cca aat ctt cat aag caa gac gga tat gca tgc Ser Gly Gln Cys Pro Pro Asn Leu His Lys Gln Asp Gly Tyr Ala Cys 580	585	590	1776
aat caa aat cag ggc cgc tgc tac aat ggc gag tgc aag acc aga gac Asn Gln Asn Gln Gly Arg Cys Tyr Asn Gly Glu Cys Lys Thr Arg Asp 595	600	605	1824
aac cag tgt cag tac atc tgg gga aca aag gct gca ggg tct gac aag Asn Gln Cys Gln Tyr Ile Trp Gly Thr Lys Ala Ala Gly Ser Asp Lys 610	615	620	1872
ttc tgc tat gaa aag ctg aat aca gaa ggc act gag aag gga aac tgc Phe Cys Tyr Glu Lys Leu Asn Thr Glu Gly Thr Glu Lys Gly Asn Cys 625	630	635	1920
ggg aag gat gga gac cgg tgg att cag tgc agc aaa cat gat gtg ttc Gly Lys Asp Gly Asp Arg Trp Ile Gln Cys Ser Lys His Asp Val Phe 645	650	655	1968
tgt gga ttc tta ctc tgt acc aat ctt act cga gct cca cgt att ggt Cys Gly Phe Leu Leu Cys Thr Asn Leu Thr Arg Ala Pro Arg Ile Gly 660	665	670	2016
caa ctt cag ggt gag atc att cca act tcc ttc tac cat caa ggc cgg Gln Leu Gln Gly Glu Ile Ile Pro Thr Ser Phe Tyr His Gln Gly Arg 675	680	685	2064

gtg att gac tgc agt ggt gcc cat gta gtt tta gat gat gat acg gat Val Ile Asp Cys Ser Gly Ala His Val Val Leu Asp Asp Asp Thr Asp 690 695 700	2112
gtg ggc tat gta gaa gat gga acg cca tgt ggc ccg tct atg atg tgt Val Gly Tyr Val Glu Asp Gly Thr Pro Cys Gly Pro Ser Met Met Cys 705 710 715 720	2160
tta gat cgg aag tgc cta caa att caa gcc cta aat atg agc agc tgt Leu Asp Arg Lys Cys Leu Gln Ile Gln Ala Leu Asn Met Ser Ser Cys 725 730 735	2208
cca ctc gat tcc aag ggt aaa gtc tgt tcg ggc cat ggg gtg tgt agt Pro Leu Asp Ser Lys Gly Lys Val Cys Ser Gly His Gly Val Cys Ser 740 745 750	2256
aat gaa gcc acc tgc att tgt gat ttc acc tgg gca ggg aca gat tgc Asn Glu Ala Thr Cys Ile Cys Asp Phe Thr Trp Ala Gly Thr Asp Cys 755 760 765	2304
agt atc cgg gat cca gtt agg aac ctt cac ccc ccc aag gat gaa gga Ser Ile Arg Asp Pro Val Arg Asn Leu His Pro Pro Lys Asp Glu Gly 770 775 780	2352
ccc aag ggt cct agt gcc acc aat ctc ata ata ggc tcc atc gct ggt Pro Lys Gly Pro Ser Ala Thr Asn Leu Ile Ile Gly Ser Ile Ala Gly 785 790 795 800	2400
gcc atc ctg gta gca gct att gtc ctt ggg ggc aca ggc tgg gga ttt Ala Ile Leu Val Ala Ala Ile Val Leu Gly Gly Thr Gly Trp Gly Phe 805 810 815	2448
aaa aat gtc aag aag aga agg ttc gat cct act cag caa ggc ccc atc Lys Asn Val Lys Lys Arg Arg Phe Asp Pro Thr Gln Gln Gly Pro Ile 820 825 830	2496
tga	2499

<210> 29
<211> 832
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 29
Met Lys Pro Pro Gly Ser Ser Ser Arg Gln Pro Pro Leu Ala Gly Cys

1

5

10

15

Ser Leu Ala Gly Ala Ser Cys Gly Pro Gln Arg Gly Pro Ala Gly Ser
20 25 30

Val Pro Ala Ser Ala Pro Ala Arg Thr Pro Pro Cys Arg Leu Leu Leu
35 40 45

Val Leu Leu Leu Pro Pro Leu Ala Ala Ser Ser Arg Pro Arg Ala 10
50 55 60

Trp Gly Ala Ala Ala Pro Ser Ala Pro His Trp Asn Glu Thr Ala Glu
65 70 75 80

Lys Asn Leu Gly Val Leu Ala Asp Glu Asp Asn Thr Leu Gln Gln Asn
85 90 95

Ser Ser Ser Asn Ile Ser Tyr Ser Asn Ala Met Gln Lys Glu Ile Thr 20
100 105 110

Leu Pro Ser Arg Leu Ile Tyr Tyr Ile Asn Gln Asp Ser Glu Ser Pro
115 120 125

Tyr His Val Leu Asp Thr Lys Ala Arg His Gln Gln Lys His Asn Lys
130 135 140

Ala Val His Leu Ala Gln Ala Ser Phe Gln Ile Glu Ala Phe Gly Ser 30
145 150 155 160

Lys Phe Ile Leu Asp Leu Ile Leu Asn Asn Gly Leu Leu Ser Ser Asp
165 170 175

Tyr Val Glu Ile His Tyr Glu Asn Gly Lys Pro Gln Tyr Ser Lys Gly
180 185 190

Gly Glu His Cys Tyr Tyr His Gly Ser Ile Arg Gly Val Lys Asp Ser
195 200 205

Lys Val Ala Leu Ser Thr Cys Asn Gly Leu His Gly Met Phe Glu Asp
210 215 220

Asp Thr Phe Val Tyr Met Ile Glu Pro Leu Glu Leu Val His Asp Glu
225 230 235 240

10
Lys Ser Thr Gly Arg Pro His Ile Ile Gln Lys Thr Leu Ala Gly Gln
245 250 255

Tyr Ser Lys Gln Met Lys Asn Leu Thr Met Glu Arg Gly Asp Gln Trp
260 265 270

Pro Phe Leu Ser Glu Leu Gln Trp Leu Lys Arg Arg Lys Arg Ala Val
275 280 285

20
Asn Pro Ser Arg Gly Ile Phe Glu Glu Met Lys Tyr Leu Glu Leu Met
290 295 300

Ile Val Asn Asp His Lys Thr Tyr Lys Lys His Arg Ser Ser His Ala
305 310 315 320

His Thr Asn Asn Phe Ala Lys Ser Val Val Asn Leu Val Asp Ser Ile
325 330 335

30
Tyr Lys Glu Gln Leu Asn Thr Arg Val Val Leu Val Ala Val Glu Thr
340 345 350

Trp Thr Glu Lys Asp Gln Ile Asp Ile Thr Thr Asn Pro Val Gln Met
355 360 365

Leu His Glu Phe Ser Lys Tyr Arg Gln Arg Ile Lys Gln His Ala Asp

370 375 380

Ala Val His Leu Ile Ser Arg Val Thr Phe His Tyr Lys Arg Ser Ser
385 390 395 400Leu Ser Tyr Phe Gly Gly Val Cys Ser Arg Thr Arg Gly Val Gly Val
405 410 415Asn Glu Tyr Gly Leu Pro Met Ala Val Ala Gln Val Leu Ser Gln Ser
420 425 430

10

Leu Ala Gln Asn Leu Gly Ile Gln Trp Glu Pro Ser Ser Arg Lys Pro
435 440 445Lys Cys Asp Cys Thr Glu Ser Trp Gly Gly Cys Ile Met Glu Glu Thr
450 455 460Gly Val Ser His Ser Arg Lys Phe Ser Lys Cys Ser Ile Leu Glu Tyr
465 470 475 480

20

Arg Asp Phe Leu Gln Arg Gly Gly Ala Cys Leu Phe Asn Arg Pro
485 490 495Thr Lys Leu Phe Glu Pro Thr Glu Cys Gly Asn Gly Tyr Val Glu Ala
500 505 510Gly Glu Glu Cys Asp Cys Gly Phe His Val Glu Cys Tyr Gly Leu Cys
515 520 525

30

Cys Lys Lys Cys Ser Leu Ser Asn Gly Ala His Cys Ser Asp Gly Pro
530 535 540Cys Cys Asn Asn Thr Ser Cys Leu Phe Gln Pro Arg Gly Tyr Glu Cys
545 550 555 560

Arg Asp Ala Val Asn Glu Cys Asp Ile Thr Glu Tyr Cys Thr Gly Asp
565 570 575

Ser Gly Gln Cys Pro Pro Asn Leu His Lys Gln Asp Gly Tyr Ala Cys
580 585 590

Asn Gln Asn Gln Gly Arg Cys Tyr Asn Gly Glu Cys Lys Thr Arg Asp
595 600 605

10 Asn Gln Cys Gln Tyr Ile Trp Gly Thr Lys Ala Ala Gly Ser Asp Lys
610 615 620

Phe Cys Tyr Glu Lys Leu Asn Thr Glu Gly Thr Glu Lys Gly Asn Cys
625 630 635 640

Gly Lys Asp Gly Asp Arg Trp Ile Gln Cys Ser Lys His Asp Val Phe
645 650 655

20 Cys Gly Phe Leu Leu Cys Thr Asn Leu Thr Arg Ala Pro Arg Ile Gly
660 665 670

Gln Leu Gln Gly Glu Ile Ile Pro Thr Ser Phe Tyr His Gln Gly Arg
675 680 685

Val Ile Asp Cys Ser Gly Ala His Val Val Leu Asp Asp Asp Thr Asp
690 695 700

30 Val Gly Tyr Val Glu Asp Gly Thr Pro Cys Gly Pro Ser Met Met Cys
705 710 715 720

Leu Asp Arg Lys Cys Leu Gln Ile Gln Ala Leu Asn Met Ser Ser Cys
725 730 735

Pro Leu Asp Ser Lys Gly Lys Val Cys Ser Gly His Gly Val Cys Ser

740

745

750

Asn Glu Ala Thr Cys Ile Cys Asp Phe Thr Trp Ala Gly Thr Asp Cys
755 760 765

Ser Ile Arg Asp Pro Val Arg Asn Leu His Pro Pro Lys Asp Glu Gly
770 775 780

Pro Lys Gly Pro Ser Ala Thr Asn Leu Ile Ile Gly Ser Ile Ala Gly
785 790 795 800

Ala Ile Leu Val Ala Ala Ile Val Leu Gly Gly Thr Gly Trp Gly Phe
805 810 815

Lys Asn Val Lys Lys Arg Arg Phe Asp Pro Thr Gln Gln Gly Pro Ile
820 825 830

<210> 30

20

<211> 37

<212> DNA

<213> Artificial/Unknown

<220>

<223> primer

<400> 30

ccggtcgacc accatggaac tccggacccg aggctgg

37

<210> 31

30

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial/Unknown

<220>

<223> primer

<400> 31

ccgaattctt accgccacct gggcctggct gc

32

<210> 32
<211> 35
<212> DNA
<213> Artificial/Unknown

<220>
<223> primer

<400> 32
ccgctcgagc caccatgaag cctttcata ctgcc 35

10
<210> 33
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial/Unknown

<220>
<223> primer

<400> 33
tccgaattct tattgttgtt aggtccgtgg 30

20
<210> 34
<211> 36
<212> DNA
<213> Artificial/Unknown

<220>
<223> primer

<400> 34
ccgctcgagc caccatgttg gctgcaaggc tggtgt 36

30
<210> 35
<211> 31
<212> DNA
<213> Artificial/Unknown

<220>
<223> primer

<400> 35

ccggatatct catttctttc tggcgcc a	31
<210> 36	
<211> 34	
<212> DNA	
<213> Artificial/Unknown	
<220>	
<223> primer	
<400> 36	10
ccgctcgagc caccatgagc acctcgatcg cgcg	34
<210> 37	
<211> 29	
<212> DNA	
<213> Artificial/Unknown	
<220>	
<223> primer	
<400> 37	20
tccgttaact taatagtcat catagttca	29
<210> 38	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial/Unknown	
<220>	
<223> primer	
<400> 38	30
agtcattac tgtatattta	20
<210> 39	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial/Unknown	
<220>	
<223> primer	

<400> 39
gctatatttc ataagtcatc 20

<210> 40
<211> 26
<212> DNA
<213> Artificial/Unknown

<220>
<223> primer 10

<400> 40
ctcggaagc ggcattgt gtttgt 26

<210> 41
<211> 34
<212> DNA
<213> Artificial/Unknown

<220>
<223> primer 20

<400> 41
ccgctcgagc caccatgcgt ttttgcctct tctc 34

<210> 42
<211> 28
<212> DNA
<213> Artificial/Unknown

<220>
<223> primer 30

<400> 42
cgaaattctt attgggtcac tctgtctg 28

<210> 43
<211> 33
<212> DNA
<213> Artificial/Unknown

<220>
<223> primer

<400> 43
acgcgtcgac ccaccatgcc ccgctacgag ttg 33

<210> 44
<211> 29
<212> DNA
<213> Artificial/Unknown 10

<220>
<223> primer

<400> 44
attgaattct cacttcttcc tcctcttg 29

<210> 45
<211> 35
<212> DNA
<213> Artificial/Unknown 20

<220>
<223> primer

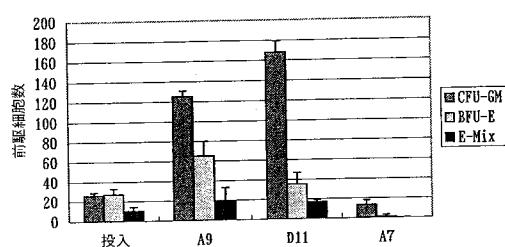
<400> 45
ccgctcgagc caccatgaag ccggccggca gcata 35

<210> 46
<211> 29
<212> DNA
<213> Artificial/Unknown 30

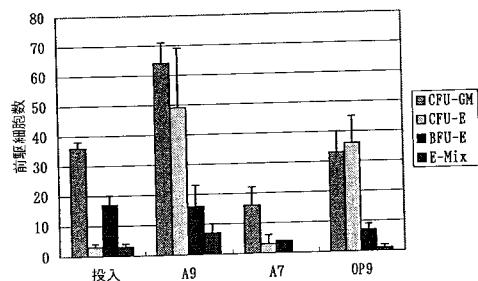
<220>
<223> primer

<400> 46
cggaattctc agatggggcc ttgctgagt 29

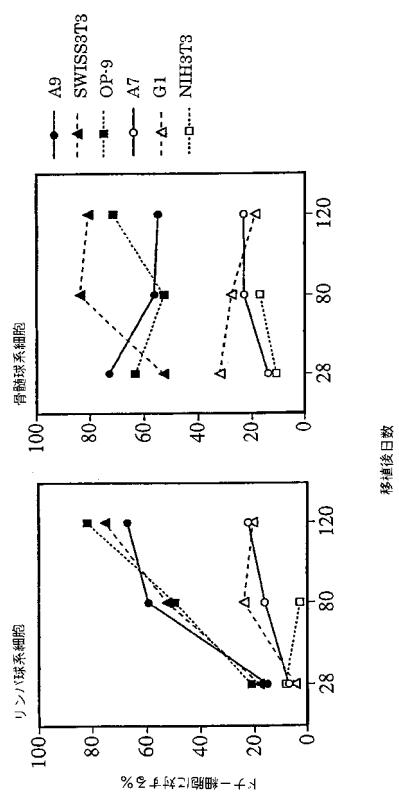
【図1】



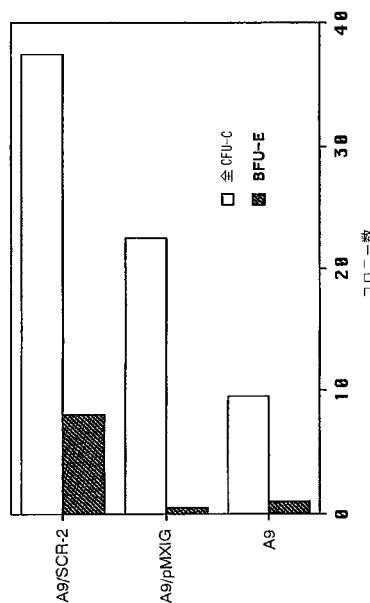
【図2】



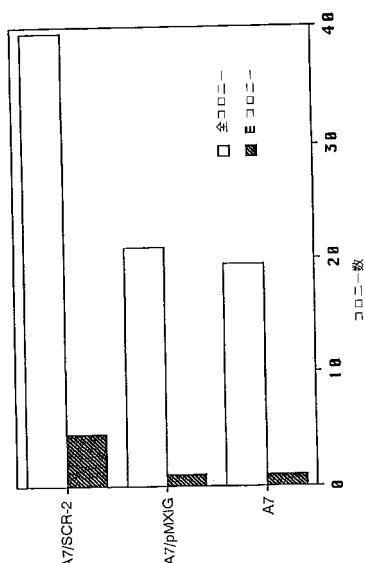
【図3】



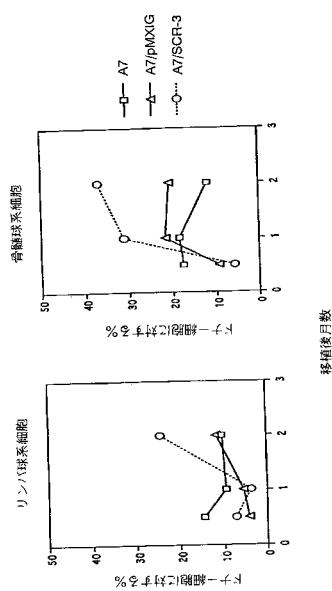
【図4】



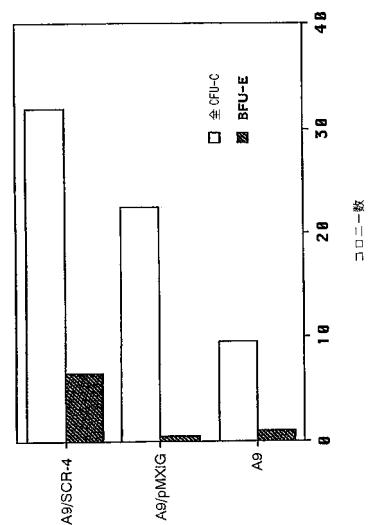
【図5】



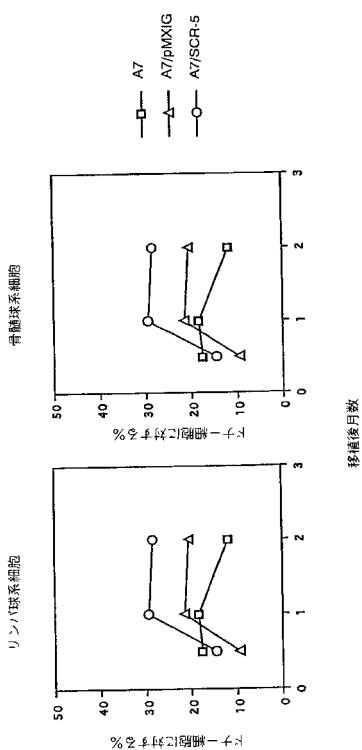
【図6】



【図7】



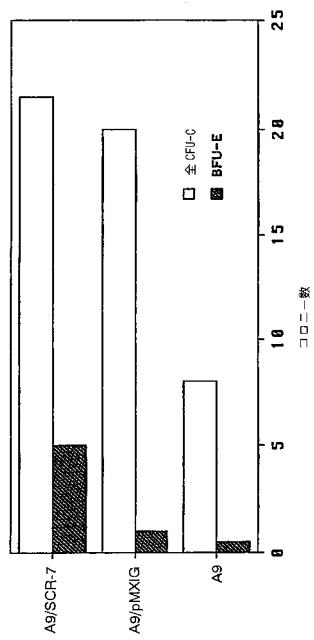
【図8】



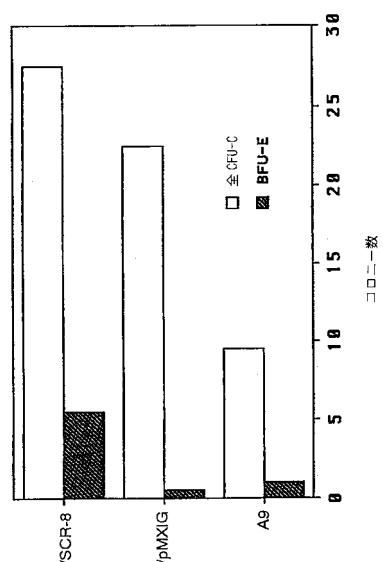
【図9】



【図10】



【図11】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I
C 0 7 K	16/18	(2006.01) C 0 7 K 16/18
C 1 2 N	1/15	(2006.01) C 1 2 N 1/15
C 1 2 N	1/19	(2006.01) C 1 2 N 1/19
C 1 2 N	1/21	(2006.01) C 1 2 N 1/21
A 6 1 K	38/22	(2006.01) C 1 2 N 5/00 B A 6 1 K 37/24

(72)発明者 ドルマナック , ラドジエ ティー .

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 3 0 3 パロ アルト イースト グリーンウィッチ ブ
レイス 8 5 0

(72)発明者 ラバット , アイヴァン

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 4 3 マウンテン ビュー アズベリー ウェイ 1 0
0 6

(72)発明者 リー , ジュイ

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 5 3 8 フレモント スプライ コモン 5 6 3 1

(72)発明者 タン , トム ワイ .

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 5 1 1 8 サン ノゼ ランウェイク コート 4 2 3 0

(72)発明者 スタシェ - クレイン , バージット

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 6 サニーヴェール サウス メリー アベニュー
3 4 5

審査官 横田 優子

(56)参考文献 特表2 0 0 5 - 5 0 3 1 0 8 (J P , A)

国際公開第9 8 / 0 0 8 8 6 9 (WO , A 1)

国際公開第9 9 / 0 0 3 9 8 0 (WO , A 1)

生化学辞典第3版 (1998) p.806-807

細胞, 36[2] (2004) p.20-21

Ann N Y Acad Sci., 938 (2001 June) p.109-116

BIO Clinica, 15[6] (2000) p.56-58

Blood, 89[12] (1997) p.4337-4347

Proc Atl Acad Aci., 94 (1997) p.4011-4016

Stem Cells, 15 (1997) p.334-339

Blood, 92[6] (1998) p.2032-2040

Blood, 90[10] (1997) p.483a

(58)調査した分野(Int.Cl. , DB名)

C12N 15/00-90

A61K 38/22

A61P 7/06

A61P 43/00

C07K 14/47

C07K 16/18

BIOSIS/WPI(DIALOG)

GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq

SwissProt/PIR/GeneSeq

PubMed

(96)

JP 4251983 B2 2009.4.8

JSTPlus(JDreamII)