

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2005-503123

(P2005-503123A)

(43) 公表日 平成17年2月3日(2005.2.3)

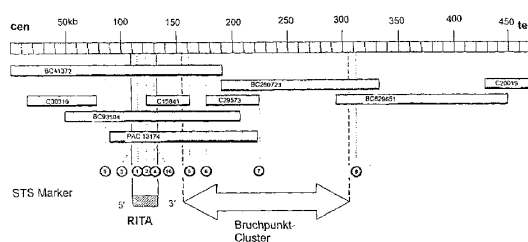
(51) Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/09	C 1 2 N 15/00	2 G 0 4 5
A 6 1 K 31/7088	A 6 1 K 31/7088	4 B 0 2 4
A 6 1 K 38/00	A 6 1 K 39/395	4 B 0 5 0
A 6 1 K 39/395	A 6 1 K 39/395	4 B 0 6 5
A 6 1 K 45/00	A 6 1 K 45/00	4 C 0 8 4
	審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 222 頁) 最終頁に続く	

(21) 出願番号	特願2002-581482 (P2002-581482)	(71) 出願人	502132265
(86) (22) 出願日	平成14年4月12日 (2002.4.12)		ユニバーシタット ブレーメン
(85) 翻訳文提出日	平成15年10月10日 (2003.10.10)		ドイツ連邦共和国 ブレーメン ビブリオ
(86) 国際出願番号	PCT/EP2002/004090		テクストラッセ 1
(87) 国際公開番号	W02002/083727	(74) 代理人	100103160
(87) 国際公開日	平成14年10月24日 (2002.10.24)		弁理士 志村 光春
(31) 優先権主張番号	101 18 452.2	(72) 発明者	ブレディーク, ジョーン
(32) 優先日	平成13年4月12日 (2001.4.12)		ドイツ国, ブレーメン, 28357, イン
(33) 優先権主張国	ドイツ (DE)		・デア・ポッゲンクーラ23
		Fターム(参考)	2G045 AA35 AA40 BA11 BB50 DA13
			DA36 FB02
			4B024 AA01 AA11 BA11 BA80 CA01
			CA11 FA02 FA06 FA07 GA11
			HA20
			4B050 CC03 DD11 EE10 LL01 LL03
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 甲状腺の過形成と腫瘍の核酸配列

(57) 【要約】

本発明は、過形成及び/又は腫瘍を原因とする発現変化を有する核酸に関するが、この核酸は、配列番号1～12及び配列番号16～19からなる群から選択される核酸配列を含むものである。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

過形成及び／又は腫瘍を原因とする発現変化を有する核酸であって、配列番号 1 ～ 12 及び配列番号 16 ～ 19 からなる群から選択される核酸配列を含むことを特徴とする核酸。

【請求項 2】

腫瘍が、染色体バンド 19 q 内に何らかの変化を有する各種上皮腫瘍及び染色体バンド 19 q 13 内に何らかの変化を有する各種腫瘍からなる群から選択されることを特徴とする、請求項 1 に記載の核酸。

【請求項 3】

過形成が甲状腺の各種過形成からなる群から選択されることを特徴とする、請求項 1 又は 2 に記載の核酸。 10

【請求項 4】

配列番号 1、2、7、10、11 及び／又は 12 が、CAT（特にヒト CAT）又はこれらの一部をコードすることを特徴とする、請求項 1 ～ 3 のいずれか一項に記載の核酸配列。

【請求項 5】

配列番号 3、4、8、16 及び／又は 17 が、DC2（特にヒト DC2）又はこれらの一部をコードすることを特徴とする、請求項 1 ～ 3 のいずれか一項に記載の核酸配列。

【請求項 6】

配列番号 5、6、9、18 及び／又は 19 が PKC（特にヒト PKC）又はこれらの一部をコードすることを特徴とする、請求項 1 ～ 3 のいずれか一項に記載の核酸配列。 20

【請求項 7】

遺伝子コードの縮重がなければ請求項 1 ～ 6 のいずれか一項に記載の核酸と同じアミノ酸配列をコードする核酸配列を含む核酸。

【請求項 8】

請求項 1 ～ 7 のいずれか一項に記載の核酸の内の一核酸とハイブリダイズする核酸。

【請求項 9】

前出の請求項のいずれか一項に記載の核酸を含むことを特徴とするベクター。

【請求項 10】

プロモーター、ターミネーター及びエンハンサーからなる群から選択される少なくとも一種の要素を更に含むことを特徴とする、請求項 9 に記載のベクター。 30

【請求項 11】

ベクターが発現ベクターであることを特徴とする、請求項 9 又は 10 に記載のベクター。

【請求項 12】

少なくとも一個のプロモーターが、ポリペプチドをコードする請求項 1 ～ 8 のいずれか一項に記載の核酸の少なくとも一部分を有するリーディングフレーム内にあることを特徴とする、請求項 9 ～ 11 に記載のベクター。

【請求項 13】

請求項 1 ～ 8 のいずれか一項に記載の核酸によりコードされるポリペプチド。

【請求項 14】

改変されていることを特徴とする、請求項 13 に記載のポリペプチド。 40

【請求項 15】

請求項 9 ～ 12 のいずれか一項に記載のベクターを含む細胞（特に単離された細胞）。

【請求項 16】

請求項 13 又は 14 に記載のポリペプチドに対するものであることを特徴とする抗体。

【請求項 17】

請求項 1 ～ 8 のいずれか一項に記載の核酸に対するものであることを特徴とする、請求項 16 に記載の抗体。

【請求項 18】

請求項 1 ～ 8 のいずれか一項に記載の核酸に対するものであることを特徴とするリボザイ 50

ム。

【請求項 19】

請求項 1～8 のいずれか一項に記載の核酸の少なくとも一部分を含むことを特徴とする、請求項 18 に記載のリボザイム。

【請求項 20】

請求項 1～8 のいずれか一項に記載の各種核酸配列の内の一配列と相補的な配列を含むアンチセンス核酸。

【請求項 21】

請求項 1～8 のいずれか一項に記載の各種核酸のうちの一核酸と相補的である又はこれと同一である配列を含む RNAi であって、好ましくはこの RNAi が、相補的又は同一である領域の長さが 21～23 個のヌクレオチドである領域を含む、RNAi。

10

【請求項 22】

前出の請求項のいずれか一項に記載の核酸の翻訳産物の作用に影響を及ぼす化合物、特に前記作用を阻害する化合物を決定する方法であって、次の各段階、

- ・翻訳産物と化合物を調製する段階と、
- ・翻訳産物の作用を体現する系において、翻訳産物と化合物とを接触させる段階と、
- ・化合物の影響下において翻訳産物の作用に何らかの変化が生じたか否かを決定する段階と

を特徴とする方法。

【請求項 23】

20

前出の請求項のいずれか一項に記載の核酸の転写産物の作用に影響を及ぼす化合物、特に前記作用を阻害する化合物を決定する方法であって、次の各段階、

- ・転写産物と化合物を調製する段階と、
- ・転写産物の作用を体現する系において、転写産物と化合物とを接触させる段階と、
- ・化合物の影響下において転写産物の作用に何らかの変化が生じたか否かを決定する段階と

を特徴とする方法。

【請求項 24】

系が、細胞発現系、無細胞発現系、化合物と翻訳産物の間の相互作用を測定するアッセイ及び化合物と転写産物の間の相互作用を測定するアッセイからなる群から選択されることを特徴とする、請求項 22 又は 23 に記載の方法。

30

【請求項 25】

過形成及び腫瘍の形成、特に甲状腺の過形成及び腫瘍の形成を担う遺伝子を決定する方法であって、次の各段階、

- ・過形成及び腫瘍の染色体転座部におけるブレイクポイントを決定する段階と、
- ・ブレイクポイント領域の両側 400 kbp、好ましくは 150 kbp の領域内にある遺伝子を決定する段階と、
- ・過形成細胞又は腫瘍細胞におけるこの遺伝子の翻訳／転写が、過形成でない細胞又は腫瘍でない細胞と比べて変化しているか否かを決定する段階と

を含む方法。

40

【請求項 26】

請求項 1～8 のいずれか一項に記載の核酸及び／又は請求項 18 又は 19 に記載のリボザイム及び／又は請求項 20 に記載のアンチセンス核酸及び／又は請求項 21 に記載の RNAi の、甲状腺機能障害及び／又は甲状腺過形成及び／又は甲状腺腫瘍の診断及び／又は治療のための使用。

【請求項 27】

請求項 1～8 のいずれか一項に記載の核酸及び／又は請求項 18 又は 19 に記載のリボザイム及び／又は請求項 20 に記載のアンチセンス核酸及び／又は請求項 21 に記載の RNAi の、医薬を製造するため、特に、甲状腺機能障害及び／又は甲状腺過形成及び／又は甲状腺腫瘍を治療及び／又は予防するための医薬を製造するための使用。

50

【請求項 28】

請求項 13 ~ 14 のいずれか一項に記載のポリペプチドの、甲状腺機能障害及び / 又は甲状腺過形成及び / 又は甲状腺腫瘍の診断及び / 又は治療のための使用。

【請求項 29】

請求項 13 ~ 14 のいずれか一項に記載のポリペプチドの、医薬の製造、特に、甲状腺機能障害及び / 又は甲状腺過形成及び / 又は甲状腺腫瘍を治療及び / 又は予防するための医薬を製造するための使用。

【請求項 30】

請求項 16 ~ 17 のいずれか一項に記載の抗体の、甲状腺機能障害及び / 又は甲状腺過形成及び / 又は甲状腺腫瘍の診断及び / 又は治療のための使用。

10

【請求項 31】

請求項 16 ~ 17 のいずれか一項に記載の抗体の、医薬を製造するための使用。

【請求項 32】

甲状腺機能障害及び / 又は甲状腺過形成及び / 又は甲状腺腫瘍の診断のためのキットであって、該キットが、それぞれ前出の請求項の一項に記載の核酸、ベクター、ポリペプチド、細胞、抗体、アンチセンス核酸、RNAi 及びリボザイムからなる群から選択される少なくとも一種の要素を含むことを特徴とするキット。

【請求項 33】

甲状腺機能障害及び / 又は甲状腺過形成及び / 又は甲状腺腫瘍を検出するための方法であって、次の各段階、

20

・甲状腺材料を、それぞれ前出の請求項の一項に記載の核酸、ベクター、ポリペプチド、抗体、アンチセンス核酸、RNAi、リボザイム及び細胞からなる群から選択される剤に接触させる段階と、

・甲状腺機能障害及び / 又は甲状腺過形成及び / 又は甲状腺腫瘍が存在するか否かを決定する段階と

を特徴とする方法。

【請求項 34】

甲状腺材料が *ex vivo* に存在することを特徴とする、請求項 33 に記載の方法。

【請求項 35】

請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の核酸の、プライマー及び / 又はプローブとしての使用。

30

【請求項 36】

請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の核酸配列の一部に相補的であることを特徴とする、核酸を提供する及び / 又はスクリーニングする及び / 又は検出するためのプライマー。

【請求項 37】

甲状腺腫瘍又は甲状腺腫において検出され得る配列を含む核酸を提供する方法であって、ブレークポイントを有する転座が染色体バンド 19q13 に存在し、前記配列が染色体バンド 19q13 内にあり、

該方法が次の各段階、

・PCRを実施するための請求項 36 に記載のプライマーを調製する段階と、

40

・ヒト染色体 19 のバンド 19q13 から採取した核酸配列又は請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の核酸を調製する段階と、

・核酸配列又は核酸をプライマーと混合する段階と、

・PCRを実施する段階と、

を含むことを特徴とする方法。

【請求項 38】

医薬組成物であって、

それぞれ前出の請求項の一項に記載の核酸、ベクター、ポリペプチド、細胞、抗体、アンチセンス核酸、RNAi、リボザイム及びこれらの組み合わせからなる群から選択される少なくとも一種の剤と、

50

医薬として許容しうる少なくとも一種の担体とを含むことを特徴とする医薬組成物。

【請求項 39】

腫瘍及び過形成を治療及び／又は予防するための方法であって、前出の請求項のいずれか一項に記載の核酸の発現を変化させる作用を阻害する化合物が患者に投与されることを特徴とする方法。

【請求項 40】

前出の請求項のいずれか一項に記載の核酸の発現を変化させる作用を阻害する化合物の、医薬を製造するための使用。

【請求項 41】

医薬が、腫瘍及び／又は過形成、特に甲状腺の腫瘍及び／又は過形成を治療及び／又は予防するためのものであることを特徴とする、請求項 40 に記載の使用。

【請求項 42】

配列番号 1～12 及び配列番号 16～19 からなる群から選択される配列を有する核酸又はこれらの誘導体、及び／又はこれらにコードされるポリペプチド又はこれらの誘導体の、医薬（特に甲状腺機能障害及び／又は甲状腺過形成及び／又は甲状腺腫瘍を治療するための医薬）を製造するための及び／又は診断手段（特に甲状腺機能障害及び／又は甲状腺過形成及び／又は甲状腺腫瘍の診断のための診断手段）を製造するための使用。

【請求項 43】

ポリペプチドが、配列番号 13、配列番号 14 及び／又は配列番号 15 に従ったアミノ酸配列を有することを特徴とする、請求項 42 に記載の使用。

【請求項 44】

核酸が、遺伝子コードの縮重がなければ、配列番号 1～12 及び／又は配列番号 16～19 の配列の一配列に係る核酸とハイブリダイズすることを特徴とする、請求項 42 又は 43 に記載の使用。

【請求項 45】

配列番号 13～15 からなる群から選択される配列を有する核酸又はこれらの誘導体の、医薬（特に甲状腺機能障害及び／又は甲状腺過形成及び／又は甲状腺腫瘍を治療するための医薬）を製造するための及び／又は診断手段（特に甲状腺機能障害及び／又は甲状腺過形成及び／又は甲状腺腫瘍の診断のための診断手段）を製造するための使用。

【請求項 46】

甲状腺機能障害及び／又は甲状腺過形成及び／又は甲状腺腫瘍を治療するための手段、及び／又は甲状腺機能障害及び／又は甲状腺過形成及び／又は甲状腺腫瘍を診断するための診断手段をスクリーニングするための方法であって、次の各段階、

e) 候補化合物を調製する段階と、

f) 発現系及び／又は活性系を調製する段階と、

g) 候補化合物を発現系及び／又は活性系と接触させる段階と、

h) 候補化合物の影響下において、配列番号 1～12 及び配列番号 16～19 からなる群から選択される配列を有する核酸又はこれらの誘導体、及び／又はこれらにコードされるポリペプチド、及び／又は配列番号 13～15 に従った配列を有するポリペプチド又はこれらの誘導体の発現及び／又は活性が変化しているか否かを決定する段階と

を含む方法。

【請求項 47】

候補化合物が化合物ライブラリーに含まれることを特徴とする、請求項 46 に記載の方法。

【請求項 48】

候補化合物がペプチド、蛋白質、抗体、アンチカリン、機能的核酸及び小分子からなる化合物クラス群から選択されることを特徴とする、請求項 46 又は 47 に記載の方法。

【請求項 49】

機能的核酸が、アプタマー、アプタザイム、リボザイム、スピゲルマー、アンチセンスオ

10

20

30

40

50

リゴヌクレオチド及びRNAiからなる群から選択されることを特徴とする、請求項48に記載の方法。

【請求項50】

配列番号1～12及び配列番号16～19からなる群から選択される配列を有する核酸又はこれらの誘導体、及び／又はこれらにコードされるポリペプチド又はこれらの誘導体、及び／又は配列番号13～15に従った配列を有するポリペプチド又はこれらの誘導体、及び／又は配列番号1～12及び配列番号16～19からなる群から選択される配列を有する核酸の特に天然相互作用パートナー又はこれらの誘導体、及び／又はこれらにコードされるポリペプチド又はこれらの誘導体、及び／又はこれらの核酸、及び／又は配列番号13～15に従った配列を有するポリペプチドの相互作用パートナー又はこれらの誘導体の、甲状腺機能障害及び／又は甲状腺過形成及び／又は甲状腺腫瘍を診断するための診断手段を開発及び／又は製造するためターゲット分子としての、及び／又は甲状腺機能障害及び／又は甲状腺過形成及び／又は甲状腺腫瘍を予防及び／又は治療するための医薬を開発及び／又は製造するためのターゲット分子としての使用。

10

【請求項51】

医薬又は診断手段が、抗体、ペプチド、アンチカリン、小分子、アンチセンス分子、アプタマー、スピゲルマー及びRNAi分子からなる群から選択される剤を含むことを特徴とする、請求項50に記載の使用。

【請求項52】

剤が、配列番号13～15に従った配列を有するポリペプチド又はこれらの誘導体又はこれらの相互作用パートナーと相互作用することを特徴とする、請求項51に記載の使用。

20

【請求項53】

剤が、配列番号1～12及び配列番号16～19からなる群から選択される配列を有する核酸又はこれらの誘導体と相互作用する、及び／又は特に天然相互作用パートナーをコードする核酸と、特にmRNA、ゲノム核酸又はcDNAと相互作用することを特徴とする、請求項51に記載の使用。

【請求項54】

配列番号1～12及び配列番号16～19からなる群から選択される配列を有する核酸によりコードされるペプチド又はこれらの誘導体と相互作用する、及び／又は配列番号13～15に従ったポリペプチドと相互に作用する、及び／又はこれらの特に天然相互作用パートナーと相互に作用するポリペプチドの、甲状腺機能障害及び／又は甲状腺過形成及び／又は甲状腺腫瘍を診断するための診断手段を開発又は製造するための、及び／又は甲状腺機能障害及び／又は甲状腺過形成及び／又は甲状腺腫瘍を予防及び／又は治療するための医薬を開発又は製造するための使用。

30

【請求項55】

ポリペプチドが、抗体及び結合ポリペプチドからなる群から選択されることを特徴とする、請求項54に記載の使用。

【請求項56】

配列番号1～12及び配列番号16～19からなる群から選択される配列を有する核酸によりコードされるポリペプチド又はこれらの誘導体と相互作用する、及び／又は配列番号13～15に従ったポリペプチドと相互作用する、及び／又はこれらの特に天然相互作用パートナーと相互に作用する核酸の、甲状腺機能障害及び／又は甲状腺過形成及び／又は甲状腺腫瘍を診断するための診断手段を開発又は製造するための、及び／又は甲状腺機能障害及び／又は甲状腺過形成及び／又は甲状腺腫瘍を予防及び／又は治療するための医薬を開発又は製造するための使用。

40

【請求項57】

核酸が、アプタマー及びスピゲルマーからなる群から選択されることを特徴とする、請求項56に記載の使用。

【請求項58】

配列番号1～12及び配列番号16～19からなる群から選択される配列を有する第二の

50

核酸又はこれらの誘導体と相互作用する、及び／又は配列番号 13、14 又は 15 に従った配列を有するポリペプチドの相互作用パートナーをコードする核酸と相互作用する第一の核酸の、甲状腺機能障害及び／又は甲状腺過形成及び／又は甲状腺腫瘍を予防及び／又は治療するための医薬を開発又は製造するための使用。

【請求項 59】

相互作用する第一の核酸が、アンチセンスオリゴヌクレオチド、リボザイム及び／又は RNA であることを特徴とする、請求項 58 に記載の使用。

【請求項 60】

第二の核酸が cDNA 又は mRNA であることを特徴とする、請求項 58 又は 59 に記載の使用。

10

【請求項 61】

請求項 50～60 のいずれか一項に記載の使用に係る群から選択される少なくとも一種の剤と、医薬として許容しうる少なくとも一種の担体とを含む、特に、甲状腺機能障害及び／又は甲状腺過形成及び／又は甲状腺腫瘍を予防及び／又は治療するための医薬組成物。

【請求項 62】

請求項 50～60 のいずれか一項に記載の使用に係る少なくとも一種の剤を含む、甲状腺の状態を特徴付けるためのキット。

【発明の詳細な説明】

【説明】

20

【0001】

本発明は、過形成及び／又は腫瘍を原因とする発現変化を有する核酸、ヒトの CAT 及び DC2 の相同体（以下単に CAT 及び DC2 とも称する）及び PKC（特にその相同体）をコードする核酸、これらを含むベクターや細胞、これらによってコードされるポリペプチド、これらに対する抗体、腫瘍を治療するための物質として好適な化合物を決定する方法、甲状腺腫瘍の形成に関与する遺伝子を決定する方法、更にはこれら核酸の使用に関する。

【0002】

体の成長や発達をコントロールするホルモンを産生する甲状腺の重要性は、少なくともある一部の症例においてこの腺の機能障害がもたらす注目すべき変化と共に、この語の真の意味である「盾」という意義において、医学の分野では古くから知られている。

30

【0003】

甲状腺腫、あるいは一般に甲状腺腫瘍の病因については、包括的な説明を特に分子レベルで与えるには未だ至っていない。現在、2 種の考え方があり、その一方では、条件付きではあるが、組織の過形成は刺激ホルモンによる慢性的刺激の結果であると考えられており、究極的にはポリクローナル結節の成長をもたらす。この考え方は非新生物エンドクリン過形成(non-neoplastic endocrine hyperplasia; NNEH)と称される。他方の考え方では、結節は真正なクローン性の腫瘍である。

【0004】

甲状腺の場合、他の腺に適用可能な非新生物エンドクリン過形成という単純な概念は適用できないことが判明した。この分野における現在の考え方については、スチューダー H. (Studer, H.) (1995) の「エンドクリン・レビューズ」、Vol. 16、No. 4、411～426 ページに記載されている。

40

【0005】

よって、甲状腺腫や甲状腺腫瘍の治療には、適切な治療コンセプトが採用できるよう早期の診断が必要である。

【0006】

本発明の目的は、甲状腺機能障害、甲状腺過形成及び甲状腺腫瘍を診断し、治療するための手段を分子レベルで提供することであって、特に病原性をもたらすメカニズムに関与する核酸配列であると共にこのメカニズムを研究するために好適な核酸配列を提供すること

50

、及びこの病原性をもたらすメカニズムに作用するあるいはこれに影響を与えることができる核酸配列を提供することである。

【 0 0 0 7 】

加えて、前記核酸配列に基づく薬剤、及び広く医薬組成物をも提供する。

【 0 0 0 8 】

更には、甲状腺機能障害、甲状腺過形成、及び甲状腺腫瘍の診断及び／治療のためのキット、並びにこれらを検出するための方法をも提供する。

【 0 0 0 9 】

上の目的は本発明に係る各独立請求項に記載の内容をもって達成される。更なる各種実施形態は従属請求項から得られる。

10

【 0 0 1 0 】

上の目的は本発明の第一の様相においては、過形成及び／又は腫瘍により発現が変化した核酸によって達成されるが、この核酸は、配列番号 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、16、17、18、及び 19（以下、配列番号 1～12 及び配列番号 16～19 と称する）からなる群から選択される核酸配列を有する。

【 0 0 1 1 】

一実施形態においては、腫瘍は染色体バンド 19 q に何らかの変化を有する各種上皮腫瘍と染色体バンド 19 q 13 に何らかの変化を有する各種腫瘍からなる群から選択される。

【 0 0 1 2 】

別の実施形態においては、過形成は甲状腺の各種過形成から選択される。

20

【 0 0 1 3 】

更に別の実施形態においては、配列番号 1、2、7、10、11 及び／又は 12 は C A T（特にヒト C A T）あるいはその一部をコードする。

【 0 0 1 4 】

別の実施形態においては、配列番号 3、4、8、16 及び／又は 17 が、D C 2（特にヒト D C 2）又はこれらの一部をコードする。

【 0 0 1 5 】

更に別の実施形態においては、配列番号 5、6、9、18 及び／又は 19 が P K C（特にヒト P K C）又はこれらの一部をコードする。

【 0 0 1 6 】

30

別の様相においては、上の本発明の目的は、遺伝子コードの縮重がなければ本発明に係る核酸と同じアミノ酸配列をコードする核酸配列を含む核酸によって達成される。

【 0 0 1 7 】

別の様相においては、上の本発明の目的は、本発明の各種核酸の内の一核酸とハイブリダイズする核酸によって達成される。

【 0 0 1 8 】

更に別の様相においては、上の本発明の目的は、ベクターによって達成されるが、このベクターは本発明の各種核酸の内少なくとも一核酸を含む。

【 0 0 1 9 】

一実施形態においては、ベクターは、プロモーター、ターミネーター及びエンハンサーからなる群から選択される少なくとも一種の要素を更に含む。

40

【 0 0 2 0 】

別の実施形態においては、ベクターは発現ベクターである。

【 0 0 2 1 】

更に別の実施形態においては、少なくとも一個のプロモーターが、ポリペプチドをコードする請求項 1～8 のいずれか一項に記載の核酸の少なくとも一部分を有するリーディングフレーム内にある。

【 0 0 2 2 】

別の様相においては、上の本発明の目的は、本発明の核酸によりコードされるポリペプチドによって達成される。

50

【 0 0 2 3 】

一実施形態においては、ポリペプチドは改変されている。

【 0 0 2 4 】

別の様相においては、上の本発明の目的は、本発明のベクターを含む細胞（特に単離された細胞）により達成される。

【 0 0 2 5 】

別の様相においては、上の本発明の目的は、本発明のポリペプチドに対する抗体により達成される。

【 0 0 2 6 】

一実施形態においては、抗体は、本発明の核酸に対するものである。

10

【 0 0 2 7 】

別の様相においては、上の本発明の目的は、本発明の核酸に対するリボザイムにより達成される。

【 0 0 2 8 】

一実施形態においては、リボザイムは、本発明の各種核酸の内の一核酸の少なくとも一部分を含む。

【 0 0 2 9 】

別の様相においては、上の本発明の目的は、本発明の各種核酸の内の一核酸と相補的なあるいはこれと同一の配列を含むアンチセンス核酸により達成される。

【 0 0 3 0 】

20

別の様相においては、上の本発明の目的は、本発明の各種核酸のうちの一核酸と相補的である又はこれと同一である配列を含むRNAiにより達成されるが、好ましくはこのRNAiは、相補的又は同一である領域の長さが21～23個のヌクレオチドである領域を含む。

【 0 0 3 1 】

別の様相においては、上の本発明の目的は、前出の請求項のいずれか一項に記載の核酸の翻訳産物の作用に影響を及ぼす化合物、特に前記作用を阻害する化合物を決定する方法により達成されるが、この方法は次の各段階、

- ・翻訳産物と化合物を調製する段階と、

- ・翻訳産物の作用を体現する系において、翻訳産物と化合物とを接触させる段階と、

30

- ・化合物の影響下において翻訳産物の作用に何らかの変化が生じたか否かを決定する段階と

を特徴とする。

【 0 0 3 2 】

更に別の様相においては、上の本発明の目的は、前出の請求項のいずれか一項に記載の核酸の転写産物の作用に影響を及ぼす化合物、特に前記作用を阻害する化合物を決定する方法により達成されるが、この方法は次の各段階、

- ・転写産物と化合物を調製する段階と、

- ・転写産物の作用を体現する系において、転写産物と化合物とを接触させる段階と、

40

- ・化合物の影響下において転写産物の作用に何らかの変化が生じたか否かを決定する段階と

を特徴とする。

【 0 0 3 3 】

前述の二種の本発明方法の一実施形態においては、系は、細胞発現系、無細胞発現系、化合物と翻訳産物の間の相互作用を測定するアッセイ及び化合物と転写産物の間の相互作用を測定するアッセイからなる群から選択される。

【 0 0 3 4 】

別の様相においては、上の本発明の目的は、過形成及び腫瘍の形成、特に甲状腺の過形成及び腫瘍の形成を担う遺伝子を決定する方法により達成されるが、この方法は次の各段階、

50

・過形成及び腫瘍の染色体転座部におけるブレークポイントを決定する段階と、
・ブレークポイント領域の両側 400 k b p、好ましくは 150 k b p の領域内にある遺伝子を決定する段階と、
・過形成細胞又は腫瘍細胞におけるこの遺伝子の翻訳／転写が、過形成でない細胞又は腫瘍でない細胞と比べて変化しているか否かを決定する段階とを含む。

【0035】

更に別の様相においては、上の本発明の目的は、本発明の各種核酸の内の一核酸及び／又は本発明のリボザイム及び／又は本発明のアンチセンス核酸及び／又は本発明の R N A i の、甲状腺機能障害及び／又は甲状腺過形成及び／又は甲状腺腫瘍の診断及び／又は治療のための使用を提供することにより達成される。

10

【0036】

更に別の様相においては、上の本発明の目的は、本発明の各種核酸の内の一核酸及び／又は本発明のリボザイム及び／又は本発明のアンチセンス核酸及び／又は本発明の R N A i の、医薬の製造、特に、甲状腺機能障害及び／又は甲状腺過形成及び／又は甲状腺腫瘍を治療及び／又は予防するための医薬を製造するための使用を提供することにより達成される。

【0037】

別の様相においては、上の本発明の目的は、本発明のポリペプチドの、甲状腺機能障害及び／又は甲状腺過形成及び／又は甲状腺腫瘍の診断及び／又は治療のための使用を提供することにより達成される。

20

【0038】

別の様相においては、上の本発明の目的は、本発明のポリペプチドの、医薬の製造、特に、甲状腺機能障害及び／又は甲状腺過形成及び／又は甲状腺腫瘍を治療及び／又は予防するための医薬の製造のための使用を提供することにより達成される。

【0039】

別の様相においては、上の本発明の目的は、本発明の抗体の、甲状腺機能障害及び／又は甲状腺過形成及び／又は甲状腺腫瘍の診断及び／又は治療のための使用を提供することにより達成される。

【0040】

別の様相においては、上の本発明の目的は、本発明の抗体の、医薬の製造のための使用を提供することにより達成される。

30

【0041】

更に別の様相においては、上の本発明の目的は、甲状腺機能障害及び／又は甲状腺過形成及び／又は甲状腺腫瘍の診断のためのキットにより達成されるが、該キットは、本発明の核酸、ベクター、ポリペプチド、細胞、抗体、アンチセンス核酸、R N A i 及びリボザイムからなる群から選択される少なくとも一種の要素を含むことを特徴とする。

【0042】

別の様相においては、上の本発明の目的は、甲状腺機能障害及び／又は甲状腺過形成及び／又は甲状腺腫瘍を検出するための方法により達成されるが、この方法は次の各段階、

40

・甲状腺材料を、それぞれ前出の請求項の一項に記載の核酸、ベクター、ポリペプチド、抗体、アンチセンス核酸、R N A i、リボザイム及び細胞からなる群から選択される剤に接触させる段階と、

・甲状腺機能障害及び／又は甲状腺過形成及び／又は甲状腺腫瘍が存在するか否かを決定する段階と

を特徴とする。

【0043】

一実施形態においては、甲状腺材料は e x v i v o に存在する。

【0044】

別の様相においては、上の本発明の目的は、本発明の核酸の、プライマー及び／又はプロ

50

ープとしての使用を提供することにより達成される。

【 0 0 4 5 】

更に別の様相においては、上の本発明の目的は、核酸を提供する及び／又はスクリーニングする及び／又は検出するためのプライマーにより達成されるが、このプライマーは、本発明の各種核酸の内の一核酸の一部分に相補的であるあるいはこれと同一である。

【 0 0 4 6 】

更に別の様相においては、上の本発明の目的は、甲状腺腫瘍又は甲状腺腫において検出され得る配列を含む核酸を提供する方法であって、ブレイクポイントを有する転座が染色体バンド 1 9 q 1 3 に存在し、前記配列が染色体バンド 1 9 q 1 3 内にあり、

該方法が次の各段階、

- ・ P C R を実施するための本発明のプライマーの少なくとも一種を提供する段階と、
- ・ ヒト染色体 1 9 のバンド 1 9 q 1 3 から採取した核酸配列又は本発明の各種核酸の内の一核酸を提供する段階と、
- ・ 核酸配列又は核酸をプライマーと混合する段階と、
- ・ P C R を実施する段階と、

を含むことを特徴とする方法により達成される。

【 0 0 4 7 】

別の様相においては、上の本発明の目的は、医薬組成物であって、

本発明の核酸、ペクター、ポリペプチド、細胞、抗体、アンチセンス核酸、RNAi、リボザイム及びこれらの組み合わせからなる群から選択される少なくとも一種の剤と、

医薬として許容しうる少なくとも一種の担体と

を含むことを特徴とする医薬組成物により達成される。

【 0 0 4 8 】

更に別の様相においては、上の本発明の目的は、腫瘍及び過形成を治療及び／又は予防するための方法により達成されるが、この方法においては、本発明の各種核酸の内の一核酸の発現を変化させる作用を阻害する又は促進させる化合物が患者に投与される。

【 0 0 4 9 】

更に別の様相においては、上の本発明の目的は、前出の請求項のいずれか一項に記載の核酸の発現を変化させる作用を阻害する化合物の、医薬を製造するための使用を提供することにより達成される。

【 0 0 5 0 】

一実施形態においては、医薬は、腫瘍及び／又は過形成、特に甲状腺の腫瘍及び／又は過形成を治療及び／又は予防するためのものである。

【 0 0 5 1 】

別の様相においては、上の本発明の目的は、配列番号 1 ~ 1 2 及び配列番号 1 6 ~ 1 9 からなる群から選択される配列を有する核酸又はこれらの誘導体、及び／又はこれらにコードされるポリペプチド又はこれらの誘導体の、医薬（特に甲状腺機能障害及び／又は甲状腺過形成及び／又は甲状腺腫瘍を治療するための医薬）を製造するための及び／又は診断手段（特に甲状腺機能障害及び／又は甲状腺過形成及び／又は甲状腺腫瘍の診断のための診断手段）を製造するための使用を提供することにより達成される。

【 0 0 5 2 】

一実施形態においては、ポリペプチドは、配列番号 1 3、配列番号 1 4 及び／又は配列番号 1 5 に従ったアミノ酸配列を有する。

【 0 0 5 3 】

一実施形態においては、核酸は、遺伝子コードの縮重がなければ、配列番号 1 ~ 1 2 及び／又は配列番号 1 6 ~ 1 9 の配列の一配列に係る核酸とハイブリダイズする。

【 0 0 5 4 】

別の様相においては、上の本発明の目的は、配列番号 1 3 ~ 1 5 からなる群から選択される配列を有するポリペプチド又はこれらの誘導体の、医薬（特に甲状腺機能障害及び／又は甲状腺過形成及び／又は甲状腺腫瘍を治療するための医薬）を製造するための及び／又

10

20

30

40

50

は診断手段（特に甲状腺機能障害及び／又は甲状腺過形成及び／又は甲状腺腫瘍の診断のための診断手段）を製造するための使用を提供することにより達成される。

【0055】

別の様相においては、上の本発明の目的は、甲状腺機能障害及び／又は甲状腺過形成及び／又は甲状腺腫瘍を治療するための手段、及び／又は甲状腺機能障害及び／又は甲状腺過形成及び／又は甲状腺腫瘍を診断するための診断手段をスクリーニングするための方法であって、次の各段階、

a) 候補化合物を調製する段階と、

b) 発現系及び／又は活性系を調製する段階と、

c) 候補化合物を発現系及び／又は活性系と接触させる段階と、

d) 候補化合物の影響下において、配列番号1～12及び配列番号16～19からなる群から選択される配列を有する核酸又はこれらの誘導体、及び／又はこれらにコードされるポリペプチド、及び／又は配列番号13～15に従った配列を有するポリペプチド又はこれらの誘導体の発現及び／又は活性が変化しているか否かを決定する段階とを含む方法により達成される。

【0056】

一実施形態においては、候補化合物は化合物ライブラリーに含まれる。

【0057】

別の実施形態においては、候補化合物はペプチド、蛋白質、抗体、アンチカリン、機能的核酸及び小分子からなる化合物クラス群から選択される。

【0058】

更に別の実施形態においては、機能的核酸は、アプタマー、アプタザイム、リボザイム、スピゲルマー、アンチセンスオリゴヌクレオチド及びRNAiからなる群から選択される。

【0059】

別の様相においては、上の本発明の目的は、配列番号1～12及び配列番号16～19からなる群から選択される配列を有する核酸又はこれらの誘導体、及び／又はこれらにコードされるポリペプチド又はこれらの誘導体、及び／又は配列番号13～15に従った配列を有するポリペプチド又はこれらの誘導体、及び／又は配列番号1～12及び配列番号16～19からなる群から選択される配列を有する核酸の特に天然相互作用パートナー又はこれらの誘導体、及び／又はこれらにコードされるポリペプチド又はこれらの誘導体、及び／又はこれらをコードする核酸、及び／又は配列番号13～15に従った配列を有するポリペプチドの相互作用パートナー又はこれらの誘導体の、甲状腺機能障害及び／又は甲状腺過形成及び／又は甲状腺腫瘍を診断するための診断手段を開発及び／又は製造するためのターゲット分子としての、及び／又は甲状腺機能障害及び／又は甲状腺過形成及び／又は甲状腺腫瘍を予防及び／又は治療するための医薬を開発及び／又は製造するためのターゲット分子としての使用を提供することにより達成される。

【0060】

一実施形態においては、医薬又は診断手段は、抗体、ペプチド、アンチカリン、小分子、アンチセンス分子、アプタマー、スピゲルマー及びRNAi分子からなる群から選択される剤を含む。

【0061】

一実施形態においては、剤は、配列番号13～15に従った配列を有するポリペプチド又はこれらの誘導体又はこれらの相互作用パートナーと相互作用する。

【0062】

更に別の実施形態においては、剤は、配列番号1～12及び配列番号16～19からなる群から選択される配列を有する核酸又はこれらの誘導体と相互作用する、及び／又は特に天然相互作用パートナーをコードする核酸、特にmRNAやゲノム核酸、cDNAと相互作用する。

【0063】

10

20

30

40

50

別の様相においては、上の本発明の目的は、配列番号 1 ~ 12 及び配列番号 16 ~ 19 からなる群から選択される配列を有する核酸によりコードされるペプチド又はこれらの誘導体と相互作用する、及び / 又は配列番号 13 ~ 15 に従ったポリペプチドと相互作用する、及び / 又はこれらの特に天然相互作用パートナーと相互作用するポリペプチドの、甲状腺機能障害及び / 又は甲状腺過形成及び / 又は甲状腺腫瘍を診断するための診断手段を開発又は製造するための、及び / 又は甲状腺機能障害及び / 又は甲状腺過形成及び / 又は甲状腺腫瘍を予防及び / 又は治療するための医薬を開発又は製造するための使用を提供することにより達成される。

【0064】

一実施形態においては、ポリペプチドは、抗体及び結合ポリペプチドからなる群から選択される。

【0065】

別の様相においては、上の本発明の目的は、配列番号 1 ~ 12 及び配列番号 16 ~ 19 からなる群から選択される配列を有する核酸によりコードされるポリペプチド又はこれらの誘導体と相互作用する、及び / 又は配列番号 13 ~ 15 に従ったポリペプチドと相互作用する、及び / 又はこれらの特に天然相互作用パートナーと相互作用する核酸の、甲状腺機能障害及び / 又は甲状腺過形成及び / 又は甲状腺腫瘍を診断するための診断手段を開発又は製造するための、及び / 又は甲状腺機能障害及び / 又は甲状腺過形成及び / 又は甲状腺腫瘍を予防及び / 又は治療するための医薬を開発又は製造するための使用を提供することにより達成される。

【0066】

一実施形態においては、核酸は、アプタマー及びスピゲルマーからなる群から選択される。

【0067】

別の様相においては、上の本発明の目的は、配列番号 1 ~ 12 及び配列番号 16 ~ 19 からなる群から選択される配列を有する第二の核酸又はこれらの誘導体と相互作用する、及び / 又は配列番号 13、14 又は 15 に従った配列を有するポリペプチドの相互作用パートナーをコードする核酸と相互作用する第一の核酸の、甲状腺機能障害及び / 又は甲状腺過形成及び / 又は甲状腺腫瘍を予防及び / 又は治療するための医薬を開発又は製造するための使用を提供することにより達成される。

【0068】

一実施形態においては、相互作用する第一の核酸は、アンチセンスオリゴヌクレオチド、リボザイム及び / 又は RNAi である。

【0069】

別の実施形態においては、第二の核酸は cDNA 又は mRNA である。

【0070】

別の様相においては、上の本発明の目的は、少なくとも一種の本発明の使用に係る群から選択される少なくとも一種の剤と、医薬として許容しうる少なくとも一種の担体とを含む、特に、甲状腺機能障害及び / 又は甲状腺過形成及び / 又は甲状腺腫瘍を予防及び / 又は治療するための医薬組成物により達成される。

【0071】

別の様相においては、上の本発明の目的は、本発明の使用の内の少なくとも一種に係る少なくとも一種の剤を含む、甲状腺の状態、甲状腺を形成する組織の状態又は甲状腺を形成する一又は複数種類の細胞の状態を特徴付けるためのキットにより達成される。

【0072】

本発明は、正常な組織とは異なる発現をする一連の遺伝子又は核酸配列が存在し、その発現が腫瘍や過形成の発生と関係していることが疑われ且つそれらが因果関係にあると考えられるという、驚くべき知見に基づいている。

【0073】

本発明において、或る種の過形成や腫瘍の場合には、或る種の遺伝子あるいは配列の発現

において何らかの変化が起こることが確認された。この場合の変化とは、特に、発現上昇や発現低下をいう。また、本明細書では、過形成や腫瘍の細胞とは異なる細胞や組織における目的の遺伝子や配列の発現の程度を基準として使用する。

【0074】

本明細書において対象とする腫瘍としては、第一の腫瘍グループとして各種上皮腫瘍、特に染色体バンド19qに変化を有する上皮腫瘍、第二の腫瘍グループとして染色体バンド19q13に変化を有する各種腫瘍が挙げられる。この場合の変化とは、特に染色体転座や染色体欠失、染色体挿入、染色体逆位をいう。

【0075】

第一のグループの腫瘍は甲状腺の各種腫瘍を含み、甲状腺の上皮腫瘍が好ましい。第二のグループの腫瘍としては、例えば、白血病（慢性リンパ性白血病、急性骨髄性白血病等）やB細胞リンパ腫、神経膠腫、悪性線維性組織球腫、骨肉腫、平滑筋肉腫、脂肪肉腫、卵巣腫瘍、乳腫、腎臓癌、膵臓癌、胆嚢癌等が挙げられる。

【0076】

WHOの分類によれば、甲状腺の腫瘍は殆どが上皮腫瘍由来であり、良性型と悪性型に分けられる。良性腫瘍においては、「真正の」腺腫と、「腫瘍様病変」とも言われる甲状腺過形成（良性腺腫様甲状腺腫結節）とが区別される。この過形成は、殆どがポリクローナル結節であり、包形成が不完全な様々な大濾胞性構造を有することが多い。一方、甲状腺腺腫は濾胞性上皮由来の被包型腫瘍である。これらの通常単発性の腫瘍は均一に構成され、その構造は隣接する甲状腺組織とは異なる。これらは、顕微鏡的に（組織の細かさという点で）分化の程度に応じて、正常濾胞性（normofollicular）（シンプル/シングル）、大濾胞性（macrofollicular）（コロイド）、小濾胞性（microfollicular）（胎児性）、小柱性（trabecular）（胚性）に分類することができる。

【0077】

本明細書におけるCATとは、カチオン性アミノ酸輸送体（カチオン性アミノ酸輸送体、カチオン性アミノ酸を輸送するもの）の略称である。この輸送体は、カチオン性アミノ酸を輸送して細胞にアミノ酸を供給する役割を担っている。これらのアミノ酸の中には神経伝達物質として機能するものがあることから、輸送体の中にも信号伝達に関与しているものがあることになる。現在のところ、CAT-Aがこれとは異なる機能を有する可能性は排除できない。

【0078】

本発明の枠内で確認される相同性は、ヒトの配列とドブネズミ（*Rattus norvegicus*）由来のCAT3との比較に基づくものである。

【0079】

既知のDC2は、細胞内に遍在する蛋白質であり、ショウジョウバエ（*Drosophila*）とその初期の胚発達に関係して報告されたのが最初である。DC2は、プロテインキナーゼ活性を示す。ヒトのDCについての最初の報告は、樹状細胞に関係するものであった。

【0080】

本明細書において、PKCとはプロテインキナーゼCガンマを略したものである。PKCは、セリンとトレオニンのリン酸化を仲介することにより転写調節に関与する。これに鑑み、プロテインキナーゼCガンマのこの一般的機能から、PKCが、細胞における転写イベントへ介入でき且つ本明細書に記載の腫瘍や過形成の診断と治療の両方に向けての出発点を提供するターゲットであるということが導かれる。この転写影響因子が本明細書に記載の腫瘍に関係するイベントに中心的重要性を担うという知見は、本発明者にとって驚くべきことであった。

【0081】

本発明の配列には、それぞれに相補的な配列も含まれることも本発明の範囲に含まれる。

【0082】

更に、本発明の範囲には、特に、シングルコピー配列を検出するためのノーザンブロットハイブリダイゼーションの標準的な条件において、配列番号1～12の各配列とハイブリ

10

20

30

40

50

ダイズする核酸配列も含まれる。

【0083】

本発明の各種核酸の内の一核酸の翻訳産物の作用に影響を及ぼし得る化合物を決定する本発明の方法には、化合物ライブラリーをスクリーニングする方法も含むことができる。このような化合物ライブラリーとしては、低分子量化合物のライブラリーが好ましい。基本的には、この手続きは、或る系において本発明の各種核酸の内の一核酸の翻訳産物を化合物に接触させるものであるが、ここにおいて、この系は、前記翻訳産物の作用、ひいては翻訳産物に対する化合物の作用を示すか、あるいはこの作用を検出可能な信号の形で出力するものである。この作用は、例えば、強度、基板特異性（認識、結合、輸送）及び／又は受容体特異性や受容体親和性や膜会合についての関数をモディファイして、即ち信号伝達として表すことができる。この作用は、細胞における酵素反応に対しても影響を及ぼすであろう。この作用は、無細胞系と細胞系の両方において、細胞培養でもトランスジェニック動物モデルでも（*in vitro*、*in vivo*及び*in situ*で）調べることができる。

10

【0084】

以下、本発明の方法及び適用において、腫瘍や過形成と言及する場合は、本発明の核酸に関係して示される全ての種類の腫瘍や過形成含むものと理解されたい。

【0085】

本発明の核酸が甲状腺腫や甲状腺腫瘍、甲状腺癌の診断や治療と、発症に関する機序の調査との両方に用いられるという新しい可能性が開かれている。特に、配列を知ることにより、適切な診断手段あるいは治療手段を直接的あるいは間接的に、薬学的な組成物や医薬という意味において分子レベルで用いることができるようになる。

20

【0086】

本発明の核酸配列は、キットや方法と同様、上述の意味において診断や治療において使用される適切な手段を作るために、当業者に既知の方法で使用されることができる。

【0087】

核酸とは、DNA配列とRNA配列の両方をいう。これには、これらのハイブリッドや、異なるバックボーンを有するPNAやLNA等由来の誘導体も含まれる。また、核酸は一本鎖構造、二本鎖構造あるいはトリプル構造で存在することができる。

【0088】

DNAの鎖性、即ち例えば一本鎖であるか二本鎖であるかは、核酸配列の長さにより異なるものとすることもできる。

30

【0089】

更に、本発明の核酸配列は、完全でなくてもよく、断片とすることもできる。

【0090】

更に、本発明に開示される核酸配列には、その変異体も含まれる。本明細書において、変異とは、核酸配列内に起こり得るものとして当業者に知られている変異全てをいい、点変異と点変異以外の変異、即ち逆位、挿入、欠失を含む。

【0091】

本発明の核酸とその他の核酸の相互作用に関して、通常の操作において認識されているハイブリダイゼーションの基準を本発明においても用いる。適切なハイブリダイゼーションの条件を選択することにより、特定の領域とのハイブリダイゼーションのストリンジェンシーを変更することができ、従って、本発明の核酸配列は、完全ではないものの対応する配列、即ち相補配列、との差異の程度が様々な核酸配列とハイブリダイズすることができるようになる。

40

【0092】

本発明の核酸配列には、もし遺伝子コードの縮重がなければ本発明の各種配列の内の一配列とハイブリダイズしたであろう配列も含まれる。これは、本発明の核酸配列にあるオープンリーディングフレームを見れば、これを遺伝コードを用いてアミノ酸配列に翻訳できることを意味する。しかしながら、遺伝子コードの縮重を鑑み、このようにして得たアミ

50

ノ酸配列から出発し、遺伝コードを再び用いて、アミノ酸配列を決定するために用いた核酸配列に対してもはやハイブリダイズできない程異なっている核酸配列を得ることもできる。

【0093】

当業者であれば、本明細書に開示されている核酸から出発して、本発明の核酸配列と相互に作用できる適切なアンチセンス核酸（特にアンチセンスRNA）を生成することができる。この相互作用により、このアンチセンス核酸は、この核酸配列が関与するプロセスに直接的な影響を及ぼすことができる。この相互作用は、翻訳レベルと同様、例えば転写レベルにおいても起り得る。

【0094】

本発明の核酸配列は、通常、*in situ*や*ex vivo*において前記組織、例えば対応する細胞や組織、器官培養物から単離することにより得られる核酸配列をいう。しかしながら、ジーンバンクから単離される核酸配列、特にヒトジーンバンクから、より好ましくはヒト染色体19のジーンバンクから単離される核酸配列も本発明の核酸配列に含まれる。更に、本発明の核酸配列には、適切な合成技法（例えば、ポリメラーゼ連鎖反応やその他の従来技術において知られている生物化学的、化学的合成方法）により作成される核酸も含まれる。

【0095】

本発明の配列は、改変されていてもよい。

【0096】

改変には、例えば、本発明の核酸配列の（一部の）配列の断片化、挿入、欠失、逆変異も含まれる。これには、他の核酸配列が挿入されることも含まれる。これらの核酸配列には、例えば、特定の領域をコードすることができ、翻訳や転写を制御するためのスペーサーや要素として機能することができる。

【0097】

更に、本発明の核酸は、他の分子と相互作用し得る配列や分子を含むように改変されたものであることができる。これは、例えば、核酸結合タンパクとの結合を仲介する固体キャリアや配列に対する結合部位の形で達成できる。

【0098】

更に、本発明の核酸配列は標識されたものであることができる。ここで、標識は、基本的には直接標識と間接標識の両方をいう。標識は、従来技術において知られている標識物質と標識方法を用いて達成することができ、例としては放射性標識、非放射性標識、蛍光標識が挙げられる。非放射性標識に用いられる標識物質としては、例えば、ジゴキシゲニン、アビジン、ストレプトアビジン、ビオチンが挙げられる。

【0099】

本明細書におけるベクターとは、当技術分野において知られている組換えベクターをいう。このようなベクターとしては、例えば、ウィルスベクター（アデノウィルスベクター、レトロウィルスベクター等）、ファージシステム、プラスミドベクター（コスミドベクター等）、原核生物系と真核生物系に使用できる人工染色体等が挙げられる。

【0100】

本発明のベクターは、本発明の核酸配列に加え、従来技術において知られている要素を更に含むことができる。各要素、例えばプロモーターやターミネーター、エンハンサーは、当業者に知られている方法で宿主細胞系に応じて選択される。ここで特に気をつけなければならないことは、適切な真核生物プロモーターと誘導プロモーターを選択することである。更に、前記要素に加え、これらのベクターは、少なくとも本発明の核酸配列あるいはその一部が宿主細胞システムのゲノムに導入されるという結果をもたらす要素を含むこともできる。

【0101】

リーディングフレーム（「インフレーム」）にある前記要素の内の少なくとも一要素が、本発明の核酸配列の少なくとも一個のオープンリーディングフレームと組み合わせされると

10

20

30

40

50

いうことも可能である。この特別なオープンリーディングフレームの転写速度が付加的に導入したプロモーターにより制御される場合が、特に有利である。ここで、このプロモーターは通常、適切な距離に、このオープンリーディングフレームに対し「インフレーム」に存在するものである。

【0102】

更に、本発明の核酸配列のオープンリーディングフレームは、好ましくは前述の条件において、シグナル配列を有することができる。このシグナル配列は、このオープンリーディングフレームがコードしている遺伝子産物に細胞膜を通過させて転座させることができ、またその結果として必要に応じてこの遺伝子産物を更に改変させることができる。このようなシグナル配列としては、合成蛋白質を小胞体やゴルジ体、リオソーム (lysosomes)、細胞小器官 (ミトコンドリアや葉緑体等)、細胞コアに輸送するためのシグナル配列が挙げられる。このような方法で別の細胞コンパートメントに通過することにより、翻訳後修飾をすることができるため、必要に応じて遺伝子産物を更に有利に開発することができる。

10

【0103】

シグナル配列に加え、このような構成に更に付加的な核酸配列を含ませることができる。この付加的な配列は、本発明の核酸配列のオープンリーディングフレームの遺伝子産物が融合産物を形成するという結果をもたらすものである。ここで、このフューズド・オン・パート (fused-on part) は、別の蛋白質の一領域に対応するものであることができ、例えば本発明の核酸配列のオープンリーディングフレームの遺伝子産物を検出するのに使用される。また、生物学的な系における他の分子や構造物との相互作用を検出するのに使用される。ここで生物学的な系とは、好ましくは細胞である。

20

【0104】

本発明の核酸配列の上に述べた利点と、当業者であれば上述の説明から知得できる更なる利点に加え、これらのことも、前記核酸配列から推測することができる、又は該配列によりコードされるポリペプチドに固有のものである。一方、これらのポリペプチドは、本発明の核酸配列のオープンリーディングフレームから直接得ることができる、あるいは本発明のベクターを宿主生物に発現させて当業者に知られている方法で生成することができる。後者の場合、通常、まず本発明のベクターを宿主生物に導入し、宿主生物を増幅し、宿主生物からポリペプチドを得る。あるいは、宿主生物からポリペプチドを培地に分泌させる場合は、この培地からポリペプチドを得る。

30

【0105】

本発明のポリペプチドやこれらポリペプチドをコードする核酸は、甲状腺の組織における「細胞の」イベントに影響を及ぼすように直接使用されるが、これに加え、アフィニティークロマトグラフィー等により細胞イベントに関与する他の成分を精製するために使用することもできる。また、適切な抗体を作成するために使用することもでき、この抗体は例えば、治療や診断の目的で使用することができる。このような方法で、例えば、本発明ポリペプチドの相互作用パートナーを決定し単離することができる。

【0106】

翻訳後修飾等の特別な必要性や所望の純度等に応じて、本発明のポリペプチドを宿主生物内で作成するときは、宿主生物としては原核生物や真核生物が有利である。

40

【0107】

本発明のポリペプチドは適切な方法で改変することができる。改変とは、例えば断片化のことであり、特に分子を短くすることをいう。ここで使用する改変の意味には、ポリペプチドを標識することも含まれる。この標識は、高分子化合物と低分子化合物のどちらでも達成でき、例えば放射性標識、非放射性標識、蛍光標識が挙げられる。また、標識は、例えば蛋白質のリン酸化やグリコシル化の形であってもよい。各標識方法や改変方法は当技術分野で知られており (例えば、「蛋白質を用いる各種方法」第二版、D. M. ボラグラ、ウィリ・リス社、ニューヨーク、1996年 (Protein Method, 2nd ed., D. M. Bollag et al., Wiley Liss, Inc., New York, NY, 1996) 参照)、これら全体をここに引用す

50

る。

【0108】

本発明における改変には、当業者に知られているいかなる形態の翻訳後修飾も含まれ、特に、ポリペプチドの蛋白質分解処理、N末端における残基の付加や除去、N末端のアセチル化、N末端のミリストイル化、グリコシルホスファチジル基やファルネシル基、ゲラニルゲラニル基のC末端への付加、Nグリコシル化、Oグリコシル化、グリコサミノグリカンの付加、ヒドルキシル化、リン酸化、ADPリボシル化、ジスルフィド架橋形成をいう。

【0109】

本発明のポリペプチドを変異させて、特にアミノ酸変異をさせて得たポリペプチドも本発明の範囲内であり、また実際そのようにして本発明のポリペプチドを得た。アミノ酸変異とは次の両方の変異をいう。即ち、アミノ酸を側鎖が類似している別のアミノ酸で置き換える置換（保存的置換、例えばIからLへ、DからEへ）と、アミノ酸を別のアミノ酸に置き換えてもコードされたポリペプチドの機能に好ましくない影響を与えないような置換（サイレント変異）の両方をいう。コードされたポリペプチドの機能は適切なアッセイにより確認できる。CAT（即ち、カチオン性アミノ酸輸送体）、DC2（即ち、各キナーゼ活性）及びPKC（即ち、プロテインキナーゼガンマ）のための適切な機能アッセイは当業者に知られている。例えば、CATについては、クロス（Closs）E Iら、*Biochemistry*, 36(21): 6462~8やウー（Wu）F.ら、*Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 278(6): R1506~12、パラシン（Palacin）Mら、*Physiol Rev* 78(4): 969~1054に記載されており、PKCGについてはベクトン（Becton）DLら、*J Cell Physiol*, 125(3): 485~91やパーソンズ（Persons）DAら、*Cell Growth Differ*, 2(1): 7~14、ペランダー（Perander）Mら、*J. Biol. Chem*, 276(16): 13015~24に記載されている。

【0110】

更なる各種利点が、本発明に係る細胞で達成され得る。これらには、例えば、この細胞に対応する核酸配列や該配列から得られる遺伝子産物を得ること等が含まれる。

【0111】

特に、本発明の核酸配列を細胞のゲノムに挿入することは重要であるが、例えば、このような配列が及ぼす影響、特に細胞環境における影響を更に研究するためには更に重要である。この場合、遺伝子量効果等を検査するあるいは診断及び/又は治療目的で 사용할ことができる。非常に有利であるのは、二倍体細胞から開始したときに、一本の染色体のみが一又は複数の核酸配列を含み、好ましくはバンド19q13の対応する位置に挿入されており、第二の染色体については染色体バンド19q13に関与する染色体翻訳は行われず、という状態であると思われる。このような細胞は、例えば診断的アプローチにおける陽性対照及び/又は陰性対照として使用することができる。

【0112】

本発明の範囲には、本発明に係る各翻訳産物及び/又はこれらをコードする核酸に加え、本明細書に述べるように、各翻訳産物及び/又はこれらをコードする核酸から生じる作用を得るあるいは抑制する他の手段も使用できることも含まれる。このような手段は、所謂スクリーニング法の中から選ぶことができる。この場合、第一のステップにおいて、一又は複数の候補化合物が調製される。本発明に係る候補化合物は、本明細書に記載の疾患、特に甲状腺機能障害及び/又は甲状腺過形成及び/又は甲状腺腫瘍の治療に対する適切性や、これらを診断するための診断手段としての使用に対する適切性が、何らかのテスト系にて確認されるべき化合物である。或る候補化合物が、このテスト系において或る相応の作用を示す場合は、これは相応の手段、即ち、主にこれらの疾患の治療に適切な手段を提供するものである。第二の段階では、候補化合物を（翻訳産物）発現系や（翻訳産物）活性系と接触させる。翻訳産物発現系はこの場合、翻訳産物の発現を体現する発現系であり、発

10

20

30

40

50

現の程度は基本的に様々である。翻訳産物活性化系はこの場合、実質的には発現系であり、この系では焦点は翻訳産物の発現よりもその活性や活性状態、影響の受け易さに当てられている。このため、このような翻訳産物は実際の発現過程を経た結果得られるものである必要はなく、ポリペプチドや蛋白質として各活性系に事前に添加されることもできるということは注目に値する。具体的には、この場合、翻訳産物やこれらをコードする核酸の活性が候補化合物の影響下において変化するか否かが確認される。この場合、それぞれの特定の発現系や活性系の存在の有無にかかわらず、発現や活性が低下することも上昇することも起こり得る。発現系及び/又は活性系は通常、*in vitro*のアタッチメントを含む。例えば、細胞コア抽出物等の細胞抽出物や細胞抽出物の断片等である。本発明に係る翻訳産物発現系は細胞であることができ、好ましくは甲状腺細胞や甲状腺過形成部、甲状腺腫瘍を形成する細胞である。

10

【0113】

発現系において起こる増加や減少の程度は、発現の各レベルで決定することができる。即ち、例えば、翻訳産物をコードする核酸、特にmRNAの量の増加あるいは減少、あるいは候補化合物の影響下において発現系で生成される翻訳産物（即ち、各蛋白質）の量の増加あるいは減少により決定することができる。このために必要な技法、例えばmRNAを定量する方法は当業者に知られており、例えば、サンプルック（Sambrook）ら（サンプルック・ヨゼフ（Sambrook, Joseph）：分子クローニング（Molecular Cloning）：実験室マニュアル（laboratory manual）/ J. サンプルック（Sambrook）；E. F. フリッチ（Fritsch）；T. マニアティス（Maniatis）- コールド・スプリング・ハーバー（Cold Spring Harbor）、ニューヨーク：コールド・スプリング・ハーバー・ラボラトリー出版（Cold Spring Harbor Laboratory Press）、19XX、第一版、マニアティス（Maniatis）、トーマス（Thomas）P.、タイトル「分子クローニング（Molecular Cloning）」；第三版の著者：ヨゼフ・サンプルック（Joseph Sambrook）とデービッドW. ラッセル（David W. Russell）；書誌的事項 ISBN 0 - 87969 - 309 - 6 ISBN 0 - 87969 - 576 - 5 ISBN 0 - 87969 - 577 - 3 第1～2版、4th [Dr.] - 1989）により記載されている。更に、翻訳産物の量を決定する方法は当業者に知られており、例えば、適切な抗体を用いることにより決定する。抗体は一般に知られている方法により作成することができ、方法は例えば「現行のプロトコル（Current Protocols）」（「蛋白質科学における現行のプロトコル（Current Protocols in Protein Science）」コリガン（Coligan）J. E.；ダン（Dunn）B. M.、ハイド（Hidde）L. P.、スパイチャー（Speicher）D. W.、ウィングフィールド（Wingfield）P. T.；ウィリー&サンズ（Wiley & Sons）により出版）に記載されている。更に、発現系の範囲内において翻訳産物は標識されていることも可能であり、適切な標識は当業者に知られている。このような適切な標識としては、例えばHis₆による標識（ジャンクネヒト（Janknecht）Rら（1991）、Proc Natl Acad Sci USA、88（20）：8972～6）が挙げられる。

20

30

【0114】

翻訳産物活性化系の場合は、翻訳産物の活性上昇や活性低下のテストは通常、機能アッセイにおいて行われる。これについては、改変翻訳産物の定義に関連して既に説明してあり、より正確には本発明の改変ポリペプチドに関して既に説明してある。

40

【0115】

通常、候補化合物と翻訳産物発現系や活性系との接触は、候補化合物の溶液好ましくは水溶液を、対応する反応系即ち発現系や活性系に加えることにより達成される。発現系や活性系は、本明細書では纏めてテスト系としても記載されている。この場合、水溶液は好ましくは緩衝液であることができる。

【0116】

候補化合物は、通常、どのテストにおいても一度に一種の化合物だけが、対応するテスト系において使用されるような形で使用される。本発明の範囲には、対応する各種テストが同時に高収量系で実施されることも含まれる。本発明に係るスクリーニング法の最後のス

50

テップにおいては、翻訳産物やこれをコードする核酸の発現や活性が、候補化合物の存在により変化したか否かを決定するが、その方法は概ね、候補化合物を添加しないテスト系の挙動と候補化合物を添加したテスト系の挙動を比較することにより実施される。好ましくは、候補化合物は化合物ライブラリーに含まれる。化合物クラスに関わらず基本的には全ての化合物ライブラリーを、化合物ライブラリーとして使用できる。適切な化合物ライブラリーは、例えば小分子のライブラリーである。しかしながら、小分子以外の化合物クラス、例えばペプチドや蛋白質、抗体、アンチカリン、機能的核酸等を使用することも本発明の範囲に含まれる。

【0117】

本発明に係る翻訳産物やこれをコードする核酸を、前述の化合物クラス、特にペプチドや蛋白質、抗体、アンチカリン、機能的核酸等を生成するためのターゲット分子として使用することも本発明の範囲に含まれる。対応する各種化合物、即ち、ペプチドや蛋白質、抗体、アンチカリン、機能的核酸は本発明のスクリーニング法において使用できる。

10

【0118】

本発明に係る翻訳産物やこれをコードする核酸に対して生成されるこれらの化合物、即ち、ペプチドや蛋白質、抗体、アンチカリン、機能的核酸が、本発明に係る手段、即ち、甲状腺機能障害及び／又は甲状腺過形成及び／又は甲状腺腫瘍を治療するための手段や対応する診断手段として使用されることも本発明の範囲に含まれる。

【0119】

好ましくは、本発明に係るペプチド及び特に結合ペプチドは、生物学的系において、特に甲状腺又は甲状腺過形成又は甲状腺腫瘍やこれらを形成する細胞において、本発明に係る翻訳産物や本発明に係る翻訳産物の相互作用パートナー、特に天然相互作用パートナーに結合する蛋白質やペプチドである。本発明の使用に関しては、本明細書に記載の抗体やアンチカリン、機能的核酸、小分子についても同様である。同時に、前述の化合物クラスの各メンバーは、好ましくは、本発明に係る翻訳産物やこれをコードする核酸と相互作用し、よって翻訳産物やこれをコードする核酸の対応する活性に影響を及ぼす。

20

【0120】

しかしながら、本発明に係る翻訳産物やこれをコードする核酸の、相互作用パートナー特に天然相互作用パートナーと相互に作用するメンバーを生成し、使用し、スクリーニング法に付し、相互作用パートナーやこれをコードする核酸の発現や活性に影響を及ぼすことも、本発明の範囲に含まれる。本明細書では「影響を及ぼす」とは発現量の増加又は減少をいう。発現や活性の範囲は概ね既に記載した通りである。これらのメンバーが本発明に係る翻訳産物やこれをコードする核酸の相互作用パートナーと相互に作用した結果、翻訳産物に伴う一連の反応が阻害され、本発明に係る翻訳産物又はこれをコードする核酸の通常見られる作用が阻害される。これは、甲状腺機能障害及び／又は甲状腺過形成及び／又は甲状腺腫瘍に関連して本明細書に開示される治療又は診断の範囲において使用できる。

30

【0121】

これらのペプチド（以下、本明細書では結合ペプチドや結合蛋白質ともいう）は、例えばファージ・ディスプレイ等の従来技術において既に知られている方法を用いてスクリーニングしたり生成したりすることができる。これらの技法は当業者に知られている。これらのペプチドを生成するための典型的な手続は、ペプチドライブラリーを例えばファージの形で構成し、このライブラリーを目的の分子、即ち本発明の場合は例えば翻訳産物や翻訳産物の天然相互作用パートナーと接触させることである。その後、結合ペプチドは通常、ターゲット分子と複合体を形成してライブラリーの他の結合していないメンバーから分けられる。この場合、結合特性は少なくともある程度各場合における特定のテスト条件、例えば塩含有量等により異なることは当業者の知識の範囲内である。ターゲット分子とより高いあるいはより強力な親和性を以って結合しているペプチドをライブラリーの他の結合していないメンバーから分離した後、あるいはターゲット分子を、本発明の場合、本発明に係る翻訳産物から分離した後、これらを特徴付けることができる。場合によっては、特徴付けの前に増幅ステップが必要とされることがある。増幅は、例えば、一又は複数のペ

40

50

プチド又は蛋白質をコードする対応するファージを増殖することにより行う。特徴付けは、好ましくはファージ・ディスプレイ・スクリーニング法においてターゲット分子として使用する翻訳産物あるいはその天然相互作用パートナーに応じてこれら2種の分子のいずれかと結合するペプチドの配列を決定することを含む。これらのペプチドの長さは特に制限されない。しかしながら、典型的には、8～20個のアミノ酸を有するペプチドがこのような方法に適用乃至使用される。ライブラリーに含まれるペプチドは、 $10^2 \sim 10^8$ 、好ましくは $10^8 \sim 10^{15}$ である。アンチカリンは、ターゲット分子に結合するペプチドの特定の形状を示すものであり、例えばドイツ特許出願DE 19742706に記載されている。

【0122】

本明細書に開示された技術的教示により、遺伝子産物、特に本発明のポリペプチドや核酸配列等の本発明に係る翻訳産物に対する抗体を作成することもできる。即ち、この場合においても、化合物に対する抗体が存在することにより得られる、当業者に知られているこの利点は得られる。これらの利点は、特に *in vitro* と *in vivo* における使用において得られる。特に、これらの抗体を用いれば、例えば、本発明に係る化合物、即ち本発明の各種核酸及び/又は本発明に係るポリペプチドや翻訳産物を精製すること、これらを検出すること、更に、*in situ* 且つ *ex vivo* の両方、*in vivo* 及び/又は *in vitro* において抗体が指向している化合物の生物学的利用可能性等の生物学的活性に影響を及ぼすことが可能である。より正確には、特にモノクローナル抗体を用いれば、遺伝子産物を特異的にあるいは細胞レベルで検出することができ、遺伝子産物や核酸配列と他の細胞成分との相互作用に影響を及ぼすことができ、よって細胞イベントにおける特定の介入が達成され得る。抗体が指向する化合物次第、あるいは研究下の系において抗体の作用が発現する化合物次第で、その化合物の作用により達成され得るのが原則的に促進作用となるか、阻害作用となるかが決まる。

【0123】

抗体は、本明細書においてはポリクローナル抗体とモノクローナル抗体の両方をいう。しかしながら、特異性が高いためモノクローナル抗体の方が特に好ましい。しかしながら、ポリクローナル抗体の純度や特異性が十分使用できる、あるいはポリクローナル抗体により達成される特異性等の特性の多くが有利な形で使用できる場合はポリクローナル抗体も適用可能である。抗体の生成や使用については、例えば、抗体：実験室マニュアル（E. ハーロー & D. レーン、コールド・スプリング・ハーバー・ラボラトリー、ニューヨーク、1988年）（Antibodies: A Laboratory Manual (E. Harlow & D. Lane, Cold Spring Harbor Laboratory, NY, 1988)）に記載されており、ここには記載しない。

【0124】

更に、抗体が一本鎖抗体であることができることも、本発明の範囲に含まれる。

【0125】

抗体が断片化されている、特に短縮化されていることも本発明の範囲に含まれる。これは、抗体が断片化されている、特に短縮化されているということを含む。これは、抗体の特異性が残っている、即ち所定のエピトープに結合する限り、抗体が大きくトランケートされていることを含む。トランケーションは、対応する抗体が細胞レベルで使用される場合に特に有利である。これは、このようにすることにより完全抗体に比べ、透過性や拡散性が向上するためである。

【0126】

更に、当業者に知られている他の形状の改変も提供される。これらは、例えば「抗体：実験室マニュアル（E. ハーロー & D. レーン、コールド・スプリング・ハーバー・ラボラトリー、ニューヨーク、1988）（Antibodies: A Laboratory Manual (E. Harlow & D. Lane, Cold Spring Harbor Laboratory, NY, 1988)）」に記載されている。一般に言えることであるが、原則的には抗体の改変はポリペプチドの改変と同様の方法で、またある程度は核酸と同様の方法で実施することができ、同様の理由で本発明に係る抗体も同様の方法で改変できる。

10

20

30

40

50

【0127】

本発明に係るスクリーニング方法の範囲において使用でき且つ本発明に係る医薬や診断手段を作成するために使用できる別のクラスの化合物は、機能的核酸である。ここで、機能的核酸は、特にアプタマー、アプタザイム (aptazyme)、リボザイム、スピゲルマー (spiegelmer)、アンチセンスオリゴヌクレオチド及びRNAiをいう。

【0128】

アプタマーは一本鎖又は二本鎖の、RNAベース又はDNAベースの、ターゲット分子と特異的に結合するD-核酸である。アプタマーの製造については、例えば、ヨーロッパ特許第0533838号に記載されている。次の手順が用いられている。

【0129】

核酸の混合物、即ち潜在的アプタマーの混合物を調製する。各核酸は、少なくとも8個の連続的な任意のヌクレオチドから構成されている。この混合物をターゲットと接触させる。即ち、本発明の場合は、翻訳産物、特に本発明に係る翻訳産物やこれをコードする核酸、翻訳産物の相互作用パートナー、特に天然相互作用パートナー、及び/又はこれらをコードする核酸と接触させる。ターゲットと結合する核酸は、候補を含むこの混合物の残りのものと分けられる。この時、必要に応じて、この候補混合物の中で親和性が高いことを利用して分ける。このようにして得た、ターゲットと結合している核酸を増幅する。これらのステップを何回も繰り返し、最終的に、各ターゲット (即ちターゲット分子) と特異的に結合する核酸を、正確に言えば所謂アプタマーを得る。これらのアプタマーは安定化され得ることも本発明の範囲に含まれる。安定化は、例えば、アプタマー開発の分野の当業者には知られている何らかの基を導入することにより行う。アプタマーは、既にこれまで治療において使用されている。このようにして得たアプタマーをターゲットの確認や、医薬特に小分子医薬の開発のための指示物質として使用することも、本発明の範囲に含まれる。

【0130】

スピゲルマーの製造や生産も基本的に同様の原則に基づいている。スピゲルマーは、本発明の範囲内において、本発明に係る翻訳産物やこれをコードする核酸、翻訳産物相互作用パートナー、特にその天然相互作用パートナー及び/又はこれをコードする核酸に基づき、ターゲット分子として開発することができる。スピゲルマーの製造については、例えば、国際特許出願WO98/08856に記載されている。スピゲルマーは、L-核酸、即ち、L-ヌクレオチドから構成されており、その実質的な特徴は、スピゲルマーが生物学的な系において非常に高い安定性を有していること、また、アプタマーと同程度に、ターゲット分子と特異的に相互作用するあるいは結合することである。スピゲルマーの製造において用いられる手順は次の通りである。D-核酸の不均質な系を作成し、この不均質系をターゲット分子の光学対掌体と接触させる。本発明の場合、例えば、翻訳産物の天然のL-鏡像異性体に対するD-鏡像異性体と接触させ、ターゲット分子の光学対掌体と相互作用しなかったD-核酸を分離する。このようにして、ターゲット分子の光学対掌体と相互作用したD-核酸を決定し、必要に応じて分離し配列決定する。これらの配列はD-核酸に対しては事前に決定されており、これらと同一の配列を有するL-核酸を合成する。ここにおいて、アプタマー製造方法と同様に、これらのステップを何回も繰り返すことにより、適切な核酸、即ち、スピゲルマーを富化するあるいは生産することもできる。これら核酸即ちスピゲルマーは、本発明の翻訳産物と結合するもの、ターゲット分子として使用した上述の化合物に応じた特に天然的な翻訳産物相互作用パートナーの内の一又は複数のもものと結合するもの、若しくは翻訳産物をコードする核酸と結合するものである。

【0131】

本発明において使用できる機能的核酸の別の形は、所謂アプタザイムである。アプタザイムは、例えば、ピガノー (Piganeau) N.ら (2000)、Angew. Chem. Int., 第39版、No. 29、4369~4373ページに記載されている。ここではアプタマーの特定の形が関与しており、その特徴は、ターゲット分子、本発明の場合、翻訳産物や相互作用パートナーと特異的に結合するアプタマー部分に加え、リボザイム部分も含むことがで

10

20

30

40

50

きることである。この結果、ターゲット分子がアプタザイムのアプタマー部分と結合した後、リボザイム部分が活性化される。その結果、アプタザイムのリボザイム部分の基質として機能する核酸が切断される。リボザイム基質の形状に対応して、蛍光の変化を観察することができる。例えば、リボザイム基質上の蛍光ドナーの蛍光アクセプターに対する空間配置の相対変化が起こるために蛍光が変化する。このため、アプタザイムは、特に、翻訳産物やその相互作用パートナーに関するターゲット確認の範囲における使用に適していると共に、本発明に係る診断手段として適している。しかしながら、本明細書に記載したリボザイムに関して開示した範囲内においては、治療における使用もまた可能である。

【0132】

前述の各化合物クラスに共通のファクターは、これらが各蛋白質、即ち、翻訳産物、好ましくは本発明の翻訳産物あるいはその相互作用パートナーと実質的に結合することである。しかしながら、ターゲット分子としてのこれらの化合物クラス、特に機能的核酸が、前述の蛋白質やポリペプチドをコードする核酸をその主体として有することも本発明の範囲に含まれる。

【0133】

翻訳産物、好ましくは本発明に係る翻訳産物及び/又はその相互作用パートナー、特にこれらをコードする核酸を用いて作成することができるあるいは開発することができる別の化合物クラスは、リボザイムやアンチセンスオリゴヌクレオチド、RNAiである。

【0134】

これら化合物クラスの全てに共通するファクターは、翻訳産物のレベル、即ち蛋白質（翻訳産物やその相互作用パートナー）のレベルではこれらの作用を発現せず、各蛋白質をコードする核酸、特に翻訳産物をコードするmRNAのレベルや翻訳産物の相互作用パートナーをコードするmRNAのレベルで発現するというものである。ゲノムDNAや対応するcDNAもまた、基本的にはターゲット分子として適している。

【0135】

リボザイムは、触媒活性を有する核酸を含む。この核酸は、好ましくはRNAで構成されており、2個の領域部分からなる。第一の領域部分は触媒活性を担う部分であり、第二の部分はターゲット核酸と特異的な相互作用を担う部分である。ターゲット核酸とリボザイムの第二の部分の間に相互作用が起こると、この相互作用は通常は互いに実質的に相補的な塩基領域同士のハイブリダイゼーションにより起こるものであるが、リボザイムの触媒部分はターゲット核酸を分子内的にあるいは分子間的に加水分解することができる。リボザイムの触媒作用がホスホジエステラーゼ活性の場合は、後者の方が好ましい。その結果、コードしている核酸の分解、場合によっては更なる分解が起こる。ここで、核酸レベルと蛋白質レベルの両方において、また細胞内と細胞外の両方において、ターゲット分子の力価を下げることができる。このようにして、甲状腺機能障害及び/又は甲状腺過形成及び/又は甲状腺腫瘍を治療するための治療アプローチが提供される。使用や構成原則が当業者に知られているリボザイムは、例えば、ドーティ(Doherty)とドナ(Doudna)「リボザイムの構造及びメカニズム(Ribozyme structures and mechanisms)」、Annu Rev Biochem Biomol Struct、2001; 30: 457~75や、レーウィン(Lewin)とハウスワース(Hauswirth)「リボザイム遺伝子治療: 分子医薬への適用(Ribozyme gene therapy: applications for molecular medicine)」、Trends Mod Med、2001、7: 221~8)に記載されている。

【0136】

医薬組成物が医薬として許容しうる担体に加えリボザイムを含むこと、即ち本発明のリボザイムを医薬として特に甲状腺の機能障害や過形成、腫瘍を治療するための医薬として使用することを目的として、リボザイムの構成を、リボザイムが本発明の各種核酸配列の内一又は複数の配列に対し特異的に作用するように、またこれによりリボザイムが細胞レベルにおける発現や翻訳を制御するようにすることも可能である。これは、治療的観点から見て特に重要であるが、診断的観点からも重要である。リボザイムは分子間触媒作用と分

10

20

30

40

50

子内触媒作用の両方を示すため、本発明の核酸配列を改変して、これら配列の各種領域自体が、改変された領域のリボザイム活性により切断されるようにするということも可能である。当業者であれば本明細書で入手可能となった配列情報を用いて特定の治療を開発することも可能である。

【0137】

本発明の核酸配列と同様、リボザイム自体も特に有利であるが、有利なのは、例えば遺伝子治療により、リボザイムをエフェクター細胞に組み込むことができるときだけではない。しかしながら、対応する改変が *ex vivo* でなされ、この改変細胞が同種再移植や自己再移植で使用されることも実現可能である。リボザイムの製造及び使用については、リボザイム・プロトコル（フィリップ C. ターナー 編、ヒューマン・プレス、トトワ、ニューヨーク、1997）（*Ribozyme Protocols* (Phillip C. Turner, Ed., Humana Press, Totowa, NY, 1997)）に開示されており、ここに引用する。

10

【0138】

本発明に係る医薬の製造や診断手段の作成におけるアンチセンスオリゴヌクレオチドの使用は、基本的に同様の作用機序に基づいている。アンチセンスオリゴヌクレオチドは、相補的な塩基があるために、典型的にはターゲット RNA と、通常は mRNA とハイブリダイズし、これにより RNase H を活性化する。RNase H は、ホスホジエステルやホスホロチオエートと結合した DNA によっても活性化される。しかしながら、ホスホロジエステル結合 DNA は細胞ヌクレアーゼにより急速に分解される（但しホスホロチオエート結合 DNA は除く）。これら抵抗性を有する非天然 DNA 誘導体は、RNA とハイブリダイズすると RNase H を阻害しなくなる。言い換えると、アンチセンスポリヌクレオチドは、DNA-RNA 複合体となった時のみ有効である。このようなアンチセンスオリゴヌクレオチドは、例えば米国特許第 5849902 号や第 5989912 号等に記載されている。元来、アンチセンスオリゴヌクレオチドの基本概念は、ある RNA に対して相補的な核酸を提供することである。言い換えると、塩基相補性を用いて、翻訳産物やその相互作用パートナーの核酸配列、特にそれらの mRNA の核酸配列を知ることから出発すると、コードする核酸、特に mRNA の分解を導く適切なアンチセンスオリゴヌクレオチドを生産することは可能である。この分解を、発現系や活性系において定性的、定量的に測定記録することができる。

20

【0139】

本発明における医薬や診断手段として使用、同定、製造できる他の化合物クラスは、所謂 RNAi である。RNAi は、RNA 干渉を仲介する二本鎖の RNA であり、通常 21 ~ 23 個のヌクレオチドの長さである。この場合、2 本の RNA 鎖の内的一本は、分解される遺伝子の配列に対応する。言い換えると、翻訳産物及び / 又はその相互作用パートナーをコードする核酸、特に mRNA を知ることから出発し、二本鎖の RNA を製造することができる。ここで、二本の RNA 鎖の内的一方は、翻訳産物及び / 又はその相互作用パートナーをコードする前記核酸と、好ましくは mRNA と相補的であり、このため対応するコードする核酸の分解が導かれ、これをもって各翻訳産物、即ち蛋白質の力価の低下が導かれる。RNAi の医薬や診断手段としての生産や使用については、例えば、国際特許出願 WO 00 / 44895 や WO 01 / 75164 に記載されている。

30

40

【0140】

これまで述べた化合物クラス、即ちリボザイムやアンチセンスオリゴヌクレオチド、RNAi の作用機序を鑑み、本発明に係る翻訳産物、即ち、これらのポリペプチドや蛋白質、その特に天然相互作用パートナーに加え、これらをコードする各種核酸、特に対応する mRNA や cDNA、ゲノム DNA を、直接あるいはターゲット分子として、甲状腺機能障害及び / 又は甲状腺過形成及び / 又は甲状腺腫瘍を治療するための医薬の製造や、上述の疾患や機能障害を診断するための診断手段あるいは疾患や使用されている治療の経過をモニターするための診断手段の製造に用いることも本発明の範囲に含まれる。

【0141】

本発明に係る翻訳産物、これをコードする核酸、翻訳産物の相互作用パートナー、特に天

50

然相互作用パートナー及び／又はこれらをコードする核酸を、ターゲット分子として、甲状腺機能障害及び／又は甲状腺過形成及び／又は甲状腺腫瘍を処置あるいは治療するための医薬の製造や開発に、またこれらを診断するための手段の製造及び／又は開発に使用する場合は、小分子のライブラリーを使用することもできる。またこの場合、ターゲット分子をライブラリーに接触させ、ライブラリーのメンバーの内、該分子に結合したものを決定し、必要な場合はライブラリーに含まれる他のメンバーからあるいはターゲット分子から分離する。任意ではあるが、更に特徴付けを行ってもよい。ここでもまた、小分子の特徴付けは、当業者に知られている方法を用いて実施される。例えば、化合物を同定し、分子構造を決定する。ライブラリーに含まれるメンバーの数は、2個～数十万個である。

【0142】

本明細書に開示した、本発明の治療手段や診断手段として使用できる各種化合物クラスに関連して、本発明の別の様相においては、或る化合物クラスは、翻訳産物やその相互作用パートナーと直接的に相互作用する、あるいはこれに結合する。しかしながら、前記各種クラス化合物は、特にペプチドや抗体、アンチカリン、アプタマー、アプタザイム、スピゲルマーが関与する場合に、翻訳産物と何らかの特異的相互作用をするため、翻訳産物の相互作用パートナーを阻害する、ということも本発明の範囲に含まれる。このような観点から、翻訳産物の使用という概念は、一又は複数の翻訳産物相互作用パートナー、例えば、受容体や転写因子、翻訳因子等を使用することも含むと理解されるべきである。従って、本明細書に記載した方法は、翻訳産物蛋白質やこれをコードする核酸に代えてその相互作用パートナーを使用する限りにおいて変更することができ、各種選択方法やアッセイ、スクリーニング方法、製造方法に使用される。PKCGの相互作用パートナーは、例えば、リン脂質やホスファチジルセリン残基を有する化合物である。後者の結合はリン脂質とは無関係であるが、Ca²⁺に依存している（パウエルシクT、コワラR、マテキA（Pawelczyk T, Kowara, R. Matecki, A）；Mol. Cell Biochem. 2000年6月；209（1～2）：66～77）。PKCGの別の結合パートナーは、ホルボールジブチレート（PDBu）/ジアシルグリセロール及び脂質結合ドメイン（CaLB）である（クエストAF、ベルRM（Quest AF, Bell, RM）；J. Biol. Chem.、1994年8月5日；269（31）：20000～12）。更に、PKCGは、Tecファミリー蛋白質チロシンキナーゼTtk及びEmt（ltkやTskに類似）のPHドメインとの相互作用を示し結合する。この場合、PKC遺伝子との相互作用が起こる（パウエルシクT、マテキA、デトラフA（Pawelczyk T, Matecki A, Dettlaff A）；FEBS Lett、1998年2月13日；423（1）：31～4）。CAT-AやCAT-A1の相互作用パートナーは、例えば、一般に、アミノ酸やウィルスである。

【0143】

本発明の範囲においては、翻訳産物の相互作用パートナー、特に本発明に係る翻訳産物の相互作用パートナー、特に天然相互作用パートナーは、前記翻訳産物が相互作用する分子や構造として記載される。特に含まれるものとしては、正常な状態及び／又は病的な状態の生物学的な系において蛋白質と相互作用する分子や構造が挙げられる。

【0144】

甲状腺の機能障害や過形成、腫瘍を診断及び／又は治療するためのキットの構成に関して説明する。ここで特筆すべき点は、このようなキットの厳密な構成、即ちキットに明らかに含まなければならない要素は、当業者に知られていることである。特に、本明細書に開示されている本発明の核酸配列やこれらの翻訳産物の上述の作用や利用性に関して用いた理由付けに照らせば明らかである。本発明に係るキットは、本発明に係る要素の内の少なくとも一個を含む。この要素は、本明細書で特徴づけられた、本発明に係る核酸、ベクター、ポリペプチド、細胞、抗体、リボザイム及び各種クラスの各種化合物からなる群から選択され、特に、抗体、ペプチド、蛋白質、アンチカリン、小分子、アプタマー、スピゲルマー、リボザイム、アプタザイム、アンチセンスオリゴヌクレオチド、RNAiから選択される。これらは、本発明の各種核酸あるいは本発明に係る翻訳産物やこれらの相互作用パートナー、特にこれらの天然相互作用パートナーやこれらをコードする核酸に特異

10

20

30

40

50

的なものである。好ましくは、これらはそれぞれ本発明に係る定義におけるものである。本発明に係るキットに含まれる更なる要素は、緩衝液、陰性対照、陽性対照及び使用指示書からなる群から選択される。通常、キットに含まれる各化合物や構成要素は乾燥しているか、液状であり、好ましくは使用1回分の量に分けられている。このキットは、甲状腺機能障害及び/又は甲状腺過形成及び/又は甲状腺腫瘍であることを判断するために使用できる。本発明の細胞の使用に関しては、この細胞は、特に再移植用の細胞として、あるいは対応する診断的あるいは治療的な試みにおける陽性対照や陰性対照として使用することができる。

【0145】

本発明の方法は、甲状腺の機能障害、過形成及び/又は腫瘍（癌腫や甲状腺腫を含む）を検出するものであるが、本発明の方法において、甲状腺材料は*in situ*、*ex vivo*、*in vivo*又は*in vitro*で存在することもできる。ここで使用する「甲状腺材料」という概念は、特に、正常な及び/又は病的な状態にある甲状腺の材料、好ましくは甲状腺の細胞材料をいう。従って、甲状腺材料という概念には、機能障害を有する甲状腺から得られる材料、甲状腺過形成から得られる材料、癌腫や甲状腺腫を含む甲状腺の腫瘍から得られる材料も含まれる。機能障害、過形成及び/又は腫瘍が存在するかどうかは、最終的には、本発明において使用される剤が対象の甲状腺材料に及ぼす作用と、「正常な」甲状腺組織に及ぼす作用とを比較することにより決定される。本発明の方法の更なる実施形態は、当業者であれば本明細書に記載された開示に基づき得られるであろう。

10

20

【0146】

各種実施形態やこれらにより達成し得る各種利点に関する上の説明は、本発明の医薬、特に、甲状腺の機能障害、過形成及び/又は腫瘍を診断及び/又は治療するための手段にも同様に適用され、該医薬や該手段は、本明細書に開示される本発明の配列、本発明のペクターと、本発明のポリペプチド、本発明の細胞、本発明のリボザイム及びこれらの使用という形態をとる。本発明に従い作成される化合物や、結合ペプチド、アンチカリン及び機能的核酸からなる群から選択される化合物についても同様である。これら化合物に共通のファクターは、これら化合物が、本発明の核酸配列又はこれらにコードされるポリペプチド、これらの相互作用パートナー又はこれらをコードする核酸に対するものである、即ち、これら化合物はこれらに対してターゲット分子として製造されるあるいは選択されるということである。これら医薬は、一又は複数のこれらの剤や化合物を成分とすることもできる。

30

【0147】

本発明の医薬組成物も同様である。この場合、医薬組成物は、前述の化合物の内の一個のみを含むものであることができ、これに医薬として許容しうる担体を加えて作られる。あるいは、医薬組成物が医薬として許容しうる担体に加え複数の前述の化合物を含むものであることも、本発明の範囲に含まれる。

【0148】

医薬として許容しうる担体は、本明細書においては、当業者に知られている担体全てと理解されるべきであり、これらは通常、使用される形態に応じて選択される。医薬として許容しうる担体としては、例えば、水、緩衝液、アルコール溶液等が挙げられる。

40

【0149】

本発明のプライマーを製造するための方法に関して留意すべきことは、このプライマーには、本発明に係る各種核酸配列又はこれらの一部を特異的に提供することができるものが含まれることである。

【0150】

本発明に係る核酸配列を提供する方法においては、どのソースから得られるものであっても、本発明に係る各種核酸配列や、本発明のプライマーを用いてこれらをPCRに付して得られる核酸に対応する配列は、これらの各種設計物はすべて本発明のものとして使用することができる。適切なプライマーの設計やPCRの実施については、「PCR & PCR

50

2 : 実用アプローチ (M. J. マクファーソン、P. クアーク、G. R. テイラー 編、IRL プレス、オックスフォード、イギリス、1991 年 ; 及び M. J. マクファーソン、B. D. ヘイムス 編、IRL プレス、オックスフォード、イギリス、1995 年) (PCR & PCR 2: A practical approach (M. J. McPherson, P. Quirke and G. R. Taylor, Eds., IRL Press, Oxford, England 1991, & M. J. McPherson and B. D. Hames, Eds., IRL Press, Oxford, England 1995))」に記載されており、これをここに引用する。

【0151】

本発明に係る各種核酸は、本発明に係る核酸配列を含むが、一方で、本明細書に開示されたヒト C A T 遺伝子の相同体 (これら相同体は、単に C A T と表示することもあるし、あるいは本発明に係る C A T 相同体の特別の表示形態として C A T - A、C A T - A 1 とし

10

【0152】

本発明に係る核酸や核酸配列は、特に、後に記載される、本明細書において「配列番号～」で示される核酸配列を含む核酸でもある。これらの核酸配列は、「配列番号～」で示される核酸配列を部分的にあるいは完全に含むものである。また、これら核酸配列は更にヌクレオチドを含み、特に 5' 末端及び / 又は 3' 末端においてヌクレオチドを含む。これらヌクレオチドは、本明細書で「配列番号～」で示される配列に加え、更に各種ヌクレオチドを含む。本発明に係る C A T - A や C A T - A 1 の配列あるいは遺伝子の場合は、B C 9 3 5 0 4 から得られるヌクレオチドが更に付加され、P K C G 遺伝子の場合は、B C 2 7 7 4 9 7 や B C 8 2 9 6 5 1 から得られるヌクレオチドが更に付加され、D C 2、即ち、本発明に係る D C 2 相同体の場合は B C 2 8 0 7 2 3 や B C 9 3 5 0 4 から得られるヌクレオチドが更に付加される。上述のクローンの相対配置を図 11 に示す。

20

【0153】

更に、本発明に係る各種核酸は、本明細書において一又は複数の「配列番号～」で示される配列を有するあるいは含むポリペプチドをコードする核酸である。また、本明細書に開示された一又は複数の本発明に係る各種核酸が有する一又は複数のエクソン及び / 又は一又は複数のイントロンを含む核酸もまた、本発明に係る各種核酸の一種である。

【0154】

本発明のポリペプチド (本明細書においては簡略化のため、単にポリペプチドということもある) は、特に、一又は複数の本発明に係る各種核酸の翻訳産物である。この翻訳産物は、完全長のもの又は短縮化されたものであることができる。一般に、これらの翻訳産物は、本明細書においては、翻訳産物あるいは本発明に係る翻訳産物として記載される。本発明に係る翻訳産物、あるいは本発明に係るポリペプチドは、特に、ドメイン構造の一部であるポリペプチドの一部 (中でも、細胞系の細胞外に存在するドメイン構造の一部であるポリペプチドの一部) とする。

30

【0155】

本発明に係る各種核酸、特に本発明に係る C A T 相同体や、従来技術において知られていない D C 2 相同体、P K C の核酸は、次の各核酸配列により特徴付けられる、あるいは示される。19q13.4 のゲノム配列は、コスミド 15841 から始まり、B A C 2 8 0 7 2 3 を経由して B A C 8 2 9 6 5 1 の最後の b p を終焉とする。この配列は、受託番号 A C 0 1 1 4 5 3 (B A C 2 8 0 7 2 3)、A C 0 0 8 7 5 3 (B A C 8 2 9 6 5 1) で公開されている。このゲノム配列の長さは 293395 b p である。P K C の C 末端をコードする核酸配列は次のように特徴付けられるあるいは示されることができる。このゲノム配列は 19q13.4 を起源とし、受託番号 A C 0 0 8 4 4 0 で寄託されている配列の中に記載されている。この配列は、B A C 8 2 9 6 5 1 の下流側にある、あるいはこれと重複している。この核酸の長さは 243085 b p である。P K C の C 末端をコードする核酸配列は、次の各配列により更に特徴付けられる。このゲノム配列は 19q13.4 を起源とし、受託番号 A C 0 2 2 3 1 8 で寄託されており、配列 B A C 8 2 9 6 5 1 の下流側にある、あるいはこれと重複している。この配列の合計長さは 191422 b p

40

50

である。

【0156】

本明細書で開示される配列は、特に、次のヒト配列を含む。

配列番号1：CAT AやCAT - A1のEST（受託番号BE564764）に対応。

配列番号2：CAT - AやCAT - A1のEST（受託番号BF029168）に対応。

配列番号3：ヒトDC2遺伝子のEST（受託番号AF201937）に対応。

配列番号4：ヒトDC2遺伝子のEST（受託番号BE271491）に対応。

配列番号5：ヒトPKCG遺伝子のEST（受託番号AF345987）に対応。

配列番号6：ヒトPKCG遺伝子のEST（受託番号X625336）に対応。

配列番号7：19q13.4のCAT相同遺伝子のcDNA配列（647bp）を示す。 10

配列番号8：19q13.4のDC2相同遺伝子のcDNA配列（749bp）（本発明配列）を示す。

配列番号9：19q13.4のPKC 相同遺伝子のcDNA配列（3457bp）を示す。比較し得る限りにおいて略100%相同。受託番号X625337とAF345987からなる。

配列番号10：CAT相同遺伝子のcDNA配列を示す。本明細書ではCAT - Aとして記載される。

配列番号11：CAT - Aのスプライス変異体cDNA配列を示す。本明細書ではCAT - A1として記載される。

配列番号12：CAT - A又はCAT - A1のゲノム配列を示す。 20

配列番号13：CAT - Aリーディングフレーム（ORF start 1）のアミノ酸配列を示す。

配列番号14：CAT - Aリーディングフレーム（ORF start 2）のアミノ酸配列を示す。

配列番号15：CAT - Aリーディングフレーム（ORF 3）のアミノ酸配列を示す。

配列番号16：従来技術において知られているDC2遺伝子に相同である本発明DC2遺伝子のゲノム配列を示す。よって、DC2遺伝子ファミリーの別の形態を示す。

配列番号17：DC2相同遺伝子のcDNA配列、即ち配列番号16に従った配列。

配列番号18：PKCGのゲノム配列。

配列番号19：配列番号18のPKCGのcDNA。 30

【0157】

本発明に係る一又は複数のポリペプチドや、本発明ポリペプチドから得られる本明細書に開示した一又は複数の化合物（小分子や結合ペプチド、抗体、アンチカリン、機能的核酸等）それぞれの使用について本明細書に開示したが、前述の他の各種分子や各種化合物も基本的に同様に使用されることも、本発明の範囲に含まれる。

【0158】

本発明を図面、実施例、配列プロトコルを参照しつつ以下、説明する。これにより、本発明の更なる特徴や各種実施形態、利点が見られるものである。

【0159】

実施例1：甲状腺過形成及び甲状腺腺腫の細胞遺伝学的分析 40

甲状腺過形成や甲状腺腺腫は、しばしば見られる甲状腺の上皮の変化の一種である。これらの病変は、クローン性の染色体変化を伴う病変と、表面的には正常に見える核型における病変とに区別され得る。細胞遺伝学的変化が腫瘍の発生に関連している可能性が非常に高い。我々の調査では、症例の約20%においてクローン性の異常を認めることができた。その中で最も頻繁に認められた構造的異常は、染色体バンド19q13における変化である。これまで、甲状腺腫瘍の形成と進行に転座が重要な役割を果たしていることは知られていなかった。我々は、分子遺伝学的調査により、バンド13qの染色体19の転座におけるブレークポイントが、ゲノム領域の150kb部分に集まっていることを示すことができた。

【0160】

細胞培養と染色体分析を、耳化腺の多形態性腺腫に関して既に記載されている方法（ブルディーク（Bullerdiek）ら、1987）を用いて実施した。各核型の記載は、ISCN 1995に準拠する。各種細胞株は、SV40「初期領域」（ベルグ（Belge）ら、1992）を含む構成体で形質転換することにより得た。原発性腫瘍S172とS290.1から二種類の新規な細胞株を得た。これらの細胞株と4種類の原発性腫瘍を用いてFISH実験を行った。核型の説明を表1に示す。ブレイクポイントの局在化のために、PACクローン13174（ゲノム・システムズ（Genome Systems）、米国）、コスミドクローン15841と29573、BACクローン41372、28072及び82951を用いた。これらについては、ローレンス・リバモア国立研究所命名法（Lawrence Livermore National Laboratory (LLNL) nomenclature）（アッシュワース（Ashworth）ら、1995）を用いて記載する。コスミドクローンは、LLNLのヒト染色体-19-特異的「フロー・ソーテッド（flow-sorted）」コスミド・ライブラリー（デジョン（deJong）ら、1998；トラスク（Trask）ら、1992；アッシュワース（Ashworth）ら、1995）から得た。BACクローンはヒトライブラリーCIT-HSPC由来のものであり、LLNLにより単離されたものである。コスミド断片及びBAC断片をE-coriで分解し、0.8%アガロースゲルで分離後、ゲルから切り出し、グラスビーズ技法（QIAEX II、キアゲン（QIAGEN）、ヒルデン、ドイツ）によりゲル片から単離した後、pGEM 11zf（+）ベクター（プロメガ（Promega）、マンハイム、ドイツ）でクローニングした。プラスミド、コスミド、PAC及びBAC-DNAを標準的な方法でアルカリ分解させて単離し、陰イオン交換カラム（キアゲン、ヒルデン、ドイツ）により精製した。DNAの分解は、製造者の情報を考慮し標準的な手続で行った。配列決定は、373 DNAシーケンサー（アプライド・バイオシステムズ、ヴァイターシュタット、ドイツ）により、ベクター特異的プライマーとインサート特異的プライマーを用いて行った。STS、コスミド、PAC及びBACを位置的に局在化させるために、これらのDNAを制限酵素EcoRI、BamHI又はHindIIIを用いて分解し、0.8%アガロースゲルにて分離し、Hybond N+（アマシャム・ファルマシア、フライベルグ、ドイツ）タイプのナイロンメンブレンに移行させた。STS又はプラスミドのDNAをPCRで増幅し、DIG-dUTP（ロシュ、マンハイム、ドイツ）で標識して、これをプローブとして用いた。標識は、ランダムプライム法によりDIG-dUTPをDNAに組み込むことにより行った。プレハイブリダイゼーションとハイブリダイゼーションには、Express Hybハイブリダイジング溶液（クロンテック・ラボラトリーズ、パロ・アルト、米国）を用いた。プローブは、蛍光発光（ロシュ、マンハイム、ドイツ）を用いて可視化した。PCRは、表2に記載した温度とプライマーを用いて実施した。PCR分析は、標準的な手続により行った。鋳型となるDNA（約60 ng）を、各プライマー（400 ng）、300 µMのdNTP、1×PCR緩衝液（1.5 mMのMgCl₂を含む）及び2.5 UのAmpliTaq（パーキン・エルマー・アプライド・バイオシステムズ、ヴァイターシュタット、ドイツ）を含む溶液（50 µL）中で増幅した。得られたPCR産物を1.5%アガロースゲル上で分離後、ゲルから切り出し、グラスビーズ技法（QIAEX II、キアゲン、ヒルデン、ドイツ）によりゲル片から単離し、PCR 2.1ベクター（インビトロゲン、サンジエゴ、カリフォルニア）でクローニングした。蛍光insituハイブリダイゼーション（FISH）をGTGバンド法により行い、同じメタフェーズ期にある染色体を解析した。メタフェーズ期にある染色体を処理し、FISHによる検討をキービッツ（Kievits）ら（1990）により提案されたプロトコルを用いて行った。コスミド、PAC及びBAC-DNAをピオチン-14-dATP（ギブコBRL（Gibco BRL）、ライフ・テクノロジー（Life Technologies GmbH）、エッゲンシュタイン、ドイツ）でニックトランスレーション法により標識し、プローブを得た。コスミドプローブ、PACプローブ、BACプローブそれぞれに対し20種類のメタフェーズ期染色体を調査したが、S532.1は例外で2種類のメタフェーズ期染色体のみが評価できた。染色体をヨウ化プロピジウムで対比染色し、FITCフィルター（Zeiss Oberkochen、ドイツ）を用いたツァイス・アクシオフォト（Zeiss Axiophot）蛍光顕微鏡で解析し、パワーゲー

10

20

30

40

50

ン・カリオタイピング・システム (PowerGene Karyotyping System) (P S I、ハラダール (Halladale)、イギリス) を用いて記録した。F I S H を、甲状腺の4種の原因性腫瘍 (S 4 7 6 . 1、S 1 4 1 . 2、S 1 7 2、S 5 3 2 . 1) と甲状腺過形成から得た2種の細胞株とに対して行った。この両細胞株も、原因性腫瘍と同様に、染色体バンド19 q13における変化を示した。これらの解析の結果、全ての原因性腫瘍において、ブレークポイントがB A C クローン280723の範囲に亘る領域に局在化していることが示された。これと共に、B A C クローンシグナルが、正常な染色体19と2種類の誘導染色体との両方において得られた。更にF I S H で検討したところ、コスミド15841と29573、P A C 13174及びB A C 41372においてはブレークポイントに近位のシグナルが得られたが、B A C 829651においてはブレークポイントから遠位のシグナルが得られた。原因性腫瘍S 1 7 2 から得られた細胞株、即ち細胞株S 1 7 2 / S V 4 0 も、B A C クローン280723とハイブリダイゼーションした後、正常な染色体19と両方の誘導染色体上においてシグナルが見られた。細胞株S 2 9 0 . 1 / S V 4 0 は、P A C クローン13174とハイブリダイゼーションしている間に、誘導染色体と正常な染色体19においてシグナルが見られた。このことは、検討対象の全ての腫瘍の染色体19におけるブレークポイントが、コスミド15841とB A C クローン829651の間に位置する配列に対応する約150 k b p の領域に局在化していることを意味している。この領域を更に特徴付けるため、B A C クローン93504、41372、280723及び829651 (L L N L)、P A C クローン13174 (ゲノム・システムズ、米国)、並びにコスミドクローン30316、15841、29573及び20019 (L L N L) から、制限酵素地図と配列決定データを用いてコンティグを構築した。10種類の新しいS T S がこの配列データから得られた。これらは、プラスミドやコスミドの挿入端の配列を決定することにより、あるいはB A C クローン、P A C クローン及びコスミドクローンに関して内部配列決定を行うことにより得られた。これらP C R アタッチメントのオリゴヌクレオチド配列とP C R 増幅産物のサイズを表2に示す。このコンティグは470 k b p の長さを含み、得られたS T S の内の3種類はブレークポイント領域にあり、1種類はブレークポイントの下流にあり、6種類はブレークポイントの近位に局在化されていた。

10

20

30

40

50

【0161】

配列分析により、3種類のE S T に対して相同的な各種配列がブレークポイント領域の直近にあるいはブレークポイント領域内に確認された。これらのE S T をこの領域のゲノム配列と比較することにより、この遺伝子の構造を再構築することができた。この内、一個目のE S T (受託番号B E 2 7 1 4 9 2、A F 2 0 1 9 3 7) は、150 k b p のブレークポイント領域、即ち、コスミドクローン15841と29573の間にある。B E 2 7 1 4 9 2 のc D N A は、卵巣腺腫の細胞株ライブラリーN I H _ M G C _ 9 から単離した。A F 2 0 1 9 3 7 のc D N A は、樹枝状細胞 (ジーンバンクエントリーA F 2 0 1 9 3 7 参照) から単離した。これは3個のエクソン (469 b p、250 b p 及び80 b p) を含み、エクソン間は約320 b p のイントロンと約340 b p のイントロンで隔てられている。この遺伝子はテロメアの方に指向している。これらのエクソンは、ブレークポイント領域の配列に対し約95 ~ 85 % の相同性を有している。この遺伝子のm R N A は蛋白質D C 2 をコードしているが、D C 2 は普遍的に発現する蛋白質である。この遺伝子のc D N A は、例えば、脂肪組織等の広範なタイプの組織や脳、腸、目、心臓、肝臓、脾臓、甲状腺、精巣、皮膚等から単離できた。

【0162】

2個目のE S T (B E 5 6 4 7 6 4、B F 0 2 9 1 6 8) は、コスミドクローン15841上にあるS T S マーカーR S T S 5 の約4 k b 上流から始まっている。両方のE S T と、膀胱癌細胞株から得られたライブラリーN I H _ M G C _ 5 3 を起源とする。これらE S T はセントロメアの方を向いているため、この遺伝子はなおブレークポイント領域内の3' U T R にある。このゲノム領域と比較することにより、エクソン/イントロン構造を明らかにすることができた。この配列データを見る限りでは、この遺伝子は少なくとも

5 k b p に亘っている。比較対象のゲノム配列に対する相同性は、1 ~ 3 番目のエクソンは100%、4 番目は93%、5 番目は68%である。110 b p の或る領域では、ノルウェーラットのカチオン性アミノ酸輸送体 (C A T) の遺伝子に対するこれら E S T の相同性は85%である。これらイントロンのサイズは約500 b p ~ 約2 k b p である。

【0163】

3 個目の E S T (A F 3 4 5 9 8 7、X 6 2 5 3 3) はブレイクポイントの下流に認められた。ブレイクポイントの下流におけるこのゲノム配列の相同性は、比較し得る限り略100%である。この関連遺伝子はセントロメアの方を指向している。この遺伝子はプロテインキナーゼC をコードしている。第一の既知のエクソンは、ブレイクポイント領域の約145 k b p 下流から始まっている。このエクソンには、エクソンの約1100 b p 上流に翻訳開始点がある。別の開始点が、この既知の配列の約1600 b p 上流にある。このゲノム配列と比較することにより、イントロン/エクソン構造を構築することができる。このデータからわかる限りでは、この遺伝子は少なくとも6 個のエクソンから構成されている。この既知の配列の5' 側、即ちブレイクポイントの方向に、より多くのエクソンがあることが予想される。最初の2 個のエクソンのサイズは、イントロン1 は約500 b p、イントロン2 は約1000 b p と見積もられる。これまでに、P K C の c D N A は脳組織や胃組織、白血球から単離されている。

10

【0164】

前述の各 E S T の c D N A 配列又は m R N A 配列の発現について、ヴァーチャル・ノーザン (Virtual Northern) (S A G E、遺伝子発現のシリアル分析; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SAGE/>) にて調べた。このオンライン分析において、選択された各 E S T の配列 (タグ) をライブラリー中の各配列と比較した。これらの結果は実際の遺伝子発現というよりはむしろタグの頻度 (frequency) を示すものであるが、最初の評価としては信頼できるものである。B E 2 7 1 4 9 2 と A F 2 0 1 9 3 7 (D C 2) の E S T のタグは多くのライブラリーにおいて確認され、髄芽腫、乳腺癌、正常な血管内皮細胞株、正常な皮膚及び前立腺癌のライブラリーにおいてはとりわけ強い「発現」が認められた。A F 3 4 5 9 8 7 と X 6 2 5 3 3 (P K C) の E S T のタグは、2 個のライブラリーにおいてのみ、即ち正常な脳から得られたライブラリーと星細胞腫細胞株から得られたライブラリーにおいてのみ認められた。B E 5 6 4 7 6 4 と B F 0 2 9 1 6 8 の E S T のタグは、これらのライブラリーにおいては認められなかった。

30

【0165】

アッシュワース L K、バツラー M A、バドリフ B、ブランドスコップ E、デ・ヨン P、ガルシア E、ガーネス J A、ゴードン L A、ラマディン J E、レノン G、モレンヴァイザー H、オルセン A S、スレツァク T、カラーノ A V (Ashworth LK, Batzer MA, Bradriff B, Brandscop E, de Jong P, Garcia E, Garnes JA, Gordon LA, Lamardin JE, Lennon G, Mohrenweiser H, Olsen AS, Slezak T, Carrano AV): 「ヒト染色体19の一体化メトリック染色体地図 (An integrated metric physical map of human chromosome 19)」、Nature Genet 11: 442 ~ 427 (1995)

【0166】

デ・ヨン P J、ヨカバタ K、シェン C、ローマン F、ペダーソン L、マクニンヒ J、ファン・ディラ M (de Jong PJ, Yokabata K, Chen C, Lohman F, Pederson L, McNinch J, van Dilla M) 「ラムダベクター及びコスミドベクターにおけるヒト染色体特異的部分分解ライブラリー (Human chromosome-specific partial digest libraries in lambda and cosmid vectors)」Cytogenet. Cell Genet 51: 985 (1985)

40

【0167】

ブラディーク J、ボッフェン C、バルトニツク S (Bullerdiek J, Boschen C, Bartnitzke S) 「混合唾液腺腫瘍における染色体8の異常: 7 症例における細胞遺伝学的知見 (Aberrations of chromosome 8 in mixed salivary gland tumors: cytogenetic findings on seven cases)」Cancer Genet Cytogenet 24: 205 ~ 212 (1987)

【0168】

50

ベルグ G、カツミールツァク B、メーヤー - ボルテ K、バルトニツク S、ブラディーク J (Belge G, Kazmierczak B, Meyer-Bolte K, Bartnitzke S, Bullerdiek J) 「染色体転座 $t(3; 12)$ を伴う SV40 T 抗原の脂肪腫における発現は、直接的不死化には十分ではない (Expression of SV40 T-antigen in lipoma with a chromosomal translocation $t(3; 12)$ is not sufficient for direct immortalization)」Cell Biol Int Rep 16: 339 ~ 347 (1992)

【0169】

ISCN (1995) : 細胞遺伝学に関する国際命名システム (An International System for Cytogenetic Nomenclature)、ミッテルマン F (Mitelman F) 編、(Sカーガー (S Karger)、ベイセル (Basel)、1995)

10

【0170】

キービッツ T、ドウワース J G、ヴィガン J、デウィリー P、ブラウニング M H、コルネリゼ C J、ファン・オメン G J B、ピアソン P L (Kievits T, Dauwerse JG, Wiegant J, Devilee P, Breuning MH, Cornelisse CJ, van Ommen GJB, Pearson PL) 「非放射線 *in situ* ハイブリダイゼーションによるコスミドの急速なサブ染色体転座 (Rapid subchromosomal localization of cosmid by nonradioactive *in situ* hybridisation)」Cytogenet Cell Genet 53: 134 ~ 136 (1990)

【0171】

トラスク B、クリンテンセン M、フェルチッタ A、バーグマン A、アッシュワース L、ブランドスコンプ E、カラーノ A、ファン・デン・エング G (Trask B, Christensen M, Fertitta A, Bergmann A, Ashworth L, Branscomp E, Carrano A, Van den Engh G) 「ヒト染色体 19 の蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション・マッピング：ランダム制限酵素フィンガープリントにより形成されたコスミド・コンティグのマッピングと検証 (Fluorescence *in situ* hybridization mapping of human chromosome 19: Mapping and verification of cosmid contigs formed by random restriction enzyme fingerprinting)」Genomics 14: 162 ~ 167 (1992)

20

【0172】

【表 1】

表 1 : 4 種類の良性原発性甲状腺腫瘍、及び良性甲状腺腫瘍由来の 2 種類の S V
4 0 形質転換細胞株に対する F I S H 検討に用いた各 D N A プローブ (コスミド、
P A C、B A C) の配置。染色体バンド 1 9 q 1 3 に関する異常全てを示す。

腫瘍番号	D N A プローブ	転座	ブレイクポイントに 対する F I S H シグ ナルの位置	
S 1 4 1 . 2 c 2 9 5 7 3 B A C 4 1 3 7 2 B A C 2 8 0 7 2 3 B A C 8 2 9 6 5 1 P A C 1 3 1 7 4	c 1 5 8 4 1	t (2 ; 1 9) (p 1 2 ; q 1 3)	近位 近位 近位 範囲に亘る 遠位 近位	10
S 1 7 2 B A C 4 1 3 7 2 B A C 2 8 0 7 2 3 B A C 8 2 9 6 5 1 P A C 1 3 1 7 4	c 2 9 5 7 3	t (2 ; 1 9) (p 1 2 ; q 1 3)	近位 近位 範囲に亘る 遠位 近位	20
S 4 7 6 . 1 B A C 4 1 3 7 2 B A C 2 8 0 7 2 3 B A C 8 2 9 6 5 1 P A C 1 3 1 7 4	c 2 9 5 7 3	t (5 ; 1 9) (q 1 3 ; q 1 3)	近位 近位 範囲に亘る 遠位 近位	30
S 1 7 2 / S V 4 0 B A C 8 2 9 6 5 1	B A C 2 8 0 7 2 3	t (2 ; 1 9) (q 1 3 ; q 1 3)	範囲に亘る 遠位	
S 2 9 0 . 1 / S V 4 0 c 1 5 8 4 1 B A C 4 1 3 7 2 P A C 1 3 1 7 4 * B A C 8 2 9 6 5 1	c 3 0 3 1 6	t (1 1 ; 1 9) (q 2 3 ; q 1 3)	近位 近位 近位 範囲に亘る 遠位	40
S 5 3 2 . 1	B A C 2 8 0 7 2 3	t (1 4 ; 1 9) (q 2 2 ; q 1 3)	範囲に亘る	

【 0 1 7 3 】

【 表 2 】

表2: 物理的にマッピングされたSTSマーカーのPCRに用いたプライマー

マーカージーンバンク 受託番号	フォワードプライマー リバースプライマー	遺伝子産物 (bp)	
RSTS1G64894	TCCTGGCTCATAATTCCATAACCCCTTGGT GTGCGCCACCTTTTCAGAGTTCTTTTGT	423	
RSTS2G64900	TTATGCCTGATTTCAGTGACACTACTTTTTC CGGCTGCCTCTAACATACGGAAGATTC	397	10
RSTS3G64895	GAGGCTGACGCGGCGGCTCTATCTC AGCGGTTGCGTCACCGGTGCAGAAG	113	
RSTS4AF26053 1	ATATACGTGTATCAGTTTCAGAATGC TATTTTAAAGTCAGACATGAAAAAGG	188	
RSTS5AF26097 0	GGGCCAGGAAAATGCACGGAAGTGAAAG CCCGGGCTTGTGGAATTAAGTGAAGCAG	360	
RSTS6G64896	TTATGTGGGCCCCAAACCATTAAGTGAATCT C	385	
RSTS7G64897	CTCATGCCCCATAAACCCCTAAATTCCTTGT GCCTGCTAAGCCTCTGTGCCTAGTAAAG	189	20
RSTS8G64901	GGTATCAGAAAGGTACAATCCCTATGTCTC CCCAAAGATCCCAAGTCCAGGCAGAAAG	397	
RSTS9G64898	CCTGGGAAGCTCACAAGGGTGGAAGAC GTACATTGGCATCCGCAGGGGTAAC	406	
RSTS10 G6489 9	CCTCTCAAGGCGTGCTTTTTTCGTAAGA AGCCCGCTCGTATCTATGG TGAGGACTACTTGGGCACAGG	301	

【0174】

30

実施例2: ヒトCAT相同遺伝子の特徴付け

甲状腺腫瘍のブレークポイント領域に発生した遺伝子の特徴付ける際に、新規なヒト遺伝子を発見した。この遺伝子は、ノルウェーラットの対応する配列に基づく、CAT遺伝子と相同である。CAT遺伝子はカチオン性アミノ酸の輸送体蛋白質をコードする遺伝子である。本発明者により発見されたこの遺伝子は、本明細書では以下、CAT-AあるいはCAT-A1として示される。CAT-A1はCAT-Aのスプライス変異体であり、この後、更に検証する。

【0175】

CAT-A遺伝子やCAT-A1遺伝子は、ヒト染色体19の正しくq13.4領域内にある。それは、部分的には甲状腺腫瘍のブレークポイント領域にある。CAT-A/A1遺伝子は、BACのCTB-167G5 (BC93504) (ジーンバンク番号AC011487) 内にある。この遺伝子はセントロメアを指向している、即ち、この3'末端はセントロメア側にある。

40

【0176】

CAT-Aの概略位置を図4に示す。

【0177】

現在、CAT-AのmRNAは1437個のヌクレオチドを有するものとされており、配列番号10のcDNAとして表される。CAT-AとCAT-A1はヒトCATファミリーのメンバーより概して実質的に短いということに注目される。

【0178】

50

実施例 3 : C A T - A のゲノム構成

C A T - A とそのスプライス変異体 C A T - A 1 のゲノム構成を図 4 に示す。ヒト D C 2 遺伝子の相同遺伝子のゲノム D N A 配列は従来技術において既に知られているが、本明細書において初めて開示される。このゲノム配列の長さは 5 2 7 8 b p とされている。ここで特筆すべきことは、現在の時点でこの 5 ' 末端は未だ決定されていないことである。しかしながら、本明細書に開示された内容から出発し、更に配列決定を行うことができ、これにより配列を完全なものとするができる。一方、本明細書に記載されている情報から配列を完成させることは可能であり、特に、本明細書に開示された内容に基づきペプチド、蛋白質、抗体、アンチカリン、機能的核酸の各種化合物類を生産あるいは選択することができることは、当業者によって理解されるものである。

10

【 0 1 7 9 】

C A T - A の場合は合計 4 個のエクソンが知られており、エクソンの長さは、エクソン 1 が 3 1 2 b p 、エクソン 2 が 1 6 7 b p 、エクソン 3 が 1 0 8 b p 、エクソン 4 が 8 5 0 b p である。

【 0 1 8 0 】

一方、C A T - A 1 は 5 個のエクソンを有している。これは、エクソン 4 が別のスプライス部位を有しているからである。このため、C A T - A 1 のエクソン 1 から 3 は C A T - A の最初の 3 個のエクソンと同一である。C A T - A 1 の 4 番目のエクソン、即ちエクソン 4 a の長さは 2 0 0 b p しかなく、C A T - A 1 のエクソン 5 は 3 8 1 b p である。

20

【 0 1 8 1 】

C A T - A の m R N A の特徴付け

一般に、C A T - A の m R N A の長さは 1 4 3 7 個のヌクレオチドであるとされている。この場合、一個の開始コドンをもつリーディングフレームが 2 種類存在する。2 種類のリーディングフレームとこれらの翻訳産物を、本明細書では O R F s t a r t 1 及び O R F s t a r t 2 と示す。3 番目のリーディングフレームは、C A T - A に含まれるのと同様、本明細書では O R F 3 と示すが、これは開始コドンを有さず（即ち、まだ配列決定が進んでおらず、これが特有のものとして同定されるに至っていない）、O R F s t a r t 2 を含む。従って、O R F 3 と O R F 2 は同一のリーディングフレームを有する。

【 0 1 8 2 】

C A T - A 1 の m R N A の特徴付け

現在、C A T - A 1 の m R N A は 1 1 6 8 個のヌクレオチドを有するものとされている。これと C A T - A の m R N A とが異なる点は 3 ' 末端が異なることであるが、3 ' 末端はコードしない可能性がある。この配列は、本明細書では配列番号 1 1 として開示される。

30

【 0 1 8 3 】

実施例 4 : C A T ' A の m R N A の各種リーディングフレームの特徴付け

1 . リーディングフレーム O R F s t a r t 1 の特徴付け

各リーディングフレームに存在すると考えられる膜貫通ドメインは、合計 3 種類のソフトウェア・プログラムを用いて決定した。これらのソフトウェア・プログラムは、“ D A S ” 膜貫通 P r e d i c t i o n のもので、これは次の U R L アドレス <http://www.sbc.su.se/~miklos/DAS/> からダウンロードすることができる。この方法は、セルツォ（Cserzo）らによって開発された（Mセルツォ、Eウォリン、Iシモン、Gフォン・ハイン、Aエロフソン（M. Cserzo, E. Wallin, I. Simon, G. von Heijne and A. Elofsson）「原核細胞膜タンパク質における膜貫通アルファ・ヘリックスの予測：デンス・アライメント表面法（Prediction of 膜貫通 alpha-helices in procariotic membrane proteins: Dense A l i g n m e n t S u r f a c e m e t h o d）」Prot. Eng. vol. 10, No. 6、6 7 3 ~ 6 7 6、1 9 9 7）。

40

【 0 1 8 4 】

図 1 2 に示した結果によれば、O R F s t a r t 1 リーディングフレームは 2 種類の膜貫通ドメインを有する。

【 0 1 8 5 】

50

膜貫通ドメインを決定する別の方法は、所謂HMMTOPサーバーにより提供される。HMMTOPは、膜貫通ヘリックスや蛋白質のトポロジを予測するための自動サーバーであり、酵素学研究所 (Institute of Enzymology) のG. E. チュズナディ (G. E. Tusnady) により開発された。このURLアドレスは、<http://www.enzim.hu/hmmtop/index.html> である。この方法は、チュズナディ G. E. (Tusnady, G. E.) ら (G. E. チュズナディとIシモン (G. E. Tusnady and I. Simon) (1998) 「膜内在性蛋白質のアミノ酸組成を統御する原則：トポロジ予測への適用 (Principles Governing Amino Acid Composition of Integral Membrane proteins: Applications to Topology Prediction)」J. Mol. Biol., 283, 489~506) に記載されている。

【0186】

リーディングフレームORFstart1に関してHMMTOPサーバーを用いて検討した結果は次のようにまとめることができる。ここで2種類の膜貫通ヘリックスが72~88と95~112の位置にあることも同定された。また、このN末端は外側に配置される、即ち細胞外にある。

【0187】

膜貫通領域を予測する別の方法は、所謂TMpredプログラムである。このアルゴリズムは、TMbase (即ち、天然膜貫通蛋白質のデータベース) の統計的分析に基づくものである。予測は、複数の加重マトリックスの組合せを用いて行う。このURLアドレスは、www.ch.embnet.org/software/TMPRED_form.html である。この方法は、ホフマン (Hofmann) ら (KホフマンとWストッフエル (K. Hofmann & W. Stoffel) (1993) 「TMbase - 細胞膜に亘る蛋白質セグメントのデータベース (TMbase - A database of membrane spanning protein segments)」Biol. Chem. Hoppe-Seyler 374, 166) にも記載されている。

【0188】

TMpredを用いて得た結果から、2種類のモデルが検討される。これらは、膜貫通ヘリックスの数が異なる。この内の1種類は明らかに好ましいモデルであるが、このモデルにおいては、N末端が細胞内に位置すると共に3種類の強力な膜貫通ヘリックスを含む。位置1~21における配向は内側から外側であり、位置66~87のアミノ酸における配向は外側から内側であり、アミノ酸95~114における配向は内側から外側である。

【0189】

この別法として提案されている他方のモデルは、2種類の強力な膜貫通ヘリックスを有する。第一のヘリックスは、位置8~30のアミノ酸を含み、配向は外側から内側である。第二のヘリックスは、位置95~114のアミノ酸を含み、配向は内側から外側である。

【0190】

2. リーディングフレームORFstart2の特徴付け

本明細書においては、このリーディングフレームにコードされるアミノ酸配列を配列番号14で示す。

【0191】

前述した、膜貫通ヘリックスを決定する3種類のソフトウェア・プログラムを用いて、リーディングフレームORFstart2の特徴付けを行った結果を次に示す。

【0192】

3種類の膜貫通ヘリックスを、“DAS”膜貫通蛋白質プログラムを用いて決定した。この場合、N末端は細胞内に置かれる。このリーディングフレームのアミノ酸配列の長さは、アミノ酸119個分である。

【0193】

DASプログラムを用いて実施した分析の結果を図13に示す。

【0194】

HMMTOPサーバーを同様に用いてリーディングフレームORFstart2をより詳細に解析した結果、3種類の膜貫通ヘリックスがアミノ酸38~57、70~89及び98~117に存在することが確認された。

10

20

30

40

50

【0195】

また、考えられる2種類のモデルを、TMpred法を用いて検討した。非常に好ましいモデルにおいては、3種類の強力な膜貫通ヘリックスが確認された。アミノ酸位置38～57のヘリックスは内側から外側に向かう配向性で延びており、アミノ酸位置69～90のヘリックスは外側から内側に向かう配向性で延びており、アミノ酸位置99～119のヘリックスは内側から外側に向かう配向性で延びている。

【0196】

他方のモデルも同様に、強力な3種類の膜貫通ヘリックスを含み、ヘリックスの形成については、位置38～58のアミノ酸は外側から内側に向かう配向性を有する膜貫通ヘリックスとなっており、位置72～90のアミノ酸は内側から外側に向かう配向性を有する膜貫通ヘリックスとなっており、位置100～118のアミノ酸は外側から内側に向かう配向性を有する膜貫通ヘリックスとなっている。

10

【0197】

3. リーディングフレームORF3の特徴付け

本明細書においては、このリーディングフレームによりコードされる蛋白質を配列番号15に開示する。この蛋白質は合計140個のアミノ酸を含む。このリーディングフレームは、3メンバー（カチオン性アミノ酸輸送体、Y⁺）系を含む溶質キャリア・ファミリー7のアミノ酸1～130に対し34%の相同性を有する。これは、ジーンバンクに受託番号AAL37184でエントリーされている。

【0198】

これとは別に、ノルウェーラットのエクトロピック・レトロウィルス受容体のアミノ酸107～130に対する相同性も有する。ここでは62%の相同性が見られる。この配列のジーンバンクエントリーはBAB83893である。

20

【0199】

このリーディングフレームをDAS法を用いて特徴付けしたところ、合計3種類の膜貫通ドメインが存在することが確認された。この解析結果を図14に示す。更に、HMMTOPプログラムを用いて解析したところ、3種類の膜貫通ヘリックスがアミノ酸59～78、91～110及び119～138に形成されていることが確認された。

【0200】

最終的に行ったTMpredを用いた解析においてもまた、2種類のモデルに基づく3種類の強力な膜貫通ヘリックスを得た。好ましいモデルでは、位置79～80のアミノ酸により内側から外側への配向性を有するヘリックスが、位置90～110のアミノ酸により外側から内側への配向性を有するヘリックスが、位置120～140のアミノ酸により内側から外側への配向性を有するヘリックスが形成されている。

30

【0201】

他方のモデルにおいても同様に、3種類の強力な膜貫通ヘリックスが存在し、位置59～79のアミノ酸により外側から内側への配向性を有するヘリックスが、位置93～111のアミノ酸により内側から外側への配向性を有するヘリックスが、位置121～139のアミノ酸により外側から内側への配向性を有するヘリックスが形成されている。

【0202】

本発明に関して、特に、本発明の配列の翻訳産物や本発明に係るポリペプチドの翻訳産物、例えば配列番号13～15の配列の翻訳産物等の各種翻訳産物を用いる場合、これらはターゲット分子として機能することができる。この場合、膜貫通蛋白質が関与していることが特に注目される。このことは、本明細書に記載した各種化合物クラスの分子の開発、即ち、ペプチドや蛋白質、抗体、アンチカリン、機能的核酸の分子だけでなく、小分子の分子の開発においても重要である。膜貫通ドメインの前述の説明からわかるように、これらターゲット分子の一部が細胞外に配置されている限り、これらの配列の各部分に対するアクセスが特に容易であるためである。

40

【0203】

実施例5：甲状腺癌細胞におけるPKCGの過剰発現

50

半定量的PCRとノーザンブロット分析を用いて、甲状腺癌細胞におけるPKCGの過剰発現の程度を調べた。

【0204】

甲状腺未分化癌S227、甲状腺腺腫細胞株S40.2、正常な甲状腺組織、細胞株Hela、乳癌細胞株MCF-7及び細胞株EFM-19のcDNAに対して半定量的RT-PCRを行った。

【0205】

HPKCGup1 (5' - c c t t g c c c c t c t c c t g c c c a c c t c - 3')
及びHPKCGlo2 (5' - g g g a c g g c t g t a g a g g c t g t a t g g a g
t t c a g a a g - 3') をプライマーとして用いた。これらは、mRNAレベルの20
91bpのPKC?オープンリーディングフレームを含み、2424bpの断片を増幅する
プライマーである。

【0206】

PKC?遺伝子のRT-PCRを比較するために、前述の組織のcDNAに対するRT-PCRも平行して行った。用いたプライマーは、GAPDHプライマーのGAPDH2 (5' g t g a a g g t c g g a g t c a a c g - 3') とGAPDH3 (5' - g g t g a a g a c g c c c a g t g g a c t c - 3') である。これらは、299bpの産物を増幅するプライマーである。アタッチメント(アタッチメントあたり合計50μL)は、cDNA (2μL)、10×PCR緩衝液 (5μL)、各プライマー (1μL)、2mM dNTP混合物 (1μL)、15mM MgCl₂ (1.5μL)、Taqポリメラーゼ (0.5μL)、2回蒸留した水 (38μL) を含むものであった。

【0207】

RT-PCRは、前記2セットのプライマー(HPCKGup1/1o2とGAPDH2/3)に対して、アニーリング温度(HPCKGup1/1o2は68、GAPDH2/3は52、2セットとも30秒)以外は同じ条件で行った。変性は95 (30秒)、伸長は72 (45秒)であった。これらのステップを合計35回繰り返した。開始前に変性を1回(95、3分)、終了時に更に伸長(72、10分)を行った。

RT-PCRにおける検出は、ゲル電気泳動により行った。

【0208】

ノーザンブロット解析は次のように行った。

【0209】

このORFを含む2.4kbのPKCG特異的断片を分子プローブとして使用した。³
²Pによる放射線標識を「ランダムプライマー伸長」法を用いて実施した。この細胞膜をExpressHybTMハイブリダイズ溶液(クロンテック・ラボラトリーズ、パロ・アルト、米国)中68で30分間プレハイブリダイズさせた後、この細胞膜をExpressHybTMハイブリダイズ溶液中68で60分間、100ngのプローブとハイブリダイズさせた。次に、この細胞膜に対し、2×SSC/0.05%SDS中、室温、20分間の洗浄を2回、0.1×SSC/0.1%SDS中、50、10分間の洗浄を4回行った。

【0210】

シグナルは、STORM Phosphorimager (モレキュラー・ダイナミクス (Molecular Dynamics)、サニーベール、米国)で検出した。

【0211】

ノーザンブロット解析の結果を図9に、半定量的PCRの結果を図10に示す。

【0212】

ヒトPKCG遺伝子は、甲状腺腫瘍のブレークポイント領域から約150kbの位置にある。PKCG遺伝子の調節要因は、ブレークポイント領域内における再構成により影響される。これらの領域に対して、PKCGは、甲状腺機能障害及び/又は甲状腺過形成及び/又は甲状腺腫瘍に関連するターゲット分子である。PKCG遺伝子の相対位置を図8に示す。ノーザンブロット解析からわかるように、PKCGは甲状腺癌細胞において過剰発

10

20

30

40

50

現している。検出は、ハイブリダイゼーション目的で用いた P K C G 特異的プローブを用いて行った。ここにおけるハイブリダイゼーションの条件は、一般にも具体的にこの実施例に記載した条件に対応する。

【0213】

甲状腺癌を、染色体 19 に何らかの変化がある細胞株に導入し、この実施例に記載した検討の対象とした。

【0214】

ノーザンブロット解析に関連して既に記載されている結果を、半定量的 P C R を用いて更に確認した。甲状腺癌細胞における発現を、P K C G 特異的プライマーを用いた半定量的 R T - P C R により測定した。図 10 に示すアガロースゲルには、次のものがプロットされている。レーン 1 : マーカー (M a r k e r I I I (ロ シ ュ) 、 H i n d I I I - E c o R I で切断された - D N A) 、レーン 2 : 甲状腺未分化癌細胞株 S 2 7 7 、レーン 3 : 甲状腺腺腫細胞株 S 4 0 . 2 、レーン 4 : 正常な甲状腺組織、レーン 5 : H e l a 細胞、即ち乳癌 (m a m m a r y c a r c i n o m a) 、レーン 6 : M C F 7 細胞株 (A T C C 番号 H T B - 2 2 、同腺腫) 、レーン 7 : E F M 1 9 細胞株、ヒト乳癌 (b r e a s t c a n c e r) 細胞株 (D S M Z 番号 A C C 2 3 1) 、レーン 8 : 陰性対照、レーン 9 : 陽性対照 (c D N A が単離されていることを確認するために G A P 脱水素酵素を検出) 。

10

【0215】

図 10 に示されているように、甲状腺未分化癌 S 2 7 7 の場合は、P K C G 遺伝子 (この場合は 2 4 4 2 k b の長さを有する) の発現を検出できた。P K C H 遺伝子活性は、M C F 7 細胞株においても検出できた。図 10 において各バンドを矢印で示す。

20

【0216】

上の記載、配列プロトコル及び請求の範囲に開示した本発明の各特徴は、個別にも、組み合わせても、本発明の各種実施形態において本発明を実施するために重要となる。請求の範囲に開示した内容を、本明細書の一部を構成するものとしてここに援用する。

【図面の簡単な説明】

【0217】

【図 1】 (a) G バンド法により染色した後の、t (2 ; 1 9) (p 1 2 ; q 1 3) を有する細胞株 S 1 4 1 . 2 のメタフェーズ期染色体。染色体 19、(1 9) 及び (2) を矢印で示す。(b) は、B A C クローン 2 8 0 7 2 3 との F I S H 後の同一のメタフェーズ期染色体 (ハイブリダイゼーションシグナルは染色体 19、(1 9) 及び (2) に局在化している) 。

30

【図 2】 1 9 q 1 3 異常を有する良性甲状腺腫瘍のブレイクポイントクラスター領域の概略ダイアグラム。トライアルでテストした 6 種類の腫瘍の F I S H マッピングデータは、R I T A の約 1 5 0 k b p 3 ' マップの領域における 1 9 q 1 3 転座を有する良性甲状腺腫瘍のブレイクポイントを示す。コスミドクローン、B A C クローン及び P A C クローンは、ローレンス・リバモア国立研究所 (L a w r e n c e L i v e r m o r e N a t i o n a l L a b o r a t o r y) で同定された染色体 19 の染色体地図と一致する。丸で囲んだ数字は、新たに確認された S T S マーカー R S T S 1 ~ R S T S 1 0 を示す (比較のため、表 2 を参照) 。

【図 3】 甲状腺腺腫細胞株 S 1 2 1 / S V 4 0 と繊維芽細胞から単離された R N A を、エクソン 1 からエクソン 5 の 1 0 9 2 b p の c D N A プローブを用いてノーザンブロットハイブリダイゼーションさせた結果を示す。5 . 5 k b と 6 . 2 k b の転写部位が繊維芽細胞と腺腫細胞株に確認された。

40

【図 4】 C A T - A 遺伝子のゲノム位置を示す。

【図 5】 C A T - A のゲノム構成を示す。

【図 6】 C A T - A の m R N A の構成を示すスケッチである。

【図 7】 各種オープンリーディングフレーム、及び本明細書において O R F s t a r t 1 、O R F s t a r t 2 及び O R F 3 として示されている、考えられるアミノ酸配列を有するオープンリーディングフレームを示す。

【図 8】 P K C G 遺伝子の位置を示す。

50

【図 9】甲状腺癌細胞と甲状腺の正常組織における P K C G を検出するためのノーザンブロットである。

【図 10】P K C G 遺伝子の半定量的 R T - P C R の結果である。

【図 11】C A T - A 又は C A T - A 1、D C - 2 相同体及びプロテインキナーゼ C に関連して、本明細書で初めて記載された各種遺伝子配列あるいは遺伝子部分配列のダイアグラムである。

【図 12】D A S プログラムを用いて O R F s t a r t 1 の遺伝子産物の膜貫通ドメイン解析を行った結果を示す。

【図 13】D A S プログラムを用いて O R F s t a r t 2 の遺伝子産物の膜貫通ドメイン解析を行った結果を示す。

【図 14】D A S プログラムを用いて O R F 3 の遺伝子産物の膜貫通ドメイン解析を行った結果を示す。

【図 15】C A T - A の c D N A を示す。

【図 16】C A T - A - c D N A の O R F s t a r t 1 の蛋白質、即ちアミノ酸配列を示す。

【図 17】C A T - A - c D N A の O R F s t a r t 2 の蛋白質、即ちアミノ酸配列を示す。

【図 18】C A T - A - c D N A の O R F 3 の蛋白質、即ちアミノ酸配列を示す。

【図 19】C A T - A 1 の c D N A を示す。

【図 20】より広範囲の配列情報を含む、C A T - A あるいは C A T - A 1 のゲノム構成、即ち配列を示す。 20

【図 21】より広範囲の配列情報を含む、C A T - A の c D N A を示す。

【図 22】本発明に係る D C 2 相同体遺伝子のゲノム配列を示す。

【図 23】より広範囲の配列情報を含む、本発明に係る D C 2 相同体遺伝子のゲノム配列を示す。

【図 24】より広範囲の配列情報を含む、D C 2 相同体遺伝子の c D N A を示す。

【図 25】より広範囲の配列情報を含む、P K C G の c D N A を示す。

【図 26】より広範囲の配列情報を含む、P K C G のゲノム配列を示す。

【 図 2 】

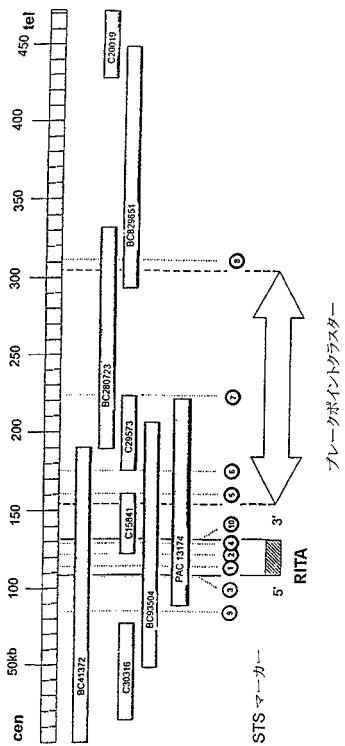


図2 (Fig. 2)

【 図 3 】

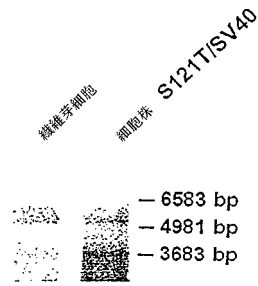


図3 (Fig. 3)

【 図 4 】

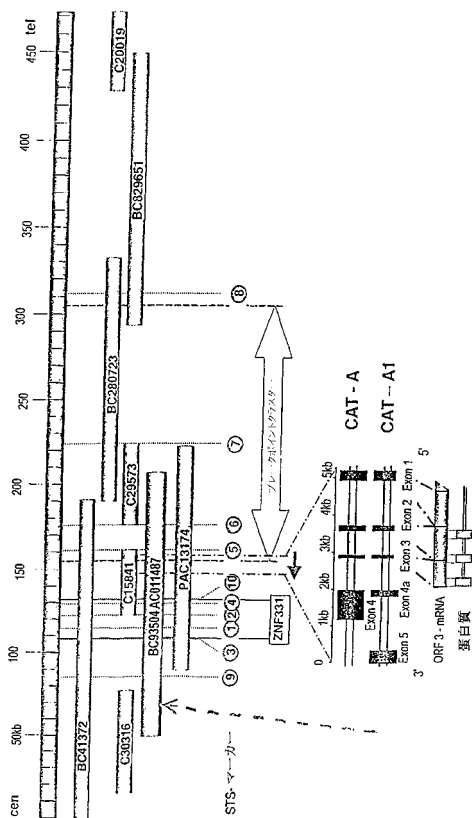


図4 (Fig. 4)

【 図 8 】

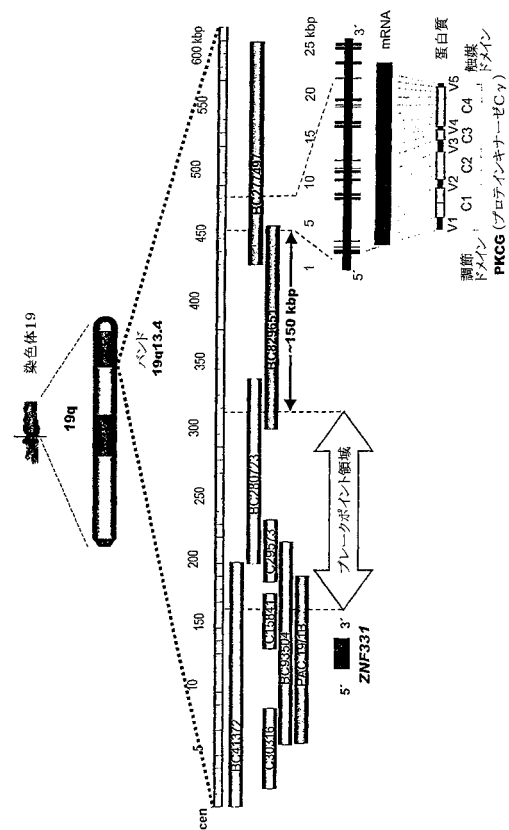


図8 (Fig. 8)

【 図 1 1 】

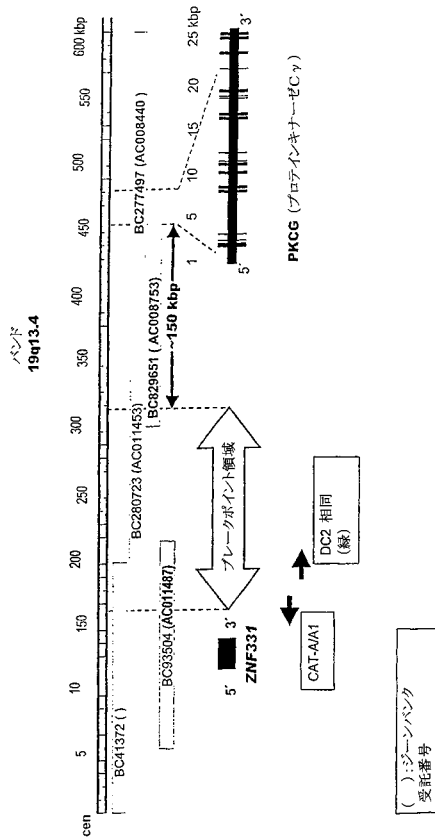


図11(Fig. 11)

【 図 1 2 】

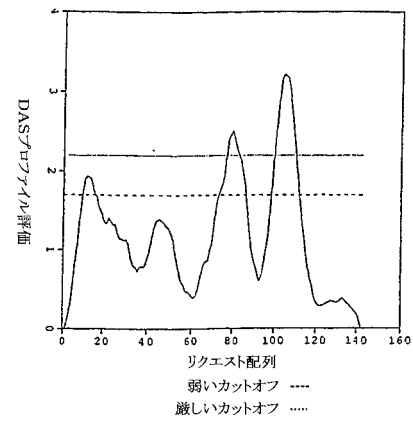


図12(Fig. 12)

【 図 1 3 】

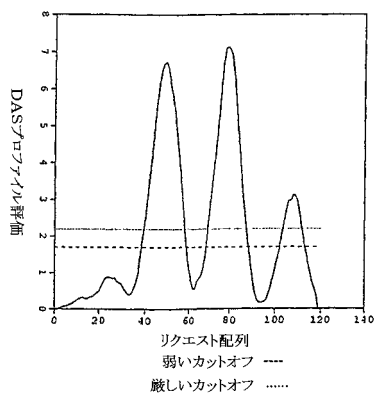


図13(Fig. 13)

【 図 1 4 】

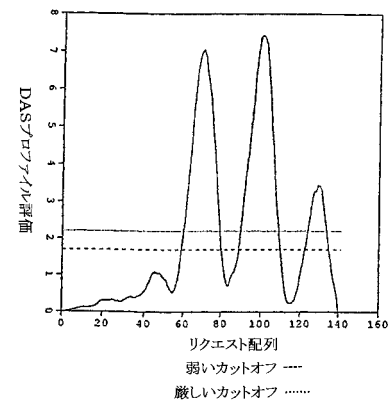


図14(Fig. 14)

【 ㄟ 2 3 】

特徴 (CHARAKTERISTIKA)	位置 / 記号 (Lokalisierung/Bezeichnung)
Exon	1..288 /特徴 (Merkmal) ="Exon 3" 相補的 (komplementär) (1..288) /特徴 (Merkmal) ="XM_034710-mRNA-782-1070 - 本編部分配列 (entteill.seq) (1>288) に対し相補" 621..863
Div_Charakteristikum	/特徴 (Merkmal) ="exon 2" 相補的 (komplementär) (621..863) /特徴 (Merkmal) ="XM_034710-mRNA-539-782- 部分配列 (teil.seq) (1>244) に対し相補" 1183..1666
Exon	/特徴 (Merkmal) ="Exon 1" 相補的 (komplementär) (1183..1666) /特徴 (Merkmal) ="XM_034710-mRNA-37-538- 部分配列 (teil.seq) (1>502) に対し相補"
Div_Charakteristikum	
塩基数 (BASEN ANZAHL)	426 a 403 c 350 g 507 t

[illegible]

图21-1 (Fig. 21 Teil 1)

【 ㊦ 2 5 - 1 】

特徴 (CHARACTERISTIKA)	位置/範囲 (Lokalisierung/Bezeichnung)
Exon	2118..2524 /特徴 (Merkmal) = "Exon 18"
	1976..2117 /特徴 (Merkmal) = "Exon 17"
Exon	1867..1975 /特徴 (Merkmal) = "Exon 16"
Exon	1785..1866 /特徴 (Merkmal) = "Exon 15"
Exon	1545..1784 /特徴 (Merkmal) = "Exon 14"
Exon	1581..1644 /特徴 (Merkmal) = "Exon 13"
Exon	1488..1560 /特徴 (Merkmal) = "Exon 12"
Exon	1298..1487 /特徴 (Merkmal) = "Exon 11"
Exon	1144..1297 /特徴 (Merkmal) = "Exon 10"
Exon	1113..1143 /特徴 (Merkmal) = "Exon 9"
Exon	1024..1112 /特徴 (Merkmal) = "Exon 8"
Exon	888..1023 /特徴 (Merkmal) = "Exon 7"
Exon	730..887 /特徴 (Merkmal) = "Exon 6"
Exon	597..729 /特徴 (Merkmal) = "Exon 5"
Exon	484..596 /特徴 (Merkmal) = "Exon 4"
Exon	400..483 /特徴 (Merkmal) = "Exon 3"
Exon	367..399 /特徴 (Merkmal) = "Exon 2"
Exon	1..366 /特徴 (Merkmal) = "Exon 1"
塩基数 (BASEN ANZAHL)	475 a 814 c 729 q 506 t

GAAGCCGGAATAGGCGCTCTGCTCCACACATAGGAGATCTTGACCGGTCCGCTTCTTAGCGCTTGAATGTCT
CAACCTAGAGCTGAGGAGAGCGCCCTCGTSGCTACACACCGTGTGGCATATGCTATGCTGTGGTGGTGTGCTC
TTACTCTCTACACAGAGGAATCGTTTATGATGTTCAGGTGTGAACCGCAGGTGTGGCTCTATGACTGATGA
ACAAGSCATCAGAGGAGGATGACTGTTTCTGCTACAGATGAGTGTGAATGTCATTTATGAGAGAACTTGAT
CCAGCTCTCTGTTCATACATGGGAGAGTTAGGTTTCAATATCCGAGCCGATGAGACCAATATCTCCCAAA
CTGTATGAGATCTCTCTCTATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATG
GATG
ATCATGAAATGTTTAAAGAGCTCTCCAACTCTCAATATGAGATGTAGAAAGAGAGGAAGCAGCAGTAAAGA
ATATCTATGAGAAAACAGGAGATGATTTGAAGCTGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGAT
ACAGAAATTTCTCTCTCTGCTGACCCATCTGATATCCAATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATG
AGAGATTTCTCTGACTACTCACTATCTAGCAAAATATGATGATGATTTTACACACCGCTTACAGCTTTTG
GAGTGACATCTTGACATCTCAGAAATATGACATATAATATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGAT
GATG
GATG

[illegible]

图25-1 (Fig. 25 Teil 1)

【 図 26 - 1 】

特徴 (CHARAKTERISTIKA)		位置 / 記号 (Lokalisierung/Bezeichnung)	
原料 (Quelle)		補綴物 (Komplementär) (1..24801)	
		/ 生物 (Organismus) = "Homo sapiens"	
		/ db_xref = "taxon:9606"	
		/ 染色体 (Chromosome) = "19"	
		/ クローン (Klon) = "CTC-331H23"	
Exon	24395..24801	/ 特徴 (Merkmal) = "Exon 18"	
Exon	24005..24146	/ 特徴 (Merkmal) = "Exon 17"	
Exon	22324..22432	/ 特徴 (Merkmal) = "Exon 16"	
Exon	20762..20843	/ 特徴 (Merkmal) = "Exon 15"	
Exon	18300..18439	/ 特徴 (Merkmal) = "Exon 14"	
Exon	18108..18171	/ 特徴 (Merkmal) = "Exon 13"	
Exon	17922..18014	/ 特徴 (Merkmal) = "Exon 12"	
Exon	16128..16317	/ 特徴 (Merkmal) = "Exon 11"	
Exon	15647..15800	/ 特徴 (Merkmal) = "Exon 10"	
Exon	11054..11084	/ 特徴 (Merkmal) = "Exon 9"	
Exon	10680..10768	/ 特徴 (Merkmal) = "Exon 8"	
Exon	10201..10336	/ 特徴 (Merkmal) = "Exon 7"	
Exon	9368..9525	/ 特徴 (Merkmal) = "Exon 6"	
Exon	7580..7712	/ 特徴 (Merkmal) = "Exon 5"	
Exon	7332..7444	/ 特徴 (Merkmal) = "Exon 4"	
Exon	1862..1945	/ 特徴 (Merkmal) = "Exon 3"	
Exon	864..896	/ 特徴 (Merkmal) = "Exon 2"	
Exon	1..366	/ 特徴 (Merkmal) = "Exon 1"	
塩基数 (BASEN ANZAHL)	5613 a	6407 c	6621 g 6160 t

GGCGCCGCCGGGCTGCGCTCCCTGCGTGGCGCGCTCCGACCTGGAGGTGCTTGGCCCTCTCTGCGCCACTC
GGAATTCCTCTGGCTCTTTGATCTCTGAGCTCCAGCTCTCTGCGCCCTCTCACTGTTTCCCGCAGAAAG
CAGGATCTGGTCCCTGCTACGTTTCTGGGCGCATGGCTGGTCTGGGCCCGGCTAGGCGATTCAAGAGGGGGA
CCCCGCCCCCTGTTTTCAGAAAGGGGCGCTGAGGCAAGGTTGGTCCAGAACTCAAGAGCCACAAGTTTCAAC
GCTGCTCTTCAAGCAGCCCACTTCTGACGCCACTGACCGGACTTCACTGGTGAGGGAAGGGGGCTGGGGGA
CTGGGGGACGAGGGGACTAGGGGTGCAGACTCTTATCAAGCCGACCCCTGTGGAAGGAGAGAGGGGGCTGT
GTCCGACTCCCAAGTTCTAGGATGGCCAGGAAAGCTGGAGCTTGGACTCTGGGTTTCAAGTGAAGGAGAGGC
TGGTCTCTGGAGTCTGGTCCAGAGGAGAGGGCTGGGAGCAGAGGCTTGGACTCTGGGCTTGGGGAG
GAAAGGCTCTGGGGGCTGGGAGCTGGATCTCTGGTCTGAAAGGAGGAGAACTGGGGGCTGAACTCCAGTCTA
AGGAAAGAGGGCTGGGGGCCAAATTTCTGGGTTCTAGAAAGAGGAGGCTGGCCGGGCTTGGACCTGGGCC
TGCGGAGGAGGGTCAAGAGGCGCAGGCCCTCTGGCTCGCAGAGGTTGGGGTCCAGGTACCCCTTTCTGCAC
TGACCTAGGATCCCTGACTCTTCCAGGGGTATCGGAAAGCAGGGCTTGCATGTCAAGGTAAGAGCTGGGGACCG
GGCTCCTGGGACCTCAAGAGGGTGGAGGCTGGGGCCCCACAGCTGAGGCTGCTTGACACAGTGTCTCTGGT
CCCCAGAGAGGCGCGGGGAGCCCGGGCGGGGGTGTGGCAGAGACACAGCTGTGGTGGGGAGGCTTGA
TGTGGGGCCACCGGAGGTGGTCTGGGGCCCTCCCTCGGCCGCTCAGGTGGGAGAGATTTTGGAGA
ATCTTTGCCATGGGAACATGGAGATTGGAAAGGGGAGCTGAAGGGGGAGGGGGAGGGGCTGGAGATGCA
AAGTCAGAGCCCCCCCCACCCAGGCTGCGCTCCCATGACACACCGCCCTTAGGCAGGGGCAAGGCCGGG

図26 1 (Fig. 26 Teil 1)

【国際公開パンフレット】

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
24. Oktober 2002 (24.10.2002)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 02/083727 A2

(51) Internationale Patentklassifikation: C07K 14/47
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/JP02/04090
(22) Internationales Anmeldedatum: 12. April 2002 (12.04.2002)
(25) Einreichungssprache: Deutsch
(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
(30) Angaben zur Priorität: 101 18 452.2 12. April 2001 (12.04.2001) DE
(71) Anmelder und
(72) Erfinder: BULLERDIEK, Jörn [DE/DE]; In der
Poggenkuhle 23, 28357 Bremen (DE).
(74) Anwalt: BOHMANN, Armin, K.; Bohmann & Loosen,
Sonnenstrasse 8, 80331 München (DE).
(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,
CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE,
GH, GM, GR, GU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR,
KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK,
MN, MW, MX, MY, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU,
SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG,
US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),
eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK,
ES, FI, FR, GB, GR, HU, IL, LU, MC, NL, PT, SE, TR),
OAPI-Patent (BF, BJ, CI, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,
ML, MR, NE, SN, TD, TG).
Veröffentlicht:
ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu
veröffentlichen nach Erhalt des Berichts
Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe
der PCT-Gazette verwiesen.



WO 02/083727 A2

(54) Title: NUCLEIC ACID SEQUENCES OF HYPERPLASIES AND TUMORS OF THE THYROID

(54) Bezeichnung: NUKLEINSÄURESEQUENZEN VON HYPERPLASIEN UND TUMOREN DER SCHILDDRÜSE

(57) Abstract: The invention relates to a nucleic acid that has a modified expression caused by hyperplasies and/or tumors, said nucleic acid comprising a nucleic acid sequence selected from the group including SEQ.ID.No. 1 to 12 and SEQ.ID.No. 16 to 19.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft eine Nukleinsäure mit bei Hyperplasien und/oder Tumoren geänderter Expression, wobei die Nukleinsäure eine Nukleinsäuresequenz umfasst, die ausgewählt ist aus Gruppe, die SEQ.ID.No. 1 bis 12 und SEQ.ID.No. 16-19 umfasst.

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

Nukleinsäuresequenzen von Hyperplasien und Tumoren der Schilddrüse

Beschreibung

Die vorliegende Erfindung betrifft Nukleinsäuren mit bei Hyperplasien und/oder Tumoren geänderter Expression, Nukleinsäuren codierend für die humanen Homologen zu CAT, DC2, hierin im Folgenden auch CAT und DC2 genannt, und PKCgamma und insbesondere Homologen davon, diese enthaltenden Vektoren und Zellen, von diesen codierte Polypeptide, dagegen gerichtete Antikörper, Verfahren zum Bestimmen von als Tumortheraeutika geeigneten Verbindungen, Verfahren zum Bestimmen von Genen, die an der Entstehung von Schilddrüsentumoren beteiligt sind und Verwendungen der besagten Nukleinsäuren.

Die Bedeutung der Schilddrüse infolge ihrer Hormonproduktion für die Kontrolle des Wachstums und der Entwicklung des Körpers ist in der Medizin ebenso wie die mit einer Funktionsstörung dieser Drüse zumindest in einigen Fällen im wahrsten Sinne des Wortes augenfälligen Veränderungen seit langem bekannt.

Hinsichtlich der Pathogenese von Strumen und Schilddrüsentumoren allgemein ist es insbesondere auf molekularer Ebene noch nicht gelungen, eine umfassende Vorstellung zu entwickeln. Derzeit werden zwei Konzepte diskutiert, wobei eines davon ausgeht, dass das hyperplastische Gewebe als infolge chronischer Stimulation durch ein trophisches Hormon, was letztendlich das Wachstum polyklonaler Knoten zur Folge hat, bedingt betrachtet wird. Dieses Konzept wird als nicht-neoplastische endokrine Hyperplasie (NNEH) bezeichnet. Das zweite Konzept geht davon aus, dass die Knoten echte klonale Tumoren darstellen.

Im Falle der Schilddrüse hat sich gezeigt, dass das auf andere Drüsen anwendbare einfache Konzept der nicht-neoplastischen endokrinen Hyperplasie nicht anwendbar ist. Eine Übersicht über die derzeit auf diesem Gebiet angestellten Überlegungen findet sich bei Studer, H. (1995); Endocrine Reviews, Vol. 16, No. 4, Seiten 411-426.

Für die Behandlung von Strumen und Schilddrüsentumoren ist somit eine frühzeitige Diagnose erforderlich, um geeignete therapeutische Konzepte zur Anwendung gelangen zu lassen.

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

2

Der vorliegenden Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, Mittel zur Diagnose und Therapie von Funktionsstörungen der Schilddrüse, Hyperplasien der Schilddrüse und Tumoren der Schilddrüse auf der molekularen Ebene bereitzustellen, insbesondere sollen Nukleinsäuresequenzen bereitgestellt werden, die an den Pathogenitätsmechanismen beteiligt und auch geeignet sind, diese weitergehend zu untersuchen, sowie solche, die auf die Pathogenitätsmechanismen einwirken oder diese beeinflussen können.

Darüber hinaus sollen darauf aufbauende Medikamente sowie allgemein pharmazeutische Zusammensetzungen bereitgestellt werden.

Desweiteren sollen Kits zur Diagnose und/oder Therapie von Funktionsstörungen der Schilddrüse, Hyperplasien der Schilddrüse und Tumoren der Schilddrüse ebenso wie Verfahren zum Nachweisen dieser zur Verfügung gestellt werden.

Erfindungsgemäß wird die Aufgabe gelöst durch den Gegenstand der unabhängigen Ansprüche. Weitere Ausführungsformen ergeben sich aus den Unteransprüchen.

Erfindungsgemäß wird die Aufgabe in einem ersten Aspekt auch gelöst durch eine Nukleinsäure mit bei Hyperplasien und/oder Tumoren geänderter Expression, wobei sie eine Nukleinsäuresequenz umfasst, die ausgewählt ist aus der Gruppe, die SEQ. ID. No. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 16, 17, 18 und 19 umfasst, im folgenden auch als SEQ. ID. No. 1 bis 12 und SEQ. ID. No. 16 – 19 bezeichnet.

In einer Ausführungsform ist vorgesehen, dass der Tumor ausgewählt ist aus der Gruppe, die epitheliale Tumoren mit einer Veränderung der chromosomalen Bande 19q und Tumore mit einer Veränderung der chromosomalen Bande 19q13 umfasst.

In einer weiteren Ausführungsform ist vorgesehen, dass die Hyperplasie ausgewählt ist aus der Gruppe, die Hyperplasien der Schilddrüse umfasst.

In einer noch weiteren Ausführungsform ist vorgesehen, dass SEQ. ID. No. 1, 2, 7, 10, 11 und/oder 12 für ein CAT, insbesondere ein humanes CAT, oder einen Teil davon codiert.

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

3

In einer weiteren Ausführungsform ist vorgesehen, dass SEQ. ID. No. 3, 4, 8, 16 und/oder 17 für ein DC2, insbesondere ein humanes DC2, oder einen Teil davon codiert.

In einer noch weiteren Ausführungsform ist vorgesehen, dass SEQ. ID. No. 5, 6, 9, 18 und/oder 19 für PKCgamma, insbesondere humanes PKCgamma, oder einen Teil davon codiert.

In einem weiteren Aspekt wird die Aufgabe erfindungsgemäß gelöst durch eine Nukleinsäure umfassend eine Nukleinsäuresequenz die ohne die Degeneriertheit des genetischen Codes für die gleiche Aminosäuresequenz codieren würde wie eine der erfindungsgemäßen Nukleinsäure.

In einem weiteren Aspekt wird die Aufgabe erfindungsgemäß gelöst durch eine Nukleinsäure, die an eine oder mit einer der erfindungsgemäßen Nukleinsäuren hybridisiert.

In einem noch weiteren Aspekt wird die Aufgabe gelöst durch einen Vektor, wobei der Vektor zumindest eine der erfindungsgemäßen Nukleinsäuren umfasst.

In einer Ausführungsform ist vorgesehen, dass der Vektor weiterhin mindestens ein Element umfasst, das ausgewählt ist aus der Gruppe, die Promotoren, Terminatoren und Enhancer umfasst.

In einer weiteren Ausführungsform ist vorgesehen, dass der Vektor ein Expressionsvektor ist.

In einer noch weiteren Ausführungsform ist vorgesehen, dass mindestens eine Promotor im Leserahmen mit mindestens einem für ein Polypeptid codierenden Teil einer Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 8 ist.

In einem weiteren Aspekt wird die Aufgabe erfindungsgemäß gelöst durch ein Polypeptid, das codiert durch eine der erfindungsgemäßen Nukleinsäure codiert wird.

In einer Ausführungsform ist vorgesehen, dass das Polypeptid modifiziert ist.

In einem weiteren Aspekt wird die Aufgabe erfindungsgemäß gelöst durch eine Zelle, insbesondere eine isolierte Zelle, die einen erfindungsgemäßen Vektor umfasst.

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

4

In einem weiteren Aspekt wird die Aufgabe erfindungsgemäß gelöst durch einen Antikörper, der gegen ein erfindungsgemäßes Polypeptid gerichtet ist.

In einer Ausführungsform ist vorgesehen, dass der Antikörper gegen eine erfindungsgemäße Nukleinsäure gerichtet ist.

In einem weiteren Aspekt wird die Aufgabe erfindungsgemäß gelöst durch ein Ribozym, das gegen eine erfindungsgemäße Nukleinsäure gerichtet ist.

In einer Ausführungsform ist vorgesehen, dass das Ribozym zumindest einen Teil einer der erfindungsgemäßen Nukleinsäuren umfasst.

In einem weiteren Aspekt wird die Aufgabe erfindungsgemäß gelöst durch eine Anti-sense Nukleinsäure, die komplementär oder identisch zu einer der erfindungsgemäßen Nukleinsäuren ist.

In einem weiteren Aspekt wird die Aufgabe erfindungsgemäß gelöst durch RNAi umfassend eine Sequenz, die komplementär zu oder identisch ist mit einer der erfindungsgemäßen Nukleinsäuren, wobei bevorzugterweise die RNAi einen Bereich mit einer Länge von 21 bis 23 Nukleotiden umfasst, der komplementär oder identisch ist.

In einem weiteren Aspekt wird die Aufgabe erfindungsgemäß gelöst durch ein Verfahren zum Bestimmen einer Verbindung, die die Wirkung eines Translationsproduktes einer Nukleinsäure nach einem der vorangegangenen Ansprüche beeinflusst, insbesondere inhibiert, gekennzeichnet durch die folgenden Schritte:

- Bereitstellen des Translationsproduktes und der Verbindung
- Inkontaktbringen des Translationsproduktes und der Verbindung in einem System, das die Wirkung des Translationsproduktes darstellt, und

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

5

- Bestimmen, ob unter dem Einfluss der Verbindung eine Änderung der Wirkung des Translationsproduktes auftritt.

In einem noch weiteren Aspekt wird die Aufgabe erfindungsgemäß gelöst durch ein Verfahren zum Bestimmen einer Verbindung, die die Wirkung eines Transkriptionsproduktes einer Nukleinsäure nach einem der vorangegangenen Ansprüche beeinflusst, insbesondere inhibiert, gekennzeichnet durch die folgenden Schritte:

- Bereitstellen des Transkriptionsproduktes und der Verbindung
- Inkontaktbringen des Transkriptionsproduktes und der Verbindung in einem System, das die Wirkung des Transkriptionsproduktes darstellt, und
- Bestimmen, ob unter dem Einfluss der Verbindung eine Änderung der Wirkung des Transkriptionsproduktes auftritt.

In einer Ausführungsform der beiden vorstehend genannten erfindungsgemäßen Verfahren ist vorgesehen, dass das System ausgewählt ist aus der Gruppe, die zelluläre Expressionssysteme, zellfreie Expressionssysteme, Assay zur Bestimmung der Wechselwirkung zwischen Verbindung und Translationsprodukte, und Assay zur Bestimmung der Wechselwirkung zwischen Verbindung und Transkriptionsprodukte umfasst.

In einem weiteren Aspekt wird die Aufgabe erfindungsgemäß gelöst durch ein Verfahren zur Bestimmung von Genen, die für die Entstehung von Hyperplasien und Tumoren, insbesondere der Schilddrüse, verantwortlich sind, umfassend die folgenden Schritte:

- Ermitteln der Bruchpunkte bei chromosomalen Translokationen der Hyperplasien und der Tumoren,
- Bestimmen von Genen, die innerhalb eines Bereichs von 400 kbp, bevorzugterweise 150 kbp, in jede Richtung ab dem Bruchpunktbereich liegen, und

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

6

- Bestimmen, ob die Translation/ Transkription des Gens in einer Zelle der Hyperplasie oder des Tumors gegenüber einer nicht-Hyperplasie-Zelle oder einer nicht-Tumor-Zelle verändert ist.

In einem noch weiteren Aspekt wird die Aufgabe erfindungsgemäß gelöst durch die Verwendung einer der erfindungsgemäßen Nukleinsäure und/oder eines erfindungsgemäßen Ribozyms und/oder von einer erfindungsgemäßen Antisense-Nukleinsäure und/oder einer erfindungsgemäßen RNAi zur Diagnose und/oder Therapie von Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Schilddrüsentumoren.

In einem weiteren Aspekt wird die Aufgabe erfindungsgemäß gelöst durch die Verwendung einer der erfindungsgemäßen Nukleinsäure und/oder eines erfindungsgemäßen Ribozyms und/oder von einer erfindungsgemäßen Antisense-Nukleinsäure und/oder einer erfindungsgemäßen RNAi zur Herstellung eines Medikaments, insbesondere zur Therapie und/oder Prävention von Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Schilddrüsentumoren.

In einem weiteren Aspekt wird die Aufgabe erfindungsgemäß gelöst durch die Verwendung eines erfindungsgemäßen Polypeptids zur Diagnose und/oder Therapie von Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Schilddrüsentumoren.

In einem weiteren Aspekt wird die Aufgabe erfindungsgemäß gelöst durch die Verwendung eines erfindungsgemäßen Polypeptids zur Herstellung eines Medikaments, insbesondere zur Therapie und/oder Prävention von Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Schilddrüsentumoren.

In einem weiteren Aspekt wird die Aufgabe erfindungsgemäß gelöst durch die Verwendung eines erfindungsgemäßen Antikörpers zur Diagnose und/oder Therapie von Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Schilddrüsentumoren.

In einem weiteren Aspekt wird die Aufgabe erfindungsgemäß gelöst durch die Verwendung eines erfindungsgemäßen Antikörpers zur Herstellung eines Medikaments.

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

7

In einem noch weiteren Aspekt wird die Aufgabe erfindungsgemäß gelöst durch einen Kit zur Diagnose von Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Schilddrüsentumoren, dadurch gekennzeichnet, dass der Kit mindestens ein Element umfasst, das ausgewählt ist aus der Gruppe, die eine Nukleinsäure, einen Vektor, ein Polypeptid, eine Zelle, einen Antikörper, eine Antisense-Nukleinsäure, RNAi und ein Ribozym, jeweils gemäß der vorliegenden Erfindung, umfasst.

In einem weiteren Aspekt wird die Aufgabe erfindungsgemäß gelöst durch ein Verfahren zum Nachweis von Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Tumoren der Schilddrüse, gekennzeichnet durch die Schritte:

- Kontaktieren von Schilddrüsenmaterial mit dem Agens, das ausgewählt ist aus der Gruppe, die eine Nukleinsäure, einen Vektor, ein Polypeptid, einen Antikörper, eine Antisense-Nukleinsäure, RNAi, ein Ribozym und eine Zelle, jeweils gemäß der vorliegenden Erfindung, umfasst, und
- Bestimmen, ob Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Tumore der Schilddrüse vorliegen.

In einer Ausführungsform ist vorgesehen, dass das Schilddrüsenmaterial ex vivo vorliegt.

In einem weiteren Aspekt wird die Aufgabe erfindungsgemäß gelöst durch die Verwendung einer erfindungsgemäßen Nukleinsäure als Primer und/oder als Sonde.

In einem noch weiteren Aspekt wird die Aufgabe erfindungsgemäß gelöst durch einen Primer zum Darstellen und/oder Screenen und/oder Detektieren einer Nukleinsäure, wobei der Primer oder die Sonde zu einem Teil einer der erfindungsgemäßen Nukleinsäuren komplementär oder mit diesem identisch ist.

In einem weiteren Aspekt wird die Aufgabe erfindungsgemäß gelöst durch ein Verfahren zum Darstellen einer Nukleinsäure, die eine Sequenz umfasst, welche in Schilddrüsentumoren oder Strumen nachgewiesen werden kann, bei denen eine Translokation mit Bruchstelle in der chro-

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

8

mosomalen Bande 19q13 vorliegt, wobei die Sequenz innerhalb der chromosomalen Bande 19q13 liegt, dadurch gekennzeichnet, dass das Verfahren die Schritte umfasst:

- Bereitstellen von zumindest einem der erfindungsgemäßen Primern, zum Durchführen einer Polymerase-Kettenreaktion,
- Bereitstellen einer der Bande 19q13 des humanen Chromosoms 19 entnommenen Nukleinsäuresequenz oder einer der erfindungsgemäßen Nukleinsäure nach einem der,
- Mischen der Nukleinsäuresequenz bzw. der Nukleinsäure mit den Primern,
- Durchführen einer Polymerase-Kettenreaktion.

In einem weiteren Aspekt wird die Aufgabe erfindungsgemäß gelöst durch eine pharmazeutische Zusammensetzung, dadurch gekennzeichnet, dass sie umfasst:

mindestens ein Agens, das ausgewählt ist aus der Gruppe, die eine Nukleinsäure, einen Vektor, ein Polypeptid, eine Zelle, einen Antikörper, eine Antisense-Nukleinsäure, RNAi, ein Ribozym, jeweils gemäß der vorliegenden Erfindung, sowie Kombinationen davon umfasst, und

mindestens einen pharmazeutisch akzeptablen Träger.

In einem noch weiteren Aspekt wird die Aufgabe erfindungsgemäß gelöst durch ein Verfahren zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Tumoren und Hyperplasien, wobei vorgesehen ist, dass eine Verbindung an einen Patienten verabreicht wird, die die Auswirkungen der geänderten Expression einer der erfindungsgemäßen Nukleinsäuren verhindert oder verstärkt.

In einem weiteren Aspekt wird die Aufgabe erfindungsgemäß gelöst durch die Verwendung einer Verbindung, die die Auswirkungen der geänderten Expression der Nukleinsäuren nach einem der vorangegangenen Ansprüche verhindert, zur Herstellung eines Medikamentes.

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

9

In einer Ausführungsform ist vorgesehen, dass das Medikament für die Behandlung und/oder Prophylaxe von Tumoren und/oder Hyperplasien, insbesondere von Tumoren und/oder Hyperplasien der Schilddrüse ist.

In einem weiteren Aspekt wird die Aufgabe erfindungsgemäß gelöst durch die Verwendung einer Nukleinsäure mit einer Sequenz, wobei die Sequenz ausgewählt ist aus der Gruppe, die SEQ. ID. No. 1 – 12 und SEQ. ID. No. 16 – 19 umfasst, oder Derivate davon und/oder davon codierte Polypeptide oder Derivate davon zur Herstellung eines Medikaments, insbesondere zur Behandlung von Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Schilddrüsentumoren und/oder zur Herstellung eines diagnostischen Mittels, insbesondere für die Diagnose von Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Schilddrüsentumoren.

In einer Ausführungsform ist vorgesehen, dass das Polypeptid eine Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID No. 13, SEQ ID No. 14 und/oder SEQ. ID No. 15 aufweist.

In einer weiteren Ausführungsform ist vorgesehen, dass die Nukleinsäure mit der Nukleinsäure gemäß einer der Sequenzen SEQ ID No. 1 – 12 und/oder SEQ ID No. 16 – 19 ohne die Degeneriertheit des genetischen Codes hybridisieren würde.

In einem weiteren Aspekt wird die Aufgabe erfindungsgemäß gelöst durch die Verwendung eines Polypeptids mit einer Sequenz, wobei die Sequenz ausgewählt ist aus der Gruppe, die SEQ. ID. No. 13 – 15 umfasst, oder Derivate davon zur Herstellung eines Medikaments, insbesondere zur Behandlung von Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Schilddrüsentumoren und/oder zur Herstellung eines diagnostischen Mittels, insbesondere für die Diagnose von Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Schilddrüsentumoren.

In einem weiteren Aspekt wird die Aufgabe erfindungsgemäß gelöst durch ein Verfahren zum Screenen eines Mittels zur Behandlung von Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Schilddrüsentumoren und/oder eines diagnostischen Mittels für die Diagnose von Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Schilddrüsentumoren, umfassend die Schritte:

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

10

- a) Bereitstellen einer Kandidaten-Verbindung,
- b) Bereitstellen eines Expressionssystems und/oder Aktivitätssystems;
- c) Inkontaktbringen der Kandidaten-Verbindung mit dem Expressionssystem und/oder dem Aktivitätssystem;
- d) Bestimmen, ob unter dem Einfluss der Kandidaten-Verbindung die Expression und/oder die Aktivität einer Nukleinsäure mit einer Sequenz, wobei die Sequenz ausgewählt ist aus der Gruppe, die SEQ. ID. No. 1 – 12 und SEQ. ID. No. 16 - 19 umfasst, oder Derivate davon und/oder davon codierte Polypeptide und/oder Polypeptide mit einer Sequenz gemäß SEQ. ID. No. 13 - 15 oder Derivate davon verändert wird.

In einer Ausführungsform ist vorgesehen, dass die Kandidaten-Verbindung in einer Verbindungsbibliothek enthalten ist.

In einer weiteren Ausführungsform ist vorgesehen, dass die Kandidaten-Verbindung ausgewählt ist aus der Gruppe von Verbindungsklassen, die Peptide, Proteine, Antikörper, Anticaline, funktionale Nukleinsäuren und kleine Moleküle umfasst.

In einer noch weiteren Ausführungsform ist vorgesehen, dass die funktionalen Nukleinsäuren ausgewählt sind aus der Gruppe, die Aptamere, Aptazyme, Ribozyme, Spiegelmere, Antisense-Oligonukleotide und RNAi umfasst.

In einem weiteren Aspekt wird die Aufgabe erfindungsgemäß gelöst durch die Verwendung einer Nukleinsäure mit einer Sequenz, wobei die Sequenz ausgewählt ist aus der Gruppe, die SEQ. ID. No. 1 – 12 und SEQ. ID. No. 16 - 19 umfasst, oder Derivate davon und/oder davon codierte Polypeptide oder Derivate davon und/oder eines Polypeptids mit einer Sequenz gemäß SEQ. ID. No. 13 – 15 oder eines Derivates davon und/oder eines insbesondere natürlichen Wechselwirkungspartners einer Nukleinsäure mit einer Sequenz, wobei die Sequenz ausgewählt ist aus der Gruppe, die SEQ. ID. No. 1 – 12 und SEQ. ID. No. 16 - 19 umfasst, oder Derivate davon und/oder davon codierte Polypeptide oder Derivate davon und/oder einer dafür codierenden Nukleinsäure und/oder der Wechselwirkungspartner eines Polypeptids mit einer Sequenz gemäß SEQ. ID. No. 13 – 15 oder eines Derivates davon als Zielmolekül für die Entwicklung und/oder

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

11

Herstellung eines diagnostischen Mittels zur Diagnose von Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Schilddrüsentumoren, und/oder für die Entwicklung und/oder Herstellung eines Medikaments zur Prävention und/oder Behandlung von Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Schilddrüsentumoren.

In einer Ausführungsform ist vorgesehen, dass das Medikament oder das diagnostische Mittel ein Agens umfasst, das ausgewählt ist aus der Gruppe, die Antikörper, Peptide, Anticaline, kleine Moleküle, Antisense-Moleküle, Aptamere, Spiegelmerne und RNAi-Moleküle umfasst.

In einer Ausführungsform ist vorgesehen, dass das Agens mit einem Polypeptid mit einer Sequenz gemäß SEQ. ID. No. 13 – 15 oder einem Derivat davon oder einem Wechselwirkungspartner davon in Wechselwirkung tritt.

In einer insbesondere alternativen Ausführungsform ist vorgesehen, dass das Agens mit einer Nukleinsäure mit einer Sequenz in Wechselwirkung tritt, wobei die Sequenz ausgewählt ist aus der Gruppe, die SEQ. ID. No. 1 – 12 und SEQ. ID. No. 16 - 19 umfasst, oder Derivate davon und/oder mit einer für einen insbesondere natürlichen Wechselwirkungspartner codierenden Nukleinsäure, insbesondere mit mRNA, genomischer Nukleinsäure oder cDNA in Wechselwirkung tritt.

In einem weiteren Aspekt wird die Aufgabe erfindungsgemäß gelöst durch die Verwendung eines Polypeptids, das mit einem Peptid in Wechselwirkung tritt, das von einer Nukleinsäure mit einer Sequenz codiert wird, wobei die Sequenz ausgewählt ist aus der Gruppe, die SEQ. ID. No. 1 – 12 und SEQ. ID. No. 16 - 19 umfasst, oder Derivate davon und/oder einem Polypeptid gemäß SEQ. ID. No. 13 – 15 und/oder mit einem insbesondere natürlichen Wechselwirkungspartner davon in Wechselwirkung tritt zur Entwicklung oder Herstellung eines diagnostischen Mittels zur Diagnose von Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Schilddrüsentumoren, und/oder zur Entwicklung oder Herstellung eines Medikaments zur Prävention und/oder Behandlung von Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Schilddrüsentumoren.

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

12

In einer Ausführungsform ist vorgesehen, dass das Polypeptid ausgewählt ist aus der Gruppe, die Antikörper und bindende Polypeptide umfasst.

In einem weiteren Aspekt wird die Aufgabe erfindungsgemäß gelöst durch die Verwendung einer Nukleinsäure, die mit einem Polypeptid in Wechselwirkung tritt, wobei das Polypeptid von einer Nukleinsäure mit einer Sequenz codiert, wobei die Sequenz ausgewählt ist aus der Gruppe, die SEQ. ID. No. 1 – 12 und SEQ. ID. No. 16 - 19 umfasst, oder Derivate davon und/oder einem Polypeptid gemäß SEQ. ID. No. 13 – 15 und/oder mit einem insbesondere natürlichen Wechselwirkungspartner davon zur Entwicklung oder Herstellung eines diagnostischen Mittels zur Diagnose von Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Schilddrüsentumoren, und/oder zur Entwicklung oder Herstellung eines Medikaments zur Prävention und/oder Behandlung von Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Schilddrüsentumoren.

In einer Ausführungsform ist vorgesehen, dass die Nukleinsäure ausgewählt ist aus der Gruppe, die Aptamere und Spiegelmere umfasst.

In einem weiteren Aspekt wird die Aufgabe erfindungsgemäß gelöst durch die Verwendung einer ersten Nukleinsäure, die mit einer zweiten Nukleinsäure in Wechselwirkung tritt, wobei die zweite Nukleinsäure eine Sequenz aufweist, wobei die Sequenz ausgewählt ist aus der Gruppe, die SEQ. ID. No. 1 – 12 und SEQ. ID. No. 16 - 19 umfasst, oder Derivate davon und/oder mit einer Nukleinsäure in Wechselwirkung tritt, die für einen Wechselwirkungspartner eines Polypeptids mit einer Sequenz gemäß SEQ. ID. No. 13, 14 oder 15 codiert, zur Entwicklung oder Herstellung eines Medikaments zur Prävention und/oder Behandlung von Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Schilddrüsentumoren.

In einer Ausführungsform ist vorgesehen, dass die in Wechselwirkung tretende erste Nukleinsäure ein Antisense-Oligonukleotid, ein Ribozym und/oder RNAi ist.

In einer weiteren Ausführungsform ist vorgesehen, dass die zweite Nukleinsäure die jeweilige cDNA oder mRNA ist.

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

13

In einem weiteren Aspekt wird die Aufgabe erfindungsgemäß gelöst durch Pharmazeutische Zusammensetzung umfassend mindestens ein Agens, das ausgewählt ist aus der Gruppe, wie durch zumindest eine der erfindungsgemäßen Verwendung definiert, und mindestens einen pharmazeutisch akzeptablen Träger, insbesondere zur Prävention und/oder Behandlung von Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Schilddrüsentumoren.

In einem weiteren Aspekt wird die Aufgabe erfindungsgemäß gelöst durch einen Kit für die Charakterisierung des Zustandes einer Schilddrüse bzw. eines diese aufbauenden Gewebes bzw. einer oder mehrerer diese aufbauende Zellen, umfassend mindestens ein Agens, das durch mindestens eine der erfindungsgemäßen Verwendungen definiert ist.

Der vorliegenden Erfindung liegt die überraschende Erkenntnis zugrunde, dass es eine Reihe von Genen bzw. Nukleinsäuresequenzen gibt, deren gegenüber normalem Gewebe geänderte Expression mit dem Auftreten von Tumoren und Hyperplasien in Verbindung gebracht werden kann und kausal damit verbunden zu sein scheint.

Im Rahmen der vorliegenden Erfindung wurde festgestellt, dass es im Falle bestimmter Hyperplasien bzw. Tumoren zu einer Änderung der Expression bestimmter Gene bzw. Sequenzen kommt. Unter Änderung soll dabei hierin insbesondere entweder eine Erhöhung der Expression oder aber eine Verringerung der Expression verstanden werden. Als Referenz dient dabei das Maß der Expression des in Frage stehenden Gens bzw. der in Frage stehenden Sequenz in Zellen bzw. Gewebe, die bzw. das verschieden ist bzw. sind von Zellen der Hyperplasien bzw. Tumoren.

Zu den hier in Frage stehenden Tumoren gehört die erste Gruppe der epithelialen Tumoren, insbesondere solche mit einer Veränderung in der chromosomalen Bande 19 q, und die zweite Gruppe der Tumoren, die eine Veränderung in der Bande 19q13 aufweisen. Unter Veränderung soll dabei hierin insbesondere eine Chromosomentranslokation, Chromosomendeletion, Chromosomeninsertion und Chromosomeninversion verstanden werden.

Die erste Gruppe von Tumoren umfasst dabei insbesondere auch Tumoren der Schilddrüse und bevorzugterweise epitheliale Tumoren der Schilddrüse. Die zweite Gruppe von Tumoren umfasst, unter anderem, Leukämien (wie chronisch lymphatische Leukämie, akut myeloische Leu-

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

14

kämie), B-Zell-Lymphome, Gliome, maligne fibröse Histozytome, Osteosarkome, Leiomyosarkome, Liposarkome, Ovarialtumore, Brustumore, Nierenkarzinome, Pankreaskarzinom und Gallenblasenkarzinome.

Nach der WHO-Klassifikation sind die Tumoren der Schilddrüse meist epithelialen Ursprungs und lassen sich in benigne und maligne Formen unterteilen. Bei den benignen Schilddrüsentumoren wird zwischen „echten“ Adenomen und Schilddrüsenhyperplasien (benigne, adenomatöse Strumaknoten), die als „Tumor-ähnliche Läsionen“ bezeichnet werden, unterschieden. Diese Hyperplasien sind meist polyklonale Knoten und haben oft einen variablen, makrofollikulären Aufbau, mit unvollständiger Kapselbildung. Schilddrüsenadenome dagegen sind gekapselte Tumoren, die sich vom Follikelepithel ableiten. Diese meist solitär auftretenden Tumoren sind gleichförmig aufgebaut und unterscheiden sich strukturell vom angrenzenden Schilddrüsengewebe. Sie lassen sich mikroskopisch (feingeweblich) nach ihrem Differenzierungsgrad in normofollikuläre (simple/einfach), makrofollikuläre (kollold), mikrofollikuläre (fetal), trabekuläre oder solide (embryonal) Adenome unterteilen.

Die hierin verwendete Abkürzung CAT steht für „cationic amino acid transporter“ (Transporter für kationische Aminosäuren). Dieser Transporter ist für den Transport von kationischen Aminosäuren und damit für die Versorgung der Zellen mit Aminosäuren verantwortlich. Infolge der Tatsache, dass einige der Aminosäuren als Neurotransmitter fungieren sind einige der Transporter auch an der Signalweiterleitung beteiligt. Derzeit kann nicht ausgeschlossen werden, dass CAT-A möglicherweise eine davon abweichende Funktion aufweist.

Die im Rahmen der vorliegenden Erfindung festgestellte Homologie basiert auf einem Vergleich der humanen Sequenzen mit CAT3 von *Rattus norvegicus*.

Das bekannte DC2 ist ein bei Zellen ubiquitäres Protein, das erstmals im Zusammenhang *Drosophila* und dort im Zusammenhang mit der frühen Embryonalentwicklung beschrieben wurde. DC2 weist eine Proteinkinase-Aktivität auf. Beim Menschen wurde DC erstmals im Zusammenhang mit dendritischen Zellen beschrieben.

PKCgamma steht hierin für Protein Kinase C gamma, die die Phosphorylierung von Serin und Threonin vermittelt und auf diesem Weg an der Transkriptionsregulation beteiligt ist. Insoweit

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

15

ergibt bereits aus dieser allgemeinen Funktion von Protein Kinase C gamma, dass diese ein Target ist, das einen Eingriff in das Transkriptionsgeschehen in der Zelle erlaubt und damit auch einen Ansatzpunkt für sowohl die Diagnose wie auch die Therapie von Tumoren und Hyperplasien, wie sie hierin beschrieben sind, bietet. Überraschend war für die Erfinder dabei die Erkenntnis, dass dieser die Transkription beeinflussende Faktor für die Geschehnisse im Zusammenhang mit den hierin beschriebenen Tumoren von zentraler Bedeutung ist.

Es ist im Rahmen der vorliegenden Erfindung, dass die erfindungsgemäßen Sequenzen auch die jeweils komplementären Sequenzen umfassen.

Im Rahmen der vorliegenden Erfindung sind weiterhin umfasst solche Nukleinsäuresequenzen, die insbesondere unter den Standard-Bedingungen für Northern-Blot-Hybridisierungen für den Nachweis von single-copy-Sequenzen mit den Sequenzen gemäß SEQ.ID.No 1 bis SEQ.ID.No. 12 hybridisieren.

Bei dem erfindungsgemäßen Verfahren zum Bestimmen einer Verbindung, die die Wirkung eines Translationsproduktes einer der erfindungsgemäßen Nukleinsäuren beeinflusst kann es sich auch um ein Verfahren zum Screenen einer Verbindungsbibliothek handeln. Derartige Verbindungsbibliotheken sind bevorzugterweise Bibliotheken niedermolekularer Verbindungen. Grundsätzlich wird dabei so vorgegangen, dass das Translationsprodukt einer der erfindungsgemäßen Nukleinsäuren mit einer Verbindung in einem System in Kontakt gebracht wird, wobei das System die Wirkung des besagten Translationsproduktes und damit eine Wirkung der Verbindung auf das Translationsprodukt darstellt bzw. in Form eines detektierbaren Signals widergibt. Diese Wirkung kann sich beispielsweise in einer veränderten Funktion hinsichtlich Stärke, Substratspezifität (Erkennung, Bindung, Transport) und/oder Rezeptorspezifität bzw. -affinität oder der Membranassoziation ausdrücken, d.h. in der Signalweiterleitung. Die Wirkung könnte ebenfalls einen Einfluss auf enzymatische Prozesse in der Zelle haben. Die Wirkung kann dabei sowohl im zellfreien, im zellulären System, in der Zellkultur und in transgenen Tiermodellen überprüft werden (in vitro, in vivo und in situ).

Soweit bei den erfindungsgemäßen Verfahren oder Anwendungen Bezug genommen wird auf Tumoren oder Hyperplasien sollen hierunter alle hierin im Zusammenhang mit den erfindungsgemäßen Nukleinsäuren offenbarten Tumoren oder Hyperplasien umfasst verstanden werden.

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

16

Mit den vorliegenden Nukleinsäuresequenzen eröffnen sich somit neue Möglichkeiten sowohl zur Diagnose als auch zur Therapie sowie der Untersuchung der mit dem Auftreten von Strumen und Schilddrüsentumoren bzw. Schilddrüsenkarzinomen verbundenen Mechanismen. Insbesondere wird durch Kenntnis der Sequenz die Möglichkeit gegeben, auf molekularer Ebene geeignete diagnostische bzw. therapeutische Mittel i. S. von – pharmazeutischen – Zusammensetzungen sowie Medikamenten mittelbar oder unmittelbar einzusetzen.

Die erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen können in für den Fachmann auf diesem Gebiet bekannter Art und Weise für die Gestaltung geeigneter diagnostisch und therapeutisch einsetzbarer Mittel im obigen Sinne sowie Kits und Verfahren verwendet werden.

Unter Nukleinsäure sollen dabei sowohl DNA-Sequenzen als auch RNA-Sequenzen, einschließlich Hybriden davon, verstanden werden, einschließlich hiervon abgeleiteter Derivate mit geändertem Rückgrat wie PNA und LNA. Dies schließt auch ein, dass die Nukleinsäuren einzelsträngig, doppelsträngig oder als Tripelstruktur vorliegen.

Es kann ebenfalls vorgesehen sein, dass sich die Strängigkeit der DNA, d. h. ob diese beispielsweise einzelsträngig oder doppelsträngig vorliegt, über die Länge der Nukleinsäuresequenz ändert.

Insbesondere kann auch vorgesehen sein, dass die erfindungsgemäße Nukleinsäuresequenz nicht vollständig, sondern als Fragment vorliegt.

Desweiteren ist es innerhalb des Umfangs der hierin vorliegenden Offenbarung, dass die Nukleinsäuresequenzen in mutierter Form vorliegen können. Unter Mutation sollen hierin alle dem Fachmann bekannten Mutationen, die innerhalb einer Nukleinsäuresequenz auftreten können, verstanden werden, einschließlich Punktmutationen sowie Nichtpunktmutationen, d. h. Inversionen, Insertionen und Deletionen.

Insbesondere unter dem Aspekt der Interaktion der erfindungsgemäßen Nukleinsäure mit anderen Nukleinsäuren soll hierin das Kriterium der Hybridisierung herangezogen werden, welches in der Technik allgemein anerkannt ist. Es wird anerkannt werden, dass durch Wahl geeigneter

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

17

Hybridisierungsbedingungen die Stringenz der Hybridisierung innerhalb eines bestimmten Bereiches verändert werden kann und somit eine Hybridisierung der erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen an Nukleinsäuresequenzen möglich wird, deren Grad der Abweichung von der unvollständig korrespondierenden, d. h. komplementären Sequenz schwanken kann.

Unter Nukleinsäuresequenz im erfindungsgemäßen Sinne soll auch jene Sequenz verstanden werden, die mit einer der erfindungsgemäßen Sequenzen hybridisieren würde, wenn nicht die Degeneration des genetischen Codes wäre. Dies bedeutet, dass mit Blick auf den in der erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenz vorhandenen offenen Leserahmen, bzw. die offenen Leserahmen, diese(r) unter Verwendung des genetischen Codes in eine Aminosäuresequenz translatiert werden kann/können. Infolge der Degeneration des genetischen Codes ist es jedoch möglich, ausgehend von der solchermaßen erhaltenen Aminosäuresequenz, wieder unter Verwendung des genetischen Codes eine Nukleinsäuresequenz zu gewinnen, die so verschieden ist, dass sie für sich genommen, mit der für die Bestimmung der Aminosäuresequenz herangezogenen Nukleinsäuresequenz möglicherweise nicht mehr hybridisieren kann.

Ausgehend von den hierin offenbarten Nukleinsäuren ist es für den Fachmann möglich, eine geeignete antisense-Nukleinsäure, insbesondere antisense-RNA zu erzeugen, die mit den erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen interagieren kann. Aufgrund dieser Interaktion ist eine direkte Beeinflussung der die Nukleinsäuresequenzen involvierenden Vorgänge möglich. Diese Interaktion kann beispielsweise auf der Ebene der Transkription ebenso wie auf der Ebene der Translation erfolgen.

Unter Nukleinsäuresequenzen sollen hierin allgemein Nukleinsäuresequenzen verstanden werden, die durch Isolierung aus dem genannten Gewebe in situ oder ex vivo, beispielsweise aus entsprechenden Zell-, Gewebe- oder Organkulturen, gewonnen werden können. Es sollen hierin jedoch auch entsprechende Nukleinsäuresequenzen verstanden werden, die aus Genbanken, insbesondere menschlichen Genbanken und noch bevorzugter Genbanken des menschlichen Chromosoms 19, isolierbar sind. Des Weiteren soll hierin der Begriff Nukleinsäuresequenzen auch solche Nukleinsäuren umfassen, die mittels geeigneter Synthesetechniken herstellbar sind, einschließlich der Polymerasekettenreaktion, und anderer im Stand der Technik bekannter, biochemischer und chemischer Syntheseverfahren.

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

18

Die erfindungsgemäßen Sequenzen können darüber hinaus modifiziert vorliegen.

Unter Modifikation soll hierin unter anderem Fragmentierung, Insertion, Deletion und Reversion von (Teil-)Sequenzen der erfinderischen Nukleinsäuresequenzen verstanden werden. Dies schließt auch die Insertion anderer Nukleinsäuresequenzen ein. Diese Nukleinsäuresequenzen können beispielsweise für bestimmte Domänen codieren, als Spacer dienen sowie als Elemente zur Translations- und Transkriptionsregulierung dienen.

Weiterhin können die erfindungsgemäßen Nukleinsäuren dergestalt modifiziert sein, dass sie Sequenzen oder Moleküle umfassen, die eine Interaktion mit anderen Molekülen erlauben. Dies kann beispielsweise in Form einer Bindungsstelle an einen festen Träger oder einer Sequenz, die die Bindung an ein Nukleinsäure-bindendes Protein vermittelt, erfolgen.

Weiterhin können die erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen markiert sein. Hierin soll unter Markierung grundsätzlich sowohl direkte als auch indirekte Markierung verstanden werden. Eine Markierung kann unter Verwendung der im Stand der Technik bekannten Markierungen sowie Markierungsverfahren erfolgen und schließt radioaktive, nicht-radioaktive und Fluoreszenzmarkierung ein. Nicht-radioaktive Markierungen umfassen, unter anderem, die Verwendung von Digoxigenin, Avidin, Streptavidin und Biotin.

Unter Vektor sollen hierin insbesondere rekombinante Vektoren, wie sie in der Technik bekannt sind, verstanden werden. Derartige Vektoren schließen, unter anderem, virale Vektoren, wie beispielsweise adenovirale oder retrovirale Vektoren und Phagensysteme, sowie Plasmidvektoren, einschließlich Cosmidvektoren, und künstliche Chromosomen, die in prokaryontischen und/oder eukaryontischen Systemen verwendet werden können, ein.

Neben den erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen können die erfindungsgemäßen Vektoren weitergehende Elemente umfassen, die im Stand der Technik bekannt sind. Die jeweiligen Elemente, wie beispielsweise Promotoren, Terminatoren und Enhancer, werden entsprechend dem jeweiligen Wirtszellsystem in für den Fachmann bekannter Art und Weise ausgewählt. Insbesondere ist hierbei an die Auswahl eines geeigneten eukaryontischen Promotors und eines induzierbaren Promotors gedacht. Neben den genannten Elementen ist es auch noch möglich, dass in derartigen Vektoren solche Elemente enthalten sind, die dazu führen, dass zumindest die erfin-

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

19

dungsgemäße Nukleinsäuresequenz, oder ein Teil davon, in das Genom des Wirtszellsystems integriert wird.

Es ist auch möglich, dass mindestens eines der genannten Elemente im Leserahmen („in-frame“) mit mindestens einem offenen Leserahmen der erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen verbunden ist, und ganz besonders vorteilhaft ist es, wenn mittels eines zusätzlich eingeführten Promotors die Transkriptionsrate des speziellen offenen Leserahmens kontrolliert wird, wobei der Promotor dann typischerweise in geeignetem Abstand und „in-frame“ mit dem offenen Leserahmen ist.

Dabei kann weiterhin vorgesehen sein, dass ein offener Leserahmen der erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen, bevorzugt unter den vorgenannten Bedingungen, eine Signalsequenz aufweist, die eine Translokation des vom offenen Leserahmen codierten Genproduktes über eine Membran, und ggf. infolge dessen eine weitergehende Modifikation des Genproduktes erlaubt. Derlei Signalsequenzen schließen solche für den Transport des synthetisierten Proteins zum Endoplasmatischen Retikulum, Golgi-Apparat, zu Lysosomen, zu Zellorganellen, wie Mitochondrien und Chloroplasten, sowie zum Zellkern ein. Das solchermaßen mögliche Durchlaufen verschiedener zellulärer Kompartimente erlaubt eine posttranslationale Modifikation und damit ggf. eine weitergehende vorteilhafte Ausbildung des Genproduktes.

Neben Signalsequenzen kann ein derartiges Konstrukt auch zusätzliche Nukleinsäuresequenzen enthalten, die dazu führen, dass das Genprodukt eines offenen Leserahmens der erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen ein Fusionsprotein ausbildet, wobei der anfusierte Teil einer Domäne eines anderen Proteins entsprechen kann und z. B. der Detektion des Genproduktes des offenen Leserahmens der erfindungsgemäßen Sequenzen dient, oder der Interaktion mit anderen Molekülen bzw. Strukturen im biologischen System, wobei das biologische System bevorzugt die Zelle ist.

Neben den vorgenannten und den weiteren sich für den Fachmann aus der Beschreibung ergebenden Vorteile der erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen sind diese auch den aus den genannten Nukleinsäuresequenzen ableitbaren bzw. von diesen codierten Polypeptiden inhärent. Diese Polypeptide können zum einen direkt aus einem offenen Leserahmen der erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenz abgeleitet werden, oder sind durch einen in einem Wirtsorganismus

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

20

exprimierten erfindungsgemäßen Vektor in für den Fachmann bekannter Weise herstellbar. Dabei wird typischerweise der Wirtsorganismus zunächst mit dem erfindungsgemäßen Vektor transformiert, der Wirtsorganismus vermehrt und das Polypeptid aus dem Wirtsorganismus, bzw. im Falle einer Sekretion desselben in das Medium, aus diesem gewonnen.

Neben einer direkten Verwendung der erfindungsgemäßen Polypeptide und der sie codierenden Nukleinsäuren zur Beeinflussung des – zellulären – Geschehens in Schilddrüsengewebe können diese auch in der Reinigung, beispielsweise über Affinitätschromatographie, von am zellulären Geschehen beteiligten anderen Komponenten, oder zur Herstellung geeigneter Antikörper verwendet werden, die dann, unter anderem, ihrerseits zu therapeutischen und/oder diagnostischen Zwecken verwendbar sind. Auf diese Art und Weise lassen sich unter anderem somit Wechselwirkungspartner der erfindungsgemäßen Polypeptide ermitteln bzw. isolieren.

In Abhängigkeit von den jeweils bestehenden Erfordernissen, wie posttranslationaler Modifikation oder erwünschtem Reinheitsgrad und dergleichen, kann bei Herstellung der erfindungsgemäßen Polypeptide in einem Wirtsorganismus entweder ein prokaryontischer oder ein eukaryontischer Wirtsorganismus von Vorteil sein.

Das erfindungsgemäße Polypeptid kann in geeigneter Weise modifiziert werden. Unter Modifikation soll, unter anderem, eine Fragmentierung, insbesondere Verkürzung, des Moleküls verstanden werden. Modifikation im hierin verwendeten Sinne beinhaltet auch die Markierung des Polypeptids. Letzteres kann mittels sowohl hochmolekularer als auch niedermolekularer Verbindungen erfolgen und schließt die radioaktive, nicht-radioaktive und Fluoreszenzmarkierung ein. Eine Markierung kann auch beispielsweise in Form einer Phosphorylierung oder Glycosylierung des Proteins vorliegen. Entsprechende Markierungsverfahren bzw. Modifikationsverfahren sind in der Technik bekannt (siehe z. B. Protein Methods, 2nd ed., D. M. Bollag et al., Wiley Liss, Inc., New York, NY, 1996) und werden hierin vollumfänglich aufgenommen.

Unter Modifikation wird erfindungsgemäß auch jede Form von posttranslationaler Modifikation, wie unter Fachleuten bekannt, verstanden, insbesondere proteolytische Verarbeitung des Polypeptids, Anhängen oder Abtrennen von Resten am N-Terminus, Acetylierung des N-Terminus, Myristoylierung des N-Terminus, Anhängen von Glycosyl-Phosphatidyl-Resten, Farnesyl-Resten oder Geranylgeranyl-Resten an den C-Terminus, N-Glycosylierung, O-Glycosylierung,

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

21

Anhängen von Glycosaminoglycan, Hydroxylierung, Phosphorylierung, ADP-Ribosylierung und Bildung von Disulfidbrücken.

Ebenso ist es im Rahmen der vorliegenden Erfindung, dass das erfindungsgemäße Polypeptid durch Mutation(en), insbesondere Aminosäuremutation(en) aus einem erfindungsgemäßen Polypeptid hervorgeht oder hervorgegangen ist. Unter Aminosäuremutation wird sowohl eine Mutation verstanden, bei der eine Aminosäure durch eine in ihrer Seitenkette ähnliche Aminosäure ausgetauscht wird (konservative Mutation), beispielsweise I zu L oder D zu E, sowie eine Mutation, bei der eine Aminosäure durch eine andere Aminosäure ausgetauscht wird, ohne dass dieser Austausch sich nachteilig auf die Funktion des codierten Polypeptids auswirkt (stille Mutation). Die Funktion des codierten Polypeptids kann durch einen geeigneten Assay überprüft werden. Geeignete funktionale Assays für CAT, d. h. Transporter für kationische Aminosäuren, für DC2, d. h. für die entsprechende Kinase-Aktivität, und für PCKgamma, d. h. für die Protein-Kinase Cgamma, sind den Fachleuten auf dem Gebiet bekannt und beispielsweise für CAT beschrieben in Closs EI et al. Biochemistry 36(21): 6462-8; Wu F et al. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 278(6) : R1506-12 ; und Palacin M et al. Physiol Rev 78(4) : 969-1054 oder für PKCG beschrieben in Becton DL et al., J Cell Physiol 125 (3): 485-91; Persons DA et al, Cell Growth Differ 2(1): 7 – 14 und Perander M et al., J. Biol. Chem 276(16) : 13015-24.

Mit den erfindungsgemäßen Zellen lassen sich weitergehende Vorteile realisieren. Diese umfassen unter anderem die Herstellung entsprechender Nukleinsäuresequenzen bzw. daraus abgeleiteter Genprodukte.

Insbesondere die Insertion der erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen im Genom einer Zelle ist von besonderer Bedeutung, beispielsweise für das weitere Studium des Einflusses derartiger Sequenzen, insbesondere im zellulären Umfeld. Dabei können Gendosiseffekte und dergleichen untersucht bzw. zu diagnostischen und/oder therapeutischen Zwecken ausgenutzt werden. Ganz besonders vorteilhaft scheint dabei ein Zustand, bei dem ausgehend von diploiden Zellen lediglich ein Chromosom eine oder mehrere der erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen, und bevorzugt in der ihrer Position in Bande 19q13 entsprechenden Position inseriert, enthält und das zweite Chromosom keine Chromosomentranslokation unter Einbeziehung der chromosomalen Bnde 19q13 aufweist. Derartige Zellen können beispielsweise als Positiv- und/oder Negativkontrolle in einem diagnostischen Ansatz dienen.

Es ist im Rahmen der vorliegenden Erfindung, dass neben dem jeweiligen erfindungsgemäßen Translationsprodukt oder der/den dafür codierenden Nukleinsäure(n), wie hierin beschrieben, auch andere Mittel verwendet werden können, um die von dem jeweiligen Translationsprodukt oder der dafür codierenden Nukleinsäure ausgehenden Wirkungen zu erzeugen oder auch zu unterdrücken. Derartige Mittel können im Rahmen eines sogenannten Screening-Verfahrens ermittelt werden. Dabei wird in einem ersten Schritt eine oder mehrere sogenannte Kandidatenverbindungen bereitgestellt. Kandidatenverbindungen im Sinne der vorliegenden Erfindung sind dabei solche Verbindungen, deren Eignung in einem Testsystem festgestellt werden soll, die hierin offenbarten Erkrankungen, insbesondere Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Schilddrüsentumoren, zu behandeln bzw. als diagnostische Mittel für die Diagnose derselben herangezogen zu werden. Zeigt die Kandidatenverbindung in dem beschriebenen Testsystem eine entsprechende Wirkung, stellt sie ein entsprechendes, d. h. prinzipiell geeignetes Mittel zur Behandlung dieser Erkrankungen dar. In einem zweiten Schritt wird sodann die Kandidatenverbindung mit einem (Translationsprodukt-)Expressionssystem oder mit einem (Translationsprodukt-)Aktivitätssystem in Kontakt gebracht. Ein Translationsprodukt-Expressionssystem ist dabei ein Expressionssystem, welches die Expression des Translationsproduktes zeigt, wobei der Umfang der Expression grundsätzlich veränderbar ist. Ein Translationsprodukt-Aktivierungssystem ist dabei im Wesentlichen ein Expressionssystem, wobei hier weniger auf die Expression des Translationsproduktes als vielmehr auf dessen Aktivität bzw. dessen Aktivierungszustand und dessen Beeinflussbarkeit abgestellt wird. Dabei ist beachtlich, dass das Translationsprodukt als solches nicht das Ergebnis eines tatsächlichen Expressionsvorganges sein muss, sondern auch dem entsprechenden Aktivitätssystem bereits als Polypeptid oder Protein zugegeben werden kann. Konkret wird in diesem Falle festgestellt, ob sich unter dem Einfluss einer Kandidatenverbindung die Aktivität des Translationsproduktes oder der für es codierenden Nukleinsäure verändert. Dabei kann unabhängig vom Vorliegen des jeweiligen konkreten Expressionssystems oder Aktivitätssystems grundsätzlich sowohl eine Verringerung der Expression bzw. Aktivität als auch eine Erhöhung der Expression bzw. Aktivität erfolgen. Typischerweise handelt es sich bei dem Expressionssystem und/oder dem Aktivitätssystem um einen in vitro-Ansatz, wie beispielsweise einen Zellextrakt oder ein Fragment eines Zellextraktes wie beispielsweise einen Zellkernextrakt. Ein Translationsprodukt-Expressionssystem im Sinne der vorliegenden Erfindung kann jedoch auch eine Zelle sein, be-

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

23

vorzugterweise eine Zelle der Schilddrüse, der Hyperplasien der Schilddrüse oder der einen Schilddrüsentumoren ausbildenden Zellen.

Eine Feststellung darüber, inwieweit eine Erhöhung oder Verringerung des Expressionssystems erfolgt, kann dabei auf einer jeden Ebene der Expression festgestellt werden, d. h. beispielsweise durch Zunahme oder Abnahme der Menge der für das Translationsprodukt codierenden Nukleinsäure, insbesondere der mRNA, oder aber auch des im Expressionssystem unter dem Einfluss der Kandidatenverbindung hergestellten Translationsproduktes, d. h. des jeweiligen Proteins. Die hierfür erforderlichen Techniken wie beispielsweise ein Verfahren zur Quantifizierung von mRNA sind dem Fachmann auf dem Gebiet bekannt und beispielsweise beschrieben in Sambrook et al. (Sambrook, Joseph: Molecular Cloning: A laboratory manual/ J. Sambrook; E.F. Fritsch; T. Maniatis – Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 19XX 1. Aufl. u.d.T. Maniatis, Thomas P.: Molecular Cloning; Verf. der 3. Auflage: Joseph Sambrook und David W. Russell; Literaturangaben ISBN 0-87969-309-6 ISBN 0-87969-576-5 ISBN 0-87969-577-3 1. – 2. ed., 4. [Dr.]. – 1989) Des Weiteren sind dem Fachmann auch Verfahren bekannt zur Bestimmung des Gehaltes der Menge von Translationsprodukt, beispielsweise durch Verwendung geeigneter Antikörper. Antikörper können nach den allgemein bekannten und beispielsweise in Current Protocols („Current Protocols in Protein Science“, hrsg. von Coligan J.E.; Dunn B.M., Hidde L.P. Speicher D.W., Wingfield P.T.; John Wiley & Sons) beschriebenen Verfahren hergestellt werden. Weiterhin ist es möglich, dass im Rahmen des Expressionssystems das hergestellte Translationsprodukt eine Markierung trägt, wobei geeignete Markierungen den Fachleuten auf dem Gebiet bekannt sind. Eine derartige geeignete Markierung ist beispielsweise die Markierung mit His₆ (Janknecht R et al. (1991) Proc Natl Acad Sci USA 88 (20): 8972-6).

Im Falle des Translationsprodukt-Aktivitätssystems wird dabei die Erhöhung der Aktivität oder Verringerung der Aktivität des Translationsproduktes typischerweise in einem funktionalen Assay getestet, wie bereits im Zusammenhang mit der Definition der mutierten Translationsprodukte, genauer der mutierten erfindungsgemäßen Polypeptide, beschrieben wurde.

Das in Kontakt bringen von Kandidatenverbindungen und Translationsprodukt-Expressionssystem oder –Aktivitätssystem erfolgt dabei in der Regel durch Zugabe einer bevorzugterweise wässrigen Lösung der Kandidatenverbindung zu dem entsprechenden Reaktionssystem, d. h. dem Expressionssystem oder dem Aktivitätssystem, die hierin auch allgemein als

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

24

Testsysteme bezeichnet werden. Die wässrige Lösung kann dabei bevorzugterweise eine Pufferlösung sein.

Die Verwendung von Kandidatenverbindungen erfolgt in der Regel in der Form, dass in einem jeden Test jeweils nur eine einzelne Kandidatenverbindung in dem entsprechenden Testsystem verwendet wird. Dabei ist es auch im Rahmen der vorliegenden Erfindung, dass entsprechende Tests parallel und in einem Hochdurchsatzverfahren (engl. high through-put system) durchgeführt werden. In dem letzten Schritt des erfindungsgemäßen Screening-Verfahrens, bestehend in dem Bestimmen, ob unter dem Einfluss der Kandidatenverbindung die Expression bzw. Aktivität des Translationsproduktes oder einer dafür codierenden Nukleinsäure verändert wird, erfolgt in der Regel durch Vergleich des Verhaltens des Testsystems ohne Zusatz der Kandidatenverbindung mit demjenigen des Testsystems mit Zusatz der Kandidatenverbindung. Bevorzugterweise wird die Kandidatenverbindung in einer Verbindungsbibliothek enthalten sein. Als Verbindungsbibliothek ist dabei grundsätzlich eine jede Verbindungsbibliothek unabhängig von der Verbindungsklasse denkbar. Geeignete Verbindungsbibliotheken sind beispielsweise Bibliotheken kleiner Moleküle. Es ist jedoch auch im Rahmen der vorliegenden Erfindung, dass andere Verbindungsklassen als kleine Moleküle verwendet werden, wie beispielsweise Peptide, Proteine, Antikörper, Anticaline und funktionale Nukleinsäuren.

Dabei ist es im Rahmen der vorliegenden Erfindung, dass das erfindungsgemäße Translationsprodukt bzw. die dafür codierende Nukleinsäure als Zielmolekül (engl. „target“) für die Erzeugung der vorstehend genannten Verbindungsklassen wie insbesondere Peptide, Proteine, Antikörper, Anticaline und funktionale Nukleinsäuren verwendet werden. Die entsprechenden Verbindungen, d. h. Peptide, Proteine, Antikörper, Anticaline und funktionale Nukleinsäuren, können sodann in dem erfindungsgemäßen Screening-Verfahren verwendet werden.

Es ist weiterhin im Rahmen der vorliegenden Erfindung, dass jene Verbindungen, d. h. Peptide, Proteine, Antikörper, Anticaline und funktionale Nukleinsäuren, die gegen das erfindungsgemäße Translationsprodukt bzw. die dafür codierende(n) Nukleinsäure(n) erzeugt werden, als Mittel im Sinne der vorliegenden Erfindung verwendet werden, d. h. als Mittel für die Therapie von Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Schilddrüsenumoren bzw. als entsprechende diagnostische Mittel.

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

25

Peptide und insbesondere bindende Peptide im Sinne der vorliegenden Erfindung sind dabei bevorzugterweise solche Proteine und Peptide, die an das erfindungsgemäße Translationsprodukt oder einen oder den/die Wechselwirkungspartner, insbesondere den/die natürlichen Wechselwirkungspartner, des erfindungsgemäßen Translationsproduktes, bevorzugterweise in biologischen Systemen, insbesondere in der Schilddrüse bzw. Hyperplasien der Schilddrüse oder Schilddrüsenumoren und der sie aufbauenden Zellen, binden. Gleiches gilt auch für die hierin im Zusammenhang mit der erfindungsgemäßen Verwendung beschriebenen Antikörper, Anticaline, funktionalen Nukleinsäuren und kleinen Moleküle. Gleichzeitig kann ein jedes Mitglied der vorstehend genannten Verbindungsklassen bevorzugterweise mit dem erfindungsgemäßen Translationsprodukt oder einer dafür codierenden Nukleinsäure in Wechselwirkung treten und somit die entsprechende Aktivität des Translationsproduktes bzw. der dazu codierenden Nukleinsäure beeinflussen.

Es ist jedoch auch im Rahmen der vorliegenden Erfindung, derartige Mitglieder zu erzeugen bzw. zu verwenden bzw. einem entsprechenden Screening-Verfahren zu unterziehen, die mit dem Wechselwirkungspartner, insbesondere dem natürlichen Wechselwirkungspartner des erfindungsgemäßen Translationsproduktes, oder einer dafür codierenden Nukleinsäure, in Wechselwirkung treten und die Expression bzw. Aktivität des Wechselwirkungspartners oder der dafür codierenden Nukleinsäure beeinflussen. Auch hier bezeichnet der Begriff „beeinflussen“ entweder Erhöhung oder Verringerung der Expression, des Expressionsumfangs oder der Aktivität, wie hierin allgemein offenbart. Infolge der Wechselwirkung der besagten Mitglieder mit den Wechselwirkungspartnern des erfindungsgemäßen Translationsproduktes bzw. der dafür codierenden Nukleinsäure wird somit die an das Translationsprodukt gekoppelte Kaskade von Reaktionen unterbrochen, so dass die natürlicherweise beobachtete Wirkung des erfindungsgemäßen Translationsproduktes bzw. der von ihr codierten Nukleinsäure unterbrochen wird, was im Rahmen der hierin offenbarten Therapie bzw. Diagnose betreffend Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Schilddrüsenumoren verwendet werden kann.

Diese Peptide, im folgenden hierin auch als bindende Peptide oder bindende Proteine bezeichnet, können mit im Stand der Technik bekannten Verfahren, wie beispielsweise phage-display gescreent bzw. hergestellt werden. Die Techniken sind den Fachleuten auf dem Gebiet bekannt. Dabei wird bei der Erzeugung derartiger Peptide typischerweise so vorgegangen, dass eine Peptid-

Bibliothek angelegt wird, beispielsweise in Form von Phagen, und diese Bibliothek in Kontakt gebracht wird mit einem Zielmolekül, im vorliegenden Falle beispielsweise mit einem Translationsprodukt oder dem natürlichen Wechselwirkungspartner des Translationsproduktes. Die bindenden Peptide werden sodann typischerweise als Komplex zusammen mit dem Zielmolekül von den nicht bindenden Mitgliedern der Bibliothek entfernt. Es ist dabei im Rahmen der Kenntnisse der Fachleute auf diesem Gebiet, dass die Bindungseigenschaften zumindest bis zu einem bestimmten Umfang von den jeweils konkret vorliegenden Versuchsbedingungen, wie beispielsweise Salzgehalt und dergleichen, abhängen. Nach Abtrennen der mit einer höheren oder stärkeren Affinität an das Zielmolekül bindenden Peptide von den nicht-bindenden Mitgliedern der Bibliothek bzw. vom Zielmolekül, im vorliegenden Fall vom erfindungsgemäßen Translationsprodukt, können diese sodann charakterisiert werden. Ggf. ist vor der Charakterisierung ein Amplifikationsschritt, beispielsweise durch Vermehrung der entsprechenden, das Peptid bzw. die Peptide oder Protein(e) codierenden Phagen erforderlich. Die Charakterisierung umfasst bevorzugterweise die Sequenzierung der an das Translationsprodukt oder seinen natürlichen Wechselwirkungspartner, je nachdem, welches der beiden Moleküle als Zielmolekül in dem phage-display Screening-Verfahren eingesetzt wurde, bindenden Peptide. Die Peptide sind dabei hinsichtlich ihrer Länge grundsätzlich nicht beschränkt. Typischerweise werden in derartigen Verfahren jedoch Peptide mit einer Länge von 8 – 20 Aminosäuren erhalten bzw. verwendet. Die Größe der Bibliotheken beträgt $10^2 - 10^{18}$, bevorzugterweise $10^8 - 10^{15}$ verschiedene Peptide. Eine spezielle Form von an Zielmolekülen bindenden Peptiden stellen die Anticaline dar, wie sie beispielsweise in der deutschen Patentanmeldung DE 197 42 706 beschrieben sind.

Im Lichte der hierin offenbarten technischen Lehre können sodann auch Antikörper gegen ein Genprodukt, insbesondere ein erfindungsgemäßes Translationsprodukt wie ein Polypeptid, oder die erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen hergestellt werden. Damit ergeben sich auch in diesem Falle die dem Fachmann allgemein aus dem Vorhandensein von Antikörpern gegen chemische Verbindungen bekannten Vorteile, insbesondere bei in vitro- und in vivo-Anwendungen. Insbesondere ist mit den Antikörpern beispielsweise eine Reinigung der erfindungsgemäßen Verbindungen, d. h. der erfindungsgemäßen Nukleinsäuren und/oder der erfindungsgemäßen Polypeptide bzw. Translationsprodukte möglich, deren Detektion, aber auch die Beeinflussung der biologischen Aktivität, einschließlich der biologischen Verfügbarkeit, der Verbindungen, auf die der Antikörper gerichtet ist, sowohl in situ, als auch ex vivo, in vivo und/oder in vitro. Genauer gesagt können insbesondere unter Verwendung von monoklonalen Antikörpern die Gen-

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

27

produkte spezifisch detektiert werden bzw. auf zellulärer Ebene eine Interaktion der Genprodukte bzw. Nukleinsäuresequenz mit anderen zellulären Komponenten beeinflusst und somit spezifisch in das zelluläre Geschehen eingegriffen werden. In Abhängigkeit von der Wirkung der jeweiligen Verbindungen, auf die der Antikörper gerichtet ist und auf die er im betrachteten System seine Wirkung entfaltet, können prinzipiell stimulierende wie inhibierende Effekte erzielt werden.

Unter Antikörper werden hierin sowohl polyklonale Antikörper als auch monoklonale Antikörper verstanden. Besonders bevorzugt jedoch sind monoklonale Antikörper aufgrund der erhöhten Spezifität. Es sind jedoch Anwendungsfälle denkbar, in denen zum einen die Reinheit bzw. Spezifität von polyklonalen Antikörpern ausreichend bzw. die Vielzahl der bei polyklonalen Antikörpern realisierten Spezifitäten und anderen Eigenschaften in vorteilhafter Weise genutzt werden können. Die Herstellung und Verwendung von Antikörpern ist beispielsweise in *Antibodies: A Laboratory Manual* (E. Harlow & D. Lane, Cold Spring Harbor Laboratory, NY, 1988) beschrieben und wird hierin mit einbezogen.

Weiterhin ist es im Rahmen dieser Erfindung, dass der Antikörper auch ein einzelkettiger Antikörper sein kann.

Es ist auch im Rahmen der vorliegenden Erfindung, dass der Antikörper fragmentiert, insbesondere verkürzt ist. Dies schließt ein, dass der Antikörper fragmentiert, insbesondere verkürzt ist. Dies schließt ein, dass der Antikörper weitestgehend trunkiert ist, solange noch die Antikörper spezifische Eigenschaft, d. h. Bindung an ein definiertes Epitop, gegeben ist. Trunkierung ist besonders dann von Vorteil, wenn der entsprechende Antikörper auf zellulärer Ebene verwendet werden soll, da er gegenüber einem vollständigen Antikörper verbesserte Permeations- und Diffusionseigenschaften aufweist.

Darüber hinaus sind auch noch andere Formen der Modifikation vorgesehen, die dem Fachmann auf dem Gebiet bekannt sind und beispielsweise beschrieben sind in *Antibodies: A Laboratory Manual* (E. Harlow & D. Lane, Cold Spring Harbor Laboratory, NY, 1988). Allgemein kann festgehalten werden, dass die Modifizierung von Antikörpern prinzipiell in ähnlicher Weise erfolgen kann, wie die von Polypeptiden und, in bestimmtem Umfang, von Nukleinsäuren, und das hierzu oben Gesagte gilt sinngemäß auch für den erfindungsgemäßen Antikörper.

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

28

Eine weitere Verbindungsklasse, die im Rahmen des erfindungsgemäßen Screening-Verfahrens ebenso wie bei der erfindungsgemäßen Herstellung von Medikamenten und diagnostischen Mitteln verwendet werden kann, sind funktionale Nukleinsäuren. Unter funktionalen Nukleinsäuren sollen hierin insbesondere Aptamere, Aptazyme, Ribozyme, Spiegelmere, Antisense-Oligonukleotide und RNAi verstanden werden.

Aptamere sind D-Nukleinsäuren, entweder einzelsträngig oder doppelsträngig, auf RNA- oder DNA-Basis, die spezifisch an ein Zielmolekül binden. Die Herstellung von Aptameren ist bspw. beschrieben im Europäischen Patent EP 0 533 838. Dabei wird wie folgt vorgegangen:

Eine Mischung aus Nukleinsäuren, d. h. potentiellen Aptameren, wird bereitgestellt, wobei eine jede Nukleinsäure aus einem Segment aus wenigstens acht aufeinanderfolgenden, randomisierten Nukleotiden besteht und diese Mischung mit dem Target, im vorliegenden Falle somit mit einem Translationsprodukt, insbesondere einem erfindungsgemäßen Translationsprodukt, dafür codierender/codierenden Nukleinsäure(n), Wechselwirkungspartnern des Translationsproduktes, insbesondere den natürlichen Wechselwirkungspartnern, und/oder für sie codierende(r) Nukleinsäure(n) in Kontakt gebracht wird, wobei Nukleinsäuren, die an das Target binden, ggf. auf der Grundlage einer erhöhten Affinität, verglichen mit der Affinität der Kandidatenmischung, vom Rest der Kandidatenmischung abgetrennt werden und die solchermaßen erhaltenen an das Target bindenden Nukleinsäuren amplifiziert werden. Diese Schritte werden mehrfach wiederholt, so dass am Ende des Verfahrens spezifisch an das jeweilige Target oder Zielmolekül bindende Nukleinsäuren, eben die sogenannten Aptamere, erhalten werden. Es ist im Rahmen der vorliegenden Erfindung, dass diese Aptamere stabilisiert werden können, bspw. durch Einführung bestimmter chemischer Gruppen, die den Fachleuten auf dem Gebiet der Aptamer-Entwicklung bekannt sind. Aptamere werden derzeit bereits therapeutisch eingesetzt. Es ist auch im Rahmen der vorliegenden Erfindung, dass die solchermaßen hergestellten Aptamere für die Targetvalidierung und als Leitsubstanzen für die Entwicklung von Medikamenten, insbesondere von kleinen Molekülen, verwendet werden.

Auf einem grundsätzlich ähnlichen Prinzip beruht die Herstellung oder Erzeugung von Spiegelmeren, die im Rahmen der vorliegenden Erfindung auf der Grundlage eines erfindungsgemäßen Translationsproduktes, der dafür codierenden Nukleinsäure(n), der Translationsprodukt-

Wechselwirkungspartner, insbesondere der natürlichen Wechselwirkungspartner, und/oder der für sie codierenden Nukleinsäure(n) als Zielmolekül entwickelt werden können. Die Herstellung von Spiegelmeren ist bspw. beschrieben in der internationalen Patentanmeldung WO 98/08856. Spiegelmere sind L-Nukleinsäuren, d.h. bestehen aus L-Nukleotiden, und zeichnen sich im wesentlichen dadurch aus, dass sie in biologischen Systemen eine sehr hohe Stabilität aufweisen und gleichzeitig, vergleichbar den Aptameren, mit einem Zielmolekül spezifisch wechselwirken bzw. an dieses binden können. Bei der Herstellung der Spiegelmere wird dabei so vorgegangen, dass eine heterogene Population aus D-Nukleinsäuren erzeugt wird, die Population mit dem optischen Antipoden des Zielmoleküls in Kontakt gebracht wird, im vorliegenden Falle somit beispielsweise mit dem D-Enantiomer des natürlicher Weise auftretenden L-Enantiomers eines Translationsproduktes, sodann jene D-Nukleinsäuren abgetrennt werden, die nicht mit dem optischen Antipoden des Zielmoleküls in Wechselwirkung getreten sind, die D-Nukleinsäuren, die mit der optischen Antipode des Zielmoleküls in Wechselwirkung getreten sind, bestimmt, ggf. abgetrennt und sequenziert werden und anschließend L-Nukleinsäuren synthetisiert werden, die in ihrer Sequenz mit derjenigen zuvor für die D-Nukleinsäure(n) ermittelten Sequenz(en) identisch sind. Ähnlich dem Verfahren zur Herstellung von Aptameren ist es auch hier möglich, durch mehrfaches Wiederholen der Schritte geeignete Nukleinsäuren, d.h. Spiegelmere, anzureichern bzw. zu erzeugen, die das Translationsprodukt, einen oder mehrere seiner insbesondere natürlichen Wechselwirkungspartner, je nachdem, welche der vorstehend genannten Verbindungen als Zielmolekül eingesetzt wird, oder einer dafür codierenden Nukleinsäure binden.

Eine weitere Form der funktionalen Nukleinsäuren, die erfindungsgemäß verwendet werden können, sind sogenannte Aptazyme. Aptazyme sind beispielsweise beschrieben von Piganeau, N. et al. (2000), *Angew. Chem. Int. Ed.*, 39, Nr. 29, Seiten 4369-4373. Dabei handelt es sich um eine spezifische Form von Aptameren, die sich dadurch auszeichnen, dass sie neben dem Aptameranteil, der spezifisch an das Zielmolekül, im vorliegenden Falle ein erfindungsgemäßes Translationsprodukt oder ein Wechselwirkungspartner davon, bindet, noch einen Ribozymanteil enthalten kann mit der Folge, dass nach Bindung des Zielmoleküls des Aptameranteils des Aptazyms der Ribozymanteil aktiviert wird und es infolge dessen zu einer Spaltung einer als Substrat des Ribozymanteils des Aptazyms fungierenden Nukleinsäure kommt. Bei entsprechender Gestaltung des Ribozymsubstrates kann dabei beispielsweise eine Änderung der Fluoreszenz infolge einer Änderung der räumlichen Anordnung eines Fluoreszenzdonors relativ zu einem Fluoreszenzakzeptor auf dem Ribozymsubstrat beobachtet werden. Aptazyme eignen sich insoweit ins-

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

30

besondere für die Anwendung im Rahmen einer Targetvalidierung betreffend ein Translationsprodukt und seiner Wechselwirkungspartner sowie als diagnostisches Mittel im Sinne der vorliegenden Erfindung. Gleichwohl ist auch eine therapeutische Anwendung in dem Umfang möglich, wie sie im Zusammenhang mit den hierin beschriebenen Ribozymen offenbart ist.

Den vorstehend genannten Verbindungsklassen ist dabei gemein, dass sie im Wesentlichen an das jeweilige Protein, d. h. das bzw. ein, bevorzugterweise ein erfindungsgemäßes, Translationsprodukt oder den Wechselwirkungspartner davon, binden, es ist jedoch auch im Rahmen der vorliegenden Erfindung, dass diese Verbindungsklassen und insbesondere die funktionalen Nukleinsäuren als Targetmolekül die für die vorstehend genannten Proteine bzw. Polypeptide codierende(n) Nukleinsäure(n) zum Gegenstand haben.

Eine weitere Klasse von Verbindungen, die unter Verwendung eines Translationsproduktes, bevorzugterweise eines erfindungsgemäßen Translationsproduktes, und/oder eines Wechselwirkungspartners davon und insbesondere der für diese codierenden Nukleinsäure(n) hergestellt bzw. entwickelt werden können, sind Ribozyme, Antisense-Oligonukleotide und RNAi.

All diesen Klassen von Verbindungen ist dabei gemein, dass sie nicht auf der Ebene des Translationsproduktes, d.h. auf der Ebene der Proteine (Translationsprodukt und Wechselwirkungspartner davon) ihre Wirkung entfalten, sondern auf der Ebene der für das jeweilige Protein codierenden Nukleinsäure(n), insbesondere der für ein Translationsprodukt codierenden mRNA bzw. der mRNA, die für einen Wechselwirkungspartner des Translationsproduktes codiert. Grundsätzlich ist dabei auch die entsprechende genomische DNA oder die korrespondierende cDNA als Zielmolekül geeignet.

Bei Ribozymen handelt es sich um katalytisch aktive Nukleinsäuren, die bevorzugterweise aus RNA aufgebaut sind und aus zwei Teilbereichen bestehen. Der erste Teilbereich ist für eine katalytische Aktivität verantwortlich, wohingegen der zweite Teil für eine spezifische Wechselwirkung mit einer Ziel-Nukleinsäure verantwortlich ist. Kommt es zur Ausbildung einer Wechselwirkung zwischen der Ziel-Nukleinsäure und dem zweiten Teil des Ribozyms, typischer Weise durch Hybridisierung von zueinander im wesentlichen komplementären Basenbereichen, kann der katalytische Teil des Ribozyms entweder intramolekular oder intermolekular, wobei letzteres bevorzugt ist, die Ziel-Nukleinsäure hydrolysieren für den Fall, dass die katalytische Wirkung

des Ribozyms eine Phosphodiesterase-Aktivität ist. In der Folge kommt es zu einem – ggf. weiteren – Abbau der codierenden Nukleinsäure, wobei der Titer des Zielmoleküls sowohl auf der Nukleinsäure- als auch der Proteinebene sowohl intrazellulär als auch extrazellulär verringert werden kann und somit ein therapeutischer Ansatz für die Behandlung von Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Schilddrüsentumoren bereitgestellt wird. Ribozyme, deren Verwendung sowie Konstruktionsprinzipien sind den Fachleuten auf dem Gebiet bekannt und bspw. beschrieben in Doherty und Doudna (Ribozyme structures and mechanisms. *Annu Rev Biophys Biomol Struct* 2001;30:457-75) und Lewin und Hauswirth (Ribozyme gene therapy: applications for molecular medicine. *Trends Mol Med* 2001, 7:221-8).

Mit Blick auf eine pharmazeutische Zusammensetzung, welche ein Ribozym neben dem pharmazeutisch akzeptablen Träger umfasst bzw. die Verwendung des erfindungsgemäßen Ribozyms als Medikament, und insbesondere zur Behandlung von Funktionsstörungen, Hyperplasien und Tumoren der Schilddrüse, ist es auch möglich, dass das Ribozym so konstruiert wird, dass es spezifisch auf eine oder mehrere der erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen einwirkt und somit auch hier die Expression bzw. Translation auf zellulärer Ebene kontrolliert, was insbesondere unter dem therapeutischen aber auch diagnostischen Aspekt von Bedeutung ist. Dabei kann aufgrund der Tatsache, dass Ribozyme sowohl intra- als auch internukleäre katalytische Wirkungen zeigen, auch vorgesehen sein, dass die erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen dergestalt geändert werden, dass Bereiche ihrer selbst durch die Ribozymaktivität des geänderten Bereiches gespalten werden. Auch hierin eröffnet sich eine insbesondere therapeutische Möglichkeit, deren Ausgestaltung dem Fachmann im Lichte der nun vorhandenen Sequenzinformation möglich ist.

Ribozyme sind, ähnlich den erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen selbst, besonders dann von Vorteil, aber nicht nur dann, wenn sie, beispielsweise mittels Gentherapie, in die Effektorzelle eingebracht werden. Jedoch ist auch denkbar, dass entsprechende Modifikationen ex vivo vorgenommen werden und solchermaßen modifizierte Zellen dann zur Reimplantation, entweder allogene oder autogene, zur Verfügung stehen. Die Herstellung und Verwendung von Ribozymen ist in Ribozyme Protocols (Philip C. Turner, Ed., Humana Press, Totowa, NY, 1997) offenbart und wird hierin mit einbezogen.

Auf einem grundsätzlich ähnlichen Wirkmechanismus beruht die Verwendung von Antisense-Oligonukleotiden zur Herstellung eines Medikamentes bzw. diagnostischen Mittels im Sinne der vorliegenden Erfindung. Antisense-Oligonukleotide hybridisieren infolge Basenkomplementarität typischer Weise mit einer Ziel-RNA, normaler Weise mit mRNA und aktivieren dadurch RNaseH. RNaseH wird sowohl durch Phosphodiester als auch Phosphorothioat-gekoppelte DNA aktiviert. Phosphorodiester-gekoppelte DNA wird jedoch schnell durch zelluläre Nukleasen mit Ausnahme von Phosphorothioat-gekoppelter DNA abgebaut. Diese resistenten, nicht-natürlicher Weise auftretende DNA-Derivate inhibieren RNaseH nicht, wenn sie mit RNA hybridisiert sind. Mit anderen Worten, Antisense-Polynukleotide sind nur als DNA-RNA-Hybridkomplex wirksam. Beispiele für derartige Antisense-Oligonukleotide finden sich, u.a., in US-Patent US 5,849,902 oder US 5,989,912. Prinzipiell besteht das wesentliche Konzept der Antisense-Oligonukleotide darin, gegen bestimmte RNA eine komplementäre Nukleinsäure bereitzustellen. Mit anderen Worten, ausgehend von der Kenntnis der Nukleinsäuresequenz eines Translationsproduktes bzw. seines oder seiner Wechselwirkungspartner(s), insbesondere der jeweiligen mRNA, können durch Basenkomplementarität geeignete Antisense-Oligonukleotide hergestellt werden, die zu einem Abbau der codierenden Nukleinsäure, insbesondere der mRNA, führen. Dieser Abbau kann sodann in einem Expressions- oder Aktivitätssystem qualitativ oder quantitativ erfasst werden.

Eine weitere Klasse von Verbindungen, die als Medikament bzw. diagnostisches Mittel im Sinne der vorliegenden Erfindung verwendet, identifiziert oder hergestellt werden kann, ist die sogenannte RNAi. RNAi ist eine doppelsträngige RNA, die RNA-Interferenz vermittelt und typischerweise eine Länge von etwa 21 bis 23 Nukleotiden aufweist. Dabei entspricht einer der beiden Stränge der RNA einer Sequenz eines bzw. des abzubauenen Gens. Mit anderen Worten, ausgehend von der Kenntnis der für ein Translationsprodukt und/oder dessen Wechselwirkungspartner codierenden Nukleinsäure(n), insbesondere der mRNA, kann eine doppelsträngige RNA hergestellt werden, wobei einer der beiden RNA-Stränge komplementär zu der besagten, für das Translationsprodukt und/oder dessen Wechselwirkungspartner codierenden Nukleinsäure(n) ist, bevorzugterweise zur mRNA, und diese dann zum Abbau der entsprechenden codierenden Nukleinsäure führt und damit einhergehend zu einer Verringerung des Titers der jeweiligen Translationsprodukte, d. h. der Proteine. Die Erzeugung und Verwendung von RNAi als Medikament bzw. diagnostisches Mittel ist bspw. beschrieben in den internationalen Patentanmeldungen WO 00/44895 und WO 01/75164.

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

33

Mit Blick auf die Wirkmechanismen der vorstehend beschriebenen Klassen von Verbindungen, nämlich Ribozymen, Antisense-Oligonukleotiden sowie RNAi, ist es somit im Rahmen der vorliegenden Erfindung, neben dem erfindungsgemäßen Translationsprodukt, d. h. dem jeweiligen Polypeptid bzw. Protein, und dessen insbesondere natürlichen Wechselwirkungspartner(n) auch die jeweils dafür codierende(n) Nukleinsäure(n), insbesondere die entsprechende mRNA, cDNA oder genomische DNA, zur Herstellung eines Medikaments für die Behandlung von Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Schilddrüsentumoren bzw. für die Herstellung eines diagnostischen Mittels für die Diagnose der vorstehend genannten Erkrankungen bzw. Funktionsstörungen und für das Überwachen des Verlaufes der Erkrankung bzw. der angesetzten Therapie, entweder direkt oder als Zielmolekül, zu verwenden.

Bei der Verwendung des erfindungsgemäßen Translationsproduktes, der dafür codierenden Nukleinsäure, des oder der Translationsprodukt-Wechselwirkungspartner(s), insbesondere des/der natürlichen Wechselwirkungspartner(s), und/oder der für diese codierende(n) Nukleinsäure(n) als Zielmolekül für die Herstellung bzw. Entwicklung eines Medikaments für die Behandlung oder Therapie von Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Schilddrüsentumoren, ebenso wie bei der Herstellung und/oder der Entwicklung von Mitteln für die Diagnose derselben, können auch Bibliotheken kleiner Moleküle verwendet werden. Auch dabei wird das Zielmolekül mit einer Bibliothek in Kontakt gebracht und jene Mitglieder der Bibliothek, die daran binden, ermittelt, ggf. von den anderen Mitgliedern der Bibliothek bzw. vom Zielmolekül abgetrennt und optional weiter charakterisiert. Auch hier wird die Charakterisierung des kleinen Moleküls nach den Fachleuten auf diesem Gebiet bekannten Verfahrenswegen erfolgen, so z. B. die Verbindung identifiziert und die Molekularstruktur bestimmt werden. Die Bibliotheken umfassen dabei so wenig wie zwei und soviel wie bis zu mehrere hunderttausend Mitglieder.

Im Zusammenhang mit den verschiedenen hierin offenbarten Klassen von Verbindungen, die als therapeutisches Mittel oder diagnostisches Mittel erfindungsgemäß verwendet werden können, ist dabei ein Aspekt der, dass bestimmte Klassen direkt mit einem Translationsprodukt oder seinem Wechselwirkungspartner in Wechselwirkung treten bzw. an dieses binden. Es ist jedoch auch im Rahmen der vorliegenden Erfindung, dass die besagten Verbindungen der verschiedenen Klassen, insbesondere wenn es sich dabei um Peptide, Antikörper, Anticaline, Aptamere,

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

34

Aptzyme und Spiegelmerer handelt, den Wechselwirkungspartner des Translationsproduktes durch eine mehr oder weniger spezifische Wechselwirkung für das Translationsprodukt blockieren. Insoweit ist der Begriff der Verwendung von einem Translationsprodukt hierin auch dahingehend zu verstehen, dass er die Verwendung eines oder mehrerer des/der Translationsprodukt-Wechselwirkungspartner(s), wie bspw. Rezeptoren und Transkriptions- und Translationsfaktoren, umfasst. Die hierin beschriebenen Verfahren sind dann insoweit zu modifizieren, als dass anstelle des Translationsprodukt-Proteins bzw. der für sie codierenden Nukleinsäure, ein Wechselwirkungspartner davon in den verschiedenen Selektionsverfahren, Assays, Screening-Verfahren oder Herstellungsverfahren eingesetzt wird. Wechselwirkungspartner von PKCG sind, unter anderem Phospholipide und Phosphatidylserin-Rest aufweisende Verbindungen, wobei bei letzterem die Bindung unabhängig ist von Phospholipiden, aber abhängig von Ca^{2+} (Pawelczyk T, Kowara, R. Matecki, A; Mol. Cell Biochem. 2000 Jun; 209(1-2): 69-77). Ein weiterer Bindungspartner von PKCG ist Phorboldibutyrat (PDBu)/diacylglycerol und Lipidbindungsdomänen (CaLB) (Quest AF, Bell, RM; J Biol. Chem. 1994 Aug 5; 269 (31): 20000-12). Weiterhin weist PKCG eine Wechselwirkung und damit eine Form der Bindung mit PH-Domänen von Tec Familien-Protein-Throsinkinasen Btk und Emt (ähnlich zu Itk und Tsk) auf; hierbei erfolgt eine Wechselwirkung mit PKC-Genen (Pawelczyk T, Matecki A, Dettlaff A; FEBS Lett 1998 Feb 13; 423 (1): 31-4. Wechselwirkungspartner von CAT-A bzw. CAT-A1 sind, unter anderem, allgemein Aminosäuren und Viren

Im Rahmen der vorliegenden Erfindung werden unter Wechselwirkungspartnern von einem Translationsprodukt, insbesondere von einem erfindungsgemäßen Translationsprodukt, insbesondere natürlichen Wechselwirkungspartnern, solche Moleküle und Strukturen bezeichnet, mit denen das besagte Translationsprodukt in Wechselwirkung tritt. Dabei sind insbesondere jene Moleküle und Strukturen umfasst, mit denen das Protein in einem biologischen System unter normalen und/oder auch unter pathologischen Bedingungen in Wechselwirkung tritt.

Hinsichtlich der Gestaltung des Kits zur Diagnose und/oder Therapie von Funktionsstörungen, Hyperplasie und Tumoren der Schilddrüse ist anzumerken, dass die genaue Gestaltung eines derartigen Kits, d. h. welche Komponente(n) explizit darin aufgenommen wird bzw. werden, dem Fachmann auf diesem Gebiet bekannt, und insbesondere möglich sind im Lichte der oben gemachten Ausführungen hinsichtlich der Wirkung bzw. Verwendbarkeit der hierin offenbarten erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen und deren Translationsprodukt. Der erfindungsge-

mäße Kit wird in jedem Fall mindestens eines der erfindungsgemäßen Elemente umfassen, das aus der Gruppe ausgewählt ist, die die erfindungsgemäße(n) Nukleinsäure(n), den Vektor, das Polypeptid, die Zelle, den Antikörper, das Ribozym sowie die verschiedenen Verbindungen der verschiedenen Klassen, wie sie hierin charakterisiert wurden, insbesondere die Antikörper, Peptide, Proteine, Anticaline, kleine Moleküle, Aptamere, Spiegelmer, Ribozyme, Aptazyme, Antisense-Oligonukleotide sowie RNAi, spezifisch für die erfindungsgemäßen Nukleinsäuren oder erfindungsgemäßen Translationsprodukte sowie die Wechselwirkungspartner davon, insbesondere die natürlichen Wechselwirkungspartner, sowie der jeweils dafür codierenden Nukleinsäuren, jeweils bevorzugterweise in ihrer erfindungsgemäßen Ausprägung, umfasst. Weitere Elemente des erfindungsgemäßen Kits sind aus der Gruppe ausgewählt, die Puffer, Negativ-Kontrollen, Positiv-Kontrollen und Benutzungsanweisungen umfasst. Typischer Weise sind die einzelnen Verbindungen bzw. Bestandteile in trockener oder flüssiger Form, bevorzugterweise für den einzelnen Anwendungsfall portioniert, in dem Kit enthalten. Der Kit kann dabei bevorzugterweise verwendet werden zur Bestimmung von Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Schilddrüsentumoren. Hinsichtlich der Verwendung der erfindungsgemäßen Zellen ist insbesondere deren Verwendung als Reimplantat bzw. als Positiv- und/oder Negativkontrolle in entsprechenden diagnostischen bzw. therapeutischen Ansätzen möglich.

Bei dem erfindungsgemäßen Verfahren zum Nachweis von Funktionsstörungen und Hyperplasien und/oder Tumoren der Schilddrüse, auch i. S. von Karzinomen und Strumen, ist es möglich, dass das Schilddrüsenmaterial in situ, ex vivo, in vivo oder in vitro vorliegt. Der Begriff „Schilddrüsenmaterial“, wie hierin verwendet, bezeichnet insbesondere Material, bevorzugterweise zelluläres Material der Schilddrüse in deren normalem und/oder pathogenen Zustand. Der Begriff des Schilddrüsenmaterials umfasst damit auch Material von Schilddrüsen mit einer Funktionsstörung, von Hyperplasien der Schilddrüse, von Tumoren der Schilddrüse, einschließlich Karzinomen und Strumen. Die Bestimmung, ob eine Funktionsstörung, Hyperplasie und/oder Tumor vorliegt, erfolgt letzten Endes durch Vergleich der Wirkung des eingesetzten erfindungsgemäßen Agens bzw. Agenzien auf das zu untersuchende Schilddrüsenmaterial mit dessen/deren Wirkung auf „normales“ Schilddrüsen Gewebe. Weitere Ausgestaltungsformen des erfindungsgemäßen Verfahrens ergeben sich für den Fachmann auf der Grundlage der hierin enthaltenen Offenbarung.

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

36

Die oben gemachten Ausführungen hinsichtlich der verschiedenen Ausführungsformen sowie den damit realisierbaren Vorteilen gelten sinngemäß auch für die erfindungsgemäßen Medikamente, und insbesondere für solche Mittel zur Diagnose und/oder Therapie von Funktionsstörungen, Hyperplasien und/oder Tumoren der Schilddrüse in Form der erfindungsgemäßen Sequenz(en), bzw. deren Verwendung, in Form des erfindungsgemäßen Vektors, bzw. dessen Verwendung, in Form des erfindungsgemäßen Polypeptids, bzw. dessen Verwendung, in Form der erfindungsgemäßen Zelle, bzw. deren Verwendung, in Form des Ribozyms, bzw. dessen Verwendung, die hierin offenbart werden. Gleiches gilt auch für die erfindungsgemäß hergestellten bzw. selektierten Verbindungen aus der Gruppe, die bindende Peptide, Anticaline und funktionale Nukleinsäuren umfassen, wobei diesen Verbindungen gemeinsam ist, dass sie gegen die erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen oder den davon codierten Polypeptiden oder deren Wechselwirkungspartner(n) oder den dafür codierenden Nukleinsäuren gerichtet sind, d. h. gegen diese als Zielmolekül hergestellt oder selektiert werden. Die entsprechenden Medikamente können einen Gehalt an einem oder mehreren der vorgenannten Agenzien oder Verbindungen aufweisen.

Gleiches gilt auch für die erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zusammensetzungen. Dabei ist es möglich, dass eine pharmazeutische Zusammensetzung neben dem pharmazeutisch akzeptablen Träger nur eine der aufgeführten Verbindungen umfasst. Alternativ ist es auch im Rahmen der Erfindung, dass die pharmazeutische Zusammensetzung mehrere der genannten Verbindungen neben dem pharmazeutisch akzeptablen Träger aufweist.

Unter pharmazeutisch akzeptablem Träger sollen hierin alle dem Fachmann bekannten Träger verstanden werden, die typischerweise in Abhängigkeit von der Applikationsform ausgewählt werden. Ein pharmazeutisch akzeptabler Träger kann, unter anderem, Wasser, Pufferlösungen, alkoholische Lösungen und dergleichen sein.

Hinsichtlich des erfindungsgemäßen Verfahrens zur Herstellung von Primern, sei darauf hingewiesen, dass es sich dabei um solche handelt, die eine spezifische Darstellung der erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen, bzw. Teilen davon, erlauben.

Bei dem erfindungsgemäßen Verfahren zur Darstellung einer erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenz können, aus welcher Quelle auch immer, die erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

37

zen bzw. diesen entsprechende Sequenzen unter Verwendung von erfindungsgemäßen Primern als Primer für eine Polymerasekettenreaktion, in all ihren verschiedenen Ausführungen, verwendet werden. Das Design geeigneter Primer sowie die Durchführung von Polymerasekettenreaktionen ist in PCR & PCR 2: A practical approach (M. J. McPherson, P. Quirke und G. R. Taylor, Eds., IRL Press, Oxford, England 1991, & M. J. McPherson und B. D. Hames, Eds., IRL Press, Oxford, England 1995) offenbart und wird hierin mit einbezogen.

Die erfindungsgemäßen Nukleinsäuren, einschließlich erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen, sind zum einen das hierin offenbarte Homologe zu den humanen CAT-Genen, das hierin auch als CAT bzw. als CAT-A oder CAT-A1 in speziellen Ausprägungsformen des erfindungsgemäßen CAT-Homologes bezeichnet wird, Homologe zu dem menschlichen DC2-Gen und des PKCgamma-Gens, dessen N-Terminus bekannt ist.

Erfindungsgemäße Nukleinsäuren bzw. Nukleinsäuresequenzen sind insbesondere auch die nachfolgend angeführten Nukleinsäuren, die die mit „SEQ. ID. No.“ hierin bezeichneten Nukleinsäuresequenzen umfassen, solche Nukleinsäuren bzw. Nukleinsäuresequenzen, die die nachfolgend mit „SEQ. ID. No.“ bezeichneten Nukleinsäuresequenzen teilweise oder vollständig umfassen und weitergehende Nukleotide, insbesondere am 5'- und/oder 3'-Ende umfassen, solche Nukleinsäuren, die in Ergänzung zu den mit „SEQ. ID. No.“ hierin bezeichneten Sequenzen weitere Nukleotide enthalten, im Falle des erfindungsgemäßen CAT-A- bzw. CAT-A1-Sequenz bzw. -Gens ergänzt durch weitere Nukleotide aus BC 93504, im Falle des PKCG-Gens ergänzt durch weitere Nukleotide aus BC 277497 bzw. BC 829651 und im Falle von DC2, d. h. des erfindungsgemäßen DC2-Homologens, ergänzt durch weitere Nukleotide aus BC 280723 bzw. BC 93504. Die relative Anordnung der vorstehend genannten Klone ist in Fig. 11 dargestellt.

Weiterhin sind die erfindungsgemäßen Nukleinsäuren solche Nukleinsäuren, die für ein Polypeptid codieren, wobei das Polypeptid eine Sequenz aufweist bzw. umfasst, wie sie hierin mit einer oder mehreren der „SEQ. ID. No.“ bezeichnet werden. Schließlich sind erfindungsgemäße Nukleinsäuren auch jene, die ein oder mehrere Exons und/oder ein oder mehrere der Introns einer oder mehrerer der hierin offenbarten erfindungsgemäßen Nukleinsäuren umfassen.

Die erfindungsgemäßen Polypeptide, die hierin auch kurz als Polypeptide bezeichnet werden, sind insbesondere Translationsprodukte eines oder mehrerer der erfindungsgemäßen Nukleinsäuren.

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

38

ren. Dabei können die Translationsprodukte vollständig oder verkürzt vorliegen. Diese Translationsprodukte werden hierin entweder allgemein als Translationsprodukt, unabhängig von der Anzahl, oder als erfindungsgemäßes Translationsprodukt bezeichnet. Erfindungsgemäße Translationsprodukte oder Polypeptide im Sinne der vorliegenden Erfindung sind insbesondere jene Teile der entsprechenden Polypeptide, die Teil einer Domänenstruktur sind, insbesondere einer solchen Domäne, die in einem zellulären System extrazellulär vorhanden ist.

Die für die erfindungsgemäßen Nukleinsäuren, insbesondere für das erfindungsgemäße CAT-Homologe sowie DC2-Homologe, welche im Stand der Technik als solche nicht bekannt sind, sowie PKCgamma werden durch die folgenden Nukleinsäuresequenzen gekennzeichnet bzw. dargestellt: Die genomische Sequenz aus 19q13.4, beginnend auf Cosmid 15841, fortlaufend über BAC 280723, endet mit dem letzten bp von BAC 829651. Die Sequenzen sind mit den Zugangsnummern (Accession numbers) AC011453 (BAC280723), AC008753 (BAC 829651) veröffentlicht. Die Länge dieser genomischen Sequenz beträgt 293395 Basenpaare. Die für den C-Terminus für PKCgamma codierende Nukleinsäuresequenz kann dabei wie folgt gekennzeichnet bzw. dargestellt werden: Die genomische Sequenz entstammt 19q13.4 und wird beschrieben in der unter der Zugangsnummer AC008440 hinterlegten Sequenz. Diese liegt unterhalb bzw. überlappend von BAC 829651. Die Länge der Nukleinsäure beträgt 243085 Basenpaare. Die für den C-Terminus von PKCgamma codierende Nukleinsäuresequenz kann weiterhin durch die folgenden Sequenzen charakterisiert werden: Die genomische Sequenz entstammt aus 19q13.4 und ist mit der Zugangsnummer AC022318 hinterlegt und liegt unterhalb bzw. überlappend von der Sequenz in BAC 829651. Die Gesamtlänge der Sequenz beträgt 191422 Basenpaare.

Die hierin offenbarten Sequenzen umfassen insbesondere humane Sequenzen, wobei :

- SEQ. ID. No. 1: einem EST (Acc No. BE 564764) des CAT-A bzw. CAT-A1,
- SEQ. ID. No. 2: einem EST (Acc. No. BF 029168) des CAT-A bzw. CAT-A1,
- SEQ. ID. No. 3: einem EST (Acc. No. AF201937) des humanen DC2-Gens,
- SEQ. ID. No. 4: einem EST (Acc. No. BE 271492) des humanen DC2-Gens,
- SEQ. ID. No. 5: einem EST (Acc. No. AF 345987) des humanen PKCG-Gens,
- SEQ. ID. No. 6: einem EST (Acc. No. X 625337) des humanen PKCG-Gens entspricht, und
- SEQ. ID. No. 7: cDNA-Sequenz des CAT-homologen Gens auf 19q13.4, Länge 647 bp,

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

39

- SEQ. ID. No. 8: cDNA-Sequenz des DC2-homologen Gens auf 19q13.4 (erfindungsgemäße Sequenz), Länge 749 bp; und
- SEQ. ID. No. 9: cDNA-Sequenz des PKCgamma-homologen Gens auf 19q13.4, Länge 3457 bp, fast 100%ige Homologie soweit vergleichbar, zusammengesetzt aus Acc. No. X625337 und AF345987, und
- SEQ. ID. No. 10: die cDNA des hierin als CAT-A offenbarten, CAT-homologen Gens,
- SEQ. ID. No. 11: die cDNA-Sequenz einer Splice-Variante von CAT-A, hierin als CAT-A1 bezeichnet,
- SEQ. ID. No. 12: die genomische Sequenz von CAT-A bzw. CAT-A1;
- SEQ. ID. No. 13: die Aminosäuresequenz von CAT-A Leserahmen (ORFstart1),
- SEQ. ID. No. 14: die Aminosäuresequenz von CAT-A Leserahmen (ORFstart2),
- SEQ. ID. No. 15: die Aminosäuresequenz von CAT-A Leserahmen (ORF3),
- SEQ. ID. No. 16: die genomische Sequenz des erfindungsgemäßen DC2-Gens bezeichnet, welches homolog ist zu dem im Stand der Technik bekannten DC2-Gen, mithin eine weitere Form der Familie der DC2-Gene darstellt;
- SEQ. ID. No. 17: die cDNA-Sequenz des DC2-homologen Gens bzw. der Sequenz gemäß SEQ. ID. No. 16;
- SEQ. ID. No. 18: die genomische Sequenz von PKCG; und
- SEQ. ID. No. 19: die cDNA von PKCG, mithin von SEQ. ID. No. 18 ist.

Es ist im Rahmen der vorliegenden Erfindung, dass jegliche hierin für eine oder mehrere der erfindungsgemäßen Polypeptide bzw. der davon, wie hierin offenbart, abgeleiteten Verbindungen, wie kleine Moleküle, bindende Peptide, Antikörper, Anticaline und funktionale Nukleinsäuren, offenbarte Verwendung grundsätzlich auch für die jeweils anderen vorstehend genannten Moleküle oder Verbindungen hiermit offenbart ist.

Die Erfindung wird im folgenden anhand der Figuren und Beispiele sowie dem Sequenzprotokoll erläutert, woraus sich weitere Merkmale, Ausführungsformen und Vorteile der Erfindung ergeben. Dabei zeigt:

Fig. 1 eine Metaphase der Zelllinie S 141.2 mit t(2;19)(p12;q13) nach G-banding, wobei die Chromosomen 19, der(19) und der(2) mit einem Pfeil markiert ist (a); Fig. 1(b) die selbe Me-

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

40

taphase nach FISH mit dem BAC-Klon 280723 (die Hybridisierungssignale sind auf den Chromosomen 19 der(19) und der(2) lokalisiert);

Fig. 2 eine schematische Darstellung der Bruchpunkt-Cluster-Region in benignen Schilddrüsentumoren mit 19q13-Abberationen. Die FISH-Mapping – Daten der in der Studie getesteten sechs Tumoren zeigen, dass die Bruchpunkte der benignen Schilddrüsentumoren mit 19q13-Translokationen in der Region etwa 150 kbp 3' zu RITA kartieren. Die Cosmid-, BAC- und PAC-Klone stimmen überein mit der physikalischen Karte des Chromosoms 19 des Lawrence Livermore National Laboratory. Die eingekreisten Zahlen verweisen auf die neu etablierte STS-Marker RSTS1-RSTS 10 (zum Vergleich siehe Tab. 2);

Fig. 3 die Ergebnisse einer Northern-Blot-Hybridisierung an RNA, die aus Schilddrüsenadenom-Zelllinie S121/SV40 und Fibroblasten isoliert wurde, unter Verwendung einer 1092 bp cDNA-Sonde von Exon 1 bis Exon 5. Die 5.5 kb – und 6.2 kb-Transkripts wurden in den Fibroblasten und der AdenomZelllinie gefunden; und

Fig. 4 die genomische Lage des CAT-A-Gens;

Fig. 5 die genomische Organisation von CAT-A;

Fig. 6 eine Organisationsskizze der mRNA von CAT-A;

Fig. 7 die verschiedenen offenen Leserahmen, so wie hierin als ORFstart1, ORFstart2 und ORF3 bezeichneten offenen Leserahmen mit möglichen Aminosäureabfolgen;

Fig. 8 die Lage des PKCG-Gens;

Fig. 9 einen Northern Blot zum Nachweis von PKCG an Schilddrüsenkarzinom-Zellen und Schilddrüsen-Normalgewebe;

Fig. 10 das Ergebnis einer semiquantitativen RT-PCR des PKCG-Gens;

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

41

Fig. 11 eine Darstellung der verschiedenen, hierin erstmalig beschriebenen Gene oder Gensequenzen betreffend CAT-A bzw. CAT-A1, das DC-2-Homologe und Proteinkinase Cgamma;

Fig. 12 das Ergebnis einer Transmembran-Domänenanalyse mittels des Programmes DAS des Genproduktes von ORFstart1;

Fig. 13 das Ergebnis einer Transmembran-Domänenanalyse mittels des Programmes DAS des Genproduktes von ORFstart2;

Fig. 14 das Ergebnis einer Transmembran-Domänenanalyse mittels des Programmes DAS des Genproduktes von ORF3;

Fig. 15 die cDNA von CAT-A;

Fig. 16 die Protein- oder Aminosäuresequenz von ORFstart1 von CAT-A-cDNA;

Fig. 17 die Protein- oder Aminosäuresequenz von ORFstart2 von CAT-A-cDNA;

Fig. 18 die Protein- oder Aminosäuresequenz von ORF3 von CAT-A-cDNA;

Fig. 19 die cDNA von CAT-A1;

Fig. 20 die genomische Organisation bzw. Sequenz von CAT-A bzw. CAT-A1 mit weitergehenden Sequenzinformationen;

Fig. 21 die cDNA von CAT-A mit weitergehenden Sequenzinformationen;

Fig. 22 die genomische Sequenz des erfindungsgemäßen DC2-homologen Gens;

Fig. 23 die genomische Sequenz des erfindungsgemäßen DC2-homologen Gens mit weitergehender Sequenzinformation;

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

42

Fig. 24 die cDNA des DC2-homologen Gens mit weitergehenden Sequenzinformationen;

Fig. 25 die cDNA von PKCG mit weitergehenden Sequenzinformationen; und

Fig. 26 die genomische Sequenz von PKCG mit weitergehenden Sequenzinformationen.

Beispiel 1: Cytogenetische Analyse von Schilddrüsenhyperplasien und Schilddrüsenadenomen

Schilddrüsenhyperplasien und Adenome gehören zu den häufigen Veränderungen des Schilddrüsenepithels. Dabei kann man zwischen Läsionen mit klonalen Chromosomenveränderungen und solchen mit anscheinend normalem Karyotyp unterscheiden. Die zytogenetischen Veränderungen stehen mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit mit der Tumorgenese in Zusammenhang. Bei unseren Untersuchungen konnten wir in etwa 20% der Fälle klonale Aberrationen feststellen. Veränderungen in der chromosomalen Bande 19q13 stellen dabei die häufigste strukturelle Aberration dar. Die Bedeutung der Translokation für die Entstehung und Progression der Schilddrüsentumoren ist bisher nicht bekannt. Wir konnten durch molekulargenetische Untersuchungen zeigen, dass die Bruchpunkte bei Translokationen des Chromosoms 19 in der Bande q13 in einem genomischen Bereich von 150 kbp klustern.

Zellkultur und Chromosomenanalyse erfolgten nach der schon für pleomorphe Adenome der Ohrspeicheldrüse beschriebenen Methode (Bullerdiek et al., 1987). Die Beschreibung der Karyotypen erfolgte nach der ISCN von 1995. Die Zelllinien wurden durch Transformation mit einem Konstrukt, das die SV40 "early region" enthält, erhalten (Belge et al., 1992). Zwei neue Zelllinien wurden aus den Primärtumoren S172 und S290.1 hergestellt. Diese Zelllinien und vier Primärtumoren wurden in FISH-Studien eingesetzt. Die Karyotyp-Beschreibungen sind in Tabelle 1 zusammengefasst. Für die Lokalisation des Bruchpunkts wurde der PAC-Klon 13174 (Genome Systems, USA), die Cosmid-Klone 15841 und 29573, und die BAC-Klone 41372, 28072 und 829651, die nach der Lawrence Livermore National Laboratory (LLNL) Nomenklatur beschrieben sind (Ashworth et al., 1995). Die Cosmid-Klone wurden aus der humanen Chromosom-19-spezifischen "flow-sorted" Cosmid-Library des LLNL erhalten (deJong et al., 1998; Trask et al., 1992; Ashworth et al., 1995) verwendet. Die BAC-Klone stammen aus der humanen Library

CIT-HSPC und wurden durch das LLNL isoliert. Cosmid- und BAC-Fragmente wurden mit EcoRI verdaut, in 0.8%igen Agarose-Gelen aufgetrennt, aus dem Gel ausgeschnitten, mit Hilfe der Glaskugel-Technik (QIAExII, QIAGEN, Hilden, Deutschland) aus dem Gelstück isoliert und in den pGEM11zf(+)-Vektor kloniert (Promega, Mannheim, Deutschland). Plasmid-, Cosmid-, PAC- und BAC-DNA wurde mit Hilfe einer Standard-Methode für alkalische Lyse isoliert und über Anionen-Austauscher-Säulen aufgereinigt (QIAGEN, Hilden, Deutschland). DNA-Verdau erfolgte nach Standard-Verfahrensweisen unter Berücksichtigung von Herstellerangaben. Die Sequenzierung erfolgte auf einem 373 DNA Sequenzierer (Applied Biosystems, Weiterstadt, Deutschland) unter Benutzung von Vektor-spezifischen und Insert-spezifischen Primern. Für die positionelle Lokalisierung der STSs, Cosmide, PACs und BACs wurde deren DNA mit den Restriktionsenzymen EcoRI, BamHI bzw. HindIII verdaut, in 0.8%igen Agarose-Gelen aufgetrennt und auf Nylonmembranen des Typs Hybond N+ (Amersham Pharmacia, Freiburg, Deutschland) transferiert. Als Sonden dienten PCR-amplifizierte, mit DIG-dUTP (Roche; Mannheim, Deutschland) markierte STS- bzw. Plasmid-DNAs. Die Markierung erfolgte über zufällige (random-primed) Inkorporation des DIG-dUTPS in die DNA. Für sowohl die Prähybridisierung als auch für die Hybridisierung wurde die ExpressHyb Hybridisierungslösung (Clontech Laboratories, Palo Alto, USA) benutzt. Die Visualisierung der Sonden erfolgte über Chemilumineszenz (Roche, Mannheim, Deutschland). Die Polymerasekettenreaktion (PCR) wurde mit den Temperaturen und Primern, wie sie in Tabelle 2 aufgeführt sind, durchgeführt. PCR-Analysen erfolgten nach Standard-Verfahrensweisen. Etwa 60 ng Template-DNA wurden in einem Volumen von 50 µl mit 400 ng jedes Primers, 300 µM dNTPs, 1×PCR-Puffer (enthält 1.5 mM MgCl₂) und 2.5U AmpliTaq (Perkin Elmer Applied Biosystems, Weiterstadt, Deutschland) amplifiziert. Die PCR-Produkte wurden auf 1.5%igen Agarose-Gelen aufgetrennt, aus dem Gel geschnitten, mit Hilfe der Glaskugel-Technik (QIAExII, QIAGEN, Hilden, Deutschland) aus dem Gel isoliert und in den pCR2.1-Vektor (Invitrogen, San Diego, CA) kloniert. Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierungs (FISH)-Analysen erfolgten nach einer GTG-Bänderung der gleichen Metaphasen. Die Behandlung der Metaphasen mit anschließenden FISH-Studien erfolgte nach dem Protokoll von Kievits et al. (1990). Für die Sondenherstellung wurde Cosmid-, PAC- und BAC-DNA über die Methode der Nick-Translation mit biotin-14-dATP (Gibco BRL, Life Technologies GmbH, Eggenstein, Deutschland) markiert. Pro Cosmid-, PAC- bzw. BAC-Sonde wurden 20 Metaphasen, mit Ausnahme des Falls S532.1, bei dem nur 2 Metaphasen ausgewertet werden konnten, untersucht. Die Chromosomen wurden mit Propidium Iodid gegengefärbt, auf einem Zeiss Axiophot Fluoreszenz Mikroskop mit Hilfe eines FITC-Filters (Zeiss Oberkochen, Deutschland) analysiert und mit

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

44

dem Power Gene Karyotyping System (PSI, Halladale, U.K.) aufgenommen. Die FISH-Studien wurden an vier Primärtumoren der Schilddrüse (S476.1, S141.2, S172, S532.1) und an zwei Zelllinien aus Schilddrüsenneoplasien durchgeführt. Die Zelllinien wie die Primärtumoren weisen eine Veränderung in der chromosomalen Bande 19q13 auf. Die Ergebnisse dieser Analysen zeigten, dass in allen Primärtumoren die Bruchpunkte in einer Region lokalisiert sind, die von dem BAC-Klon 280723 überspannt wird. Mit diesem BAC-Klon wurden Signale sowohl auf dem normalen Chromosom 19 als auch auf den beiden derivativen Chromosomen erhalten. Bei weiterführenden FISH-Untersuchungen wurden mit den Cosmiden 15841 und 29573, PAC 13174 und BAC 41372 Signale proximal zu den Bruchpunkten erhalten, wohingegen der BAC 829651 distal zu den Bruchpunkten Signale zeigte. Die Zelllinie aus dem Primärtumor S172, d.h. Zelllinie S172/SV40, wies nach einer Hybridisierung mit dem BAC-Klon 280723 ebenfalls Signale auf dem normalen Chromosom 19 sowie auf beiden derivativen Chromosomen auf. Die Zelllinie S290.1/SV40 zeigte bei Hybridisierung mit dem PAC-Klon 13174 Signale auf den derivativen Chromosomen und auf dem normalen Chromosom 19. Dies bedeutet, dass der Bruchpunkt in Chromosom 19 bei allen untersuchten Tumoren in einem Segment von etwa 150 kbp, entsprechend der Sequenz zwischen dem Cosmid 15841 und dem BAC-Klon 829651, lokalisiert ist. Zur weiteren Charakterisierung der Region wurden die BAC-Klone 93504, 41372, 280723 und 829651 (LLNL), der PAC-Klon 13174 (Genome Systems, USA) und die Cosmid-Klone 30316, 15841, 29573 und 20019 (LLNL) mit Hilfe der Restriktionskartierung und Hinzunahme von Sequenzierungsdaten in einem Contig zusammengefügt. Aus diesen Sequenzdaten wurden zehn neue STSs hergestellt, die entweder durch Sequenzierung der Insert-Enden bei Plasmiden oder Cosmiden bzw. durch internes Sequenzieren bei BAC-, PAC- und Cosmid-Klonen erhalten wurden. Oligonukleotid-Sequenzen für diese PCR-Ansätze sowie die Produktgrößen der PCR-Amplifikate sind in Tabelle 2 aufgelistet. Der Contig umfaßt 470 kbp in der Länge, drei der STSs liegen innerhalb der Bruchpunktregion, eins liegt unterhalb und sechs STSs sind proximal zum Bruchpunkt lokalisiert.

In unmittelbarer Umgebung bzw. innerhalb der Bruchpunktregion wurden über Sequenzanalyse-Verfahren Sequenzhomologien zu drei ESTs gefunden. Ein Vergleich der ESTs mit der genomischen Sequenz der Region erlaubte die Rekonstruktion der Struktur dieser Gene. Ein EST (accession no. BE271492, AF201937) liegt innerhalb der 150 kbp-Bruchpunktregion, d.h. zwischen den Cosmid-Klonen 15841 und 29573. Die cDNA von BE271492 wurde aus der Ovarial-Adenokarzinom-Zelllinien-Library NIH_MGC_9 isoliert. Die cDNA von AF201937 wurde aus

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

45

dendritischen Zellen isoliert (s. Genbank-Eintrag zu AF201937). Sie enthält 3 Exons, 469, 250 und 80 bp lang, die durch ein ca. 320 bp und ein ca. 340 bp langes Intron getrennt sind. Dieses Gen ist in Richtung Telomer orientiert. Die Exons weisen etwa 95 - 85 % Homologie mit Sequenzen der Bruchpunktregion auf. Die mRNA dieses Gens codiert für ein Protein, DC2, das ubiquitär exprimiert wird. Die cDNA des Gens konnte aus verschiedensten Gewebetypen wie Fettgewebe; Hirn, Darm, Auge, Herz, Leber, Niere, Schilddrüse, Testis, Haut; usw. isoliert werden.

Ein anderes EST (BE564764, BF029168) beginnt etwa 4kb upstream des STS-Markers RSTS5, auf dem Cosmid-Klon 15841. Beide ESTs stammen aus der Library NIH_MGC_53, die aus einer Blasen_Karzinom-Zelllinie hergestellt wurde. Die Orientierung der ESTs richtet sich gegen das Centromer, und damit liegt dieses Gen mit seinem 3'UTR noch innerhalb der Bruchpunktregion. Bei Vergleich mit der genomischen Region konnte eine Exon/Intron-Struktur aufgezeigt werden. Dieses Gen erstreckt sich, soweit aus den Sequenzdaten ersichtlich, über mindestens 5 kbp. Die ersten drei Exons weisen eine 100%ige Homologie mit der verglichenen genomischen Sequenz auf, Exons 4 und 5 wiesen eine Homologie von 93% bzw. 68% auf. Diese ESTs weisen über eine Strecke von 110 bp eine 85%ige Homologie mit dem Gen für den Kationischen Aminosäure-Transporter (cationic amino acid transporter (CAT)) von *rattus norvegicus* auf. Die Introns variieren in einer Größe von ca. 500 bp bis etwa 2 kbp.

Ein drittes EST (AF345987, X62533) wurde unterhalb des Bruchpunkt gefunden. Die Homologie zu der genomischen Sequenz unterhalb des Bruchpunktbereichs beträgt soweit vergleichbar annähernd 100%. Die Orientierung des zugehörigen Gens richtet sich gegen das Centromer. Dieses Gen kodiert für die Protein Kinase C gamma. Das erste bekannte Exon beginnt etwa 145 kbp downstream der Bruchpunktregion. Auf diesem Exon liegt der Startpunkt für die Translation etwa 1100 bp upstream des Exons. Ein alternativer Startpunkt liegt etwa 1600 bp upstream der bekannten Sequenz. Ein Vergleich mit der genomischen Sequenz erlaubte die Erstellung einer Intron/Exon-Struktur. Soweit aus den Daten ersichtlich besteht dieses Gen aus mindestens sechs Exons. Es wird erwartet, dass 5' der bekannten Sequenz, d.h. in Richtung des Bruchpunktbereiches, noch weitere Exons liegen. Bei den ersten beiden Introns kann bereits eine Größenabschätzung mit etwa 500 bp für Intron 1 und etwa 1000 bp für Intron 2 abgegeben werden. PKCgamma cDNA konnte bisher aus Hirn-, Magengewebe, Leukozyten isoliert werden.

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

46

Die cDNA bzw. mRNA-Sequenzen aller o.g. ESTs wurden in einem Virtual Northern (SAGE, serial analysis of gene expression; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SAGE/>) auf Expression überprüft. Bei dieser Online-Analyse werden ausgewählte Sequenzen der ESTs (Tags) mit den in Libraries geordneten Sequenzen verglichen. Obwohl diese Ergebnisse eher die Häufigkeit des Tags und weniger die tatsächliche Genexpression repräsentieren, ist sie doch ein verlässliches Instrument für erste Evaluationen. Tags von den ESTs BE271492 und AF201937 (DC2) sind in vielen Libraries vorhanden, besonders starke "Expression" findet sich in Libraries aus Medulloblastomen, Mamma-Adenokarzinomen, normalen vascularen Endothelium-Zelllinien, normaler Haut und Prostata Karzinomen. Tags von den ESTs AF345987 und X62533 (PKCgamma) wurden nur in zwei Libraries gefunden, die aus normalem Hirn bzw. Astrocytoma-Zelllinien hergestellt wurden. Tags der ESTs BE564764 und BF029168 konnten nicht in den Libraries gefunden werden.

Ashworth LK, Batzer MA, Brandriff B, Brandscomp E, de Jong P, Garcia E, Games JA, Gordon LA, Lamardin JE, Lennon G, Mohrenweiser H, Olsen AS, Slezak T, Carrano AV: An integrated metric physical map of human chromosome 19. *Nature Genet* 11:422-427 (1995).

de Jong PJ, Yokabata K, Chen C, Lohman F, Pederson L, McNinch J, van Dilla M: Human chromosome-specific partial digest libraries in lambda and cosmid vectors. *Cytogenet Cell Genet* 51:985 (1985).

Bullerdiek J, Bösch C, Bartnitzke S: Aberrations of chromosome 8 in mixed salivary gland tumors: cytogenetic findings on seven cases. *Cancer Genet Cytogenet* 24:205-212 (1987).

Belge G, Kazmierczak B, Meyer-Bolte K, Bartnitzke S, Bullerdiek J: Expression of SV40 T-antigen in lipoma with a chromosomal translocation t(3;12) is not sufficient for direct immortalization. *Cell Biol Int Rep* 16:339-347 (1992).

ISCN (1995): An International System for Cytogenetic Nomenclature. Mitelman F (ed.) (S Karger, Basel 1995).

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

47

Kievits T, Dauwerse JG, Wiegant J, Devilee P, Breuning MH, Cornelisse CJ, van Ommen GJB, Pearson PL: Rapid subchromosomal localization of cosmids by nonradioactive in situ hybridization. *Cytogenet Cell Genet* 53:134-136 (1990).

Trask B, Christensen M, Fertitta A, Bergmann A, Ashworth L, Branscomp E, Carrano A, Van den Engh G: Fluorescence in situ hybridization mapping of human chromosome 19: Mapping and verification of cosmid contigs formed by random restriction enzyme fingerprinting. *Genomics* 14:162-167 (1992).

Tabelle 1: Anordnung der DNA-Sonden (Cosmid, PAC, BAC), die für die FISH-Studien an vier benignen primären Schilddrüsentumoren und zwei SV40-transformierten Zelllinien, die von benignen Schilddrüsentumoren abgeleitet wurden, verwendet wurden, zeigen alle Abberationen, die die Bande 19q13 betreffen.

Tumor-Nr	DNA-Sonde	Translokation	Stelle von FISH-Signalen relativ zum Bruchpunkt
S141.2	c15841	t(2;19)(p12;q13)	proximal
	c29573		proximal
	BAC 41372		proximal
	BAC 280723		überspannend
	BAC 829651		distal
	PAC 13174		proximal
S172	c29573	t(2;19)(p12;q13)	proximal
	BAC 41372		proximal
	BAC 280723		überspannend
	BAC 829651		distal
	PAC 13174		proximal
S476.1	c29573	t(5;19)(q13;q13)	proximal
	BAC 41372		proximal

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

48

BAC 280723	überspannend
BAC 829651	distal
PAC 13174	proximal
S172/SV40 BAC 280723 t(2;19)(p13;q13)	überspannend
BAC 829651	distal
S290.1/SV40 c30316 t(11;19)(q23;q13)	proximal
c15841	proximal
BAC 41372	proximal
PAC 13174*	überspannend
BAC 829651	distal
S532.1 BAC 280723 t(14;19)(q22;q13)	überspannend

Tabelle 2: Primer für PCR-Amplifikation von STS-Markern, die physikalisch kartiert wurden.

Marker GenBank	Vorwärts	Produkt
Zugangsnummer	Primer Umgekehrt	(bp)
Primer		
RSTS1G64894	TCCTGGCTCATAATTCCATAACCCCTGGT	423
	GTGCGCCACCTTTTCAGAGTTCTTTGT	
RSTS2G64900	TTATGCCTGATTGAGTGAAGTCTTTTC	397
	CGGCTGCCTCTAACATACGGAAGATTC	
RSTS3G64895	GAGGCTGACGCGGCGGCTCTATCTC	113
	AGCGGTTGCGTCACCGGTGAGAAG	
RSTS4AF260531	ATATACGTGTATCAGTTTCAGAAATGC	188
	TATTTTAAAGTCAGACATGAAAAGG	
RSTS5AF260970	GGGCCAGGAAAATGCACGGAAGTGAAG	360
	CCCGGGCTTGTGGAATTAAGTGAAG	
RSTS6G64896	TTATGTGGGCCCCAAACCTACTGATACTC	

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

49

```

                CTCATGCCCATAAACCCCTAAATTCCTTGT 385
RSTS7G64897    GCCTGCTAAGCCTCTGTGCCTAGTAAAG
                GGTATCAGAAAGGTACAATCCCTATGTCTC 189
RSTS8G64901    CCCAAAAGATCCCAAGTCCAGGCAGAAAG
                CCTGGGAAGCTCACAAGGGTGAAGAC 397
RSTS9G64898    GTACATTGGCATCCGCAGGGGTAAC
                CCTCTCAAGGCGTGCTTTTTCGTAAGA 406
RSTS10      G64899    AGCCCGCTCGTATCTATGG
                TGAGGACTACTTGGGCACAGG 301

```

Beispiel 2: Charakterisierung eines humanen CAT-homologen Gens

Bei der Charakterisierung der in der Bruchpunkt-Region von Schilddrüsentumoren auftretenden Gene wurde ein neues humanes Gen gefunden, welches, auf der Grundlage der entsprechenden Sequenzen von *Rattus norvegicus*, zu den CAT-Genen homolog ist. CAT-Gene sind solche Gene, die für Transporter-Proteine von kationischen Aminosäuren codieren. Das durch die vorliegenden Erfinder entdeckte Gen wird hierin im folgenden als CAT-A bzw. CAT-A1 bezeichnet. CAT-A1 stellt dabei eine Splice-Variante von CAT-A dar, wie im folgenden weiter belegt werden wird.

Das CAT-A- bzw. CAT-A1-Gen liegt genau in der Region q13.4 des menschlichen Chromosoms 19. Es liegt teilweise in der Bruchpunktregion des Schilddrüsentumors. Das CAT-A/A1-Gen liegt im BAC CTB-167G5 (BC93504) mit der Genbanknummer AC011487. Die Genrichtung zeigt zum Zentromer, d. h. das 3'-Ende liegt zum Zentromer her organisiert.

Eine Übersicht der Lage von CAT-A findet sich in Fig. 4.

Die mRNA von CAT-A wird derzeit mit 1437 Nukleotiden angegeben und ist als cDNA in SEQ. ID. No. 10 dargestellt. Dabei ist anzumerken, dass CAT-A und CAT-A1 zur Zeit wesentlich kürze sind als die Mitglieder der humanen CAT-Familie.

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

50

Beispiel 3: Genomische Organisation von CAT-A

Die genomische Organisation von CAT-A und seiner Splice-Variante CAT-A1 ist in Fig. 4 dargestellt. Die genomische DNA-Sequenz des hierin erstmals offenbarten Homologen zu dem im Stand der Technik bereits bekannten humanen DC2 wird mit einer Länge von 5278 Basenpaaren angegeben. Dabei ist anzumerken, dass das 5'-Ende zur Zeit noch nicht bestimmt wurde. Es ist jedoch möglich, ausgehend von der hierin angegebenen Offenbarung, eine weitere Sequenzierung vorzunehmen und insoweit die Sequenz zu komplementieren. Andererseits wird von den Fachleuten anerkannt werden, dass auf der Grundlage der hierin gegebenen Informationen eine Vervollständigung möglich ist und insbesondere die verschiedenen Vertreter der Verbindungsklassen der Peptide, Proteine, Antikörper, Anticaline und funktionalen Nukleinsäuren auf der Grundlage der hierin gegebenen Offenbarung bereits hergestellt bzw. selektiert werden können.

Im Falle von CAT-A sind insgesamt 4 Exons bekannt, wobei Exon 1 312 Basenpaare lang ist, Exon 2 167 Basenpaare, Exon 3 108 Basenpaare und Exon 4 850 Basenpaare.

CAT-A1 besitzt dagegen fünf Exons, die dadurch entstehen, dass Exon 4 eine alternative Splice-Stelle umfasst. Insoweit sind die Exons 1 bis 3 von CAT-A1 identisch mit den ersten drei Exons von CAT-A. Das vierte Exon von CAT-A1, d. h. Exon 4a, ist jedoch lediglich 200 Basenpaare lang und Exon 5 von CAT-A1 381 Basenpaare.

Charakterisierung der mRNA für CAT-A

Die Länge der CAT-A mRNA wird derzeit mit 1437 Nukleotiden angegeben. Dabei existieren zwei Leserahmen, für die jeweils ein Startcodon existiert. Die beiden Leserahmen und die Translationsprodukte davon werden hierin auch als ORFstart1 und ORFstart2 bezeichnet. Ein dritter, ebenfalls in CAT-A enthaltener Leserahmen, hierin als ORF3 bezeichnet, besitzt kein Startcodon, d. h. die Sequenzierung ist derzeit noch nicht in dem Umfang fortgeschritten, als dass dieses eindeutig hätte identifiziert werden können, und beinhaltet ORFstart2. ORF3 und ORFstart2 besitzen somit das gleiche Leseraster.

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

51

Charakterisierung der CAT-A1 mRNA

Die CAT-A1-mRNA weist derzeit eine Länge von 1168 Nukleotiden auf. Sie unterscheidet sich von der CAT-A mRNA durch ein unterschiedliches 3'-Ende, das jedoch möglicherweise nicht codiert. Die Sequenz hierzu ist als SEQ. ID. No. 11 hierin offenbart.

Beispiel 4: Charakterisierung der verschiedenen Leserahmen der CAT-A mRNA1. Charakterisierung des Leserahmens ORFstart1

Unter Verwendung von insgesamt 3 verschiedenen Softwareprogrammen wurden mögliche Transmembran-Domänen der verschiedenen Leserahmen bestimmt. Die entsprechenden Softwareprogramme sind dabei „DAS“-Transmembrane Prediction, das über die folgende URL-Adresse geladen werden kann: <http://www.sbc.su.se/~miklos/DAS/>. Dieses Verfahren wurde von Cserzo et al. entwickelt (M. Cserzo, E. Wallin, I. Simon, G. von Heijne and A. Elofsson: Prediction of transmembrane alpha-helices in procariotic membrane proteins: the Dense Alignment Surface method; Prot. Eng. vol. 10, no. 6, 673-676, 1997).

Gemäß der in Fig. 12 dargestellten Ergebnisse weist der ORFstart1-Leserahmen zwei Transmembran-Domänen auf.

Ein weiteres Verfahren zur Bestimmung von Transmembran-Domänen wird durch den sogenannten HMMTOP-Server bereitgestellt. HMMTOP ist ein automatischer Server zum Vorhersagen von Transmembran-Helices und Topologien von Proteinen, wie sie von G.E. Tusnady vom Institute of Enzymology entwickelt wurden. Die entsprechende URL-Adresse lautet <http://www.enzim.hu/hmmtop/index.html>. Das Verfahren ist ebenfalls beschrieben in Tusnady, G.E. et al. (G.E. Tusnady and I. Simon (1998) Principles Governing Amino Acid Composition of Integral Membrane Proteins: Applications to Topology Prediction. J. Mol. Biol. 283, 489-506)

Das Ergebnis des HMMTOP-Servers betreffend den Leserahmen ORFstart1 kann wie folgt zusammengefasst werden. Auch hier werden zwei Transmembran Helices identifiziert und den Positionen 72 - 88 bzw. 95 - 112 zugeordnet. Der N-Terminus ist dabei nach außen, d. h. extrazellulär, angeordnet.

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

52

Ein weiteres Verfahren zur Vorhersage von Transmembran-Regionen ist das sogenannte TMPred-Programm. Der Algorithmus basiert auf einer statistischen Analyse von TMbase, einer Datenbank von natürlicherweise auftretenden Transmembranproteinen. Die Vorhersage wird durchgeführt unter Verwendung einer Kombination von mehreren gewichteten Matrices. Die entsprechend URL-Adresse lautet: www.ch.embnet.org/software/TMPRED_form.html. Das Verfahren ist auch beschrieben von Hofmann et al. (K. Hofmann & W. Stoffel (1993) TMbase – A database of membrane spanning proteins segments Biol. Chem. Hoppe-Seyler **374**,166).

Als Ergebnis der Anwendung von TMPred werden zwei Modelle betrachtet, die sich in der Anzahl der Transmembran-Helices unterscheiden. In einem eindeutig bevorzugten Modell ist der N-Terminus intrazellulär orientiert und umfasst drei starke Transmembran-Helices. Die Positionen 1 – 21 weisen dabei eine Orientierung von innen nach außen auf, die Aminosäuren der Positionen 66 – 87 eine Orientierung von außen nach innen und die Aminosäuren 95 – 114 eine Orientierung von innen nach außen.

Das alternativ vorgeschlagene Modell weist zwei starke Transmembran-Helices auf, wobei die erste Helix die Aminosäurepositionen 8 – 30 umfasst und die Orientierung von außen nach innen und die zweite Helix die Aminosäureposition 95 – 114 umfasst mit einer Orientierung von innen nach außen.

2. Charakterisierung des Leserahmens ORFstart2

Die von diesem Leserahmen codierte Aminosäuresequenz ist als SEQ. ID. No. 14 hierin angegeben.

Die Charakterisierung des Leserahmens ORFstart2 unter Anwendung der vorstehend beschriebenen drei Software-Programme zur Bestimmung von Transmembran-Helices ergab dabei das folgende Ergebnis:

Unter Anwendung des „DAS“-Transmembranprotein-Programmes wurden drei Transmembran-Helices ermittelt. Der N-Terminus ist dabei intrazellulär angeordnet. Die Länge der Aminosäuresequenz dieses Leserahmens beträgt 119 Aminosäuren.

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

53

Das Ergebnis der unter Anwendung des DAS-Programmes angewandten Analyse ist in Fig. 13 dargestellt.

Eine weitergehende Analyse des Leserahmens ORFstart2 unter Anwendung des HMMTOP-Servers ergab ebenfalls das Vorhandensein von drei Transmembran-Helices, nämlich im Bereich der Aminosäuren 38 – 57, 70 – 89 und 98 – 117.

Unter Anwendung des TMPred-Verfahrens wurden zwei mögliche Modelle wiederum betrachtet. Das stark bevorzugte Modell ergab dabei drei starke Transmembran-Helices, wobei die Helices von den Aminosäurepositionen 38 – 57 mit einer Orientierung von innen nach außen, von Aminosäurepositionen 69 – 90 mit einer Orientierung von außen nach innen und von Aminosäurepositionen 99 – 119 mit einer Orientierung von innen nach außen erstrecken.

Das Alternativmodell umfasst gleichfalls drei starke Transmembran-Helices, wobei dort für die Ausbildung der Helices die Aminosäuren der Positionen 38 – 58 eine Transmembran-Helix mit einer Orientierung von außen nach innen, die Aminosäurepositionen 72 – 90 mit einer Orientierung von innen nach außen und die Aminosäurepositionen 100 – 118 mit einer Orientierung von außen nach innen angegeben werden.

3. Charakterisierung des Leserahmens ORF3

Das von diesem Leserahmen codierte Protein ist hierin als SEQ. ID. No. 15 offenbart und umfasst insgesamt 140 Aminosäuren. Dieser Leserahmen weist eine 34 %-ige Homologie hinsichtlich der Aminosäuren 1 – 130 zu der drei Mitglieder umfassenden Familie der löslichen Carrier-Familie 7 (solute carrier family 7) (kationische Aminosäuretransporter, Y⁺-System) auf. Der entsprechende Genbankeintrag findet sich unter der Zugangsnummer Genbank Acc. AAL37184.

Eine weitere Homologie besteht hinsichtlich der Aminosäuren 107 – 130 zu dem ektropischen Retrovirus-Rezeptor von *Rattus norvegicus*. Hier wird eine Homologie von 62 % festgestellt. Diese Sequenz findet sich als Genbankeintrag BAB83893.

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

54

Eine Charakterisierung dieses Leserahmens unter Anwendung des DAS-Verfahrens ergab die Existenz von insgesamt drei Transmembran-Domänen. Das Analyseergebnis ist als Fig. 14 hierin dargestellt. Die Analyse unter Verwendung des HMMTOP-Programms ergab ebenfalls drei Transmembran-Helices, die von den Aminosäuren 59 – 78, 91 – 110 sowie 119 – 138 ausgebildet wurden.

Eine Analyse unter Anwendung von Tmpred schließlich ergab wiederum unter Zugrundelegung zweier Modelle drei starke Transmembran-Helices. In dem bevorzugten Modell werden diese ausgebildet von den Aminosäuren an den Positionen 79 – 80 mit einer Orientierung von innen nach außen, von 90 – 110 mit einer Orientierung von außen nach innen und von 120 – 140 mit einer Orientierung von innen nach außen.

Das alternative Modell weist ebenfalls drei starke Transmembran-Helices auf, wobei diese ausgebildet werden von den Aminosäuren an den Positionen 59 – 79 mit einer Orientierung von außen nach innen, von 93 – 111 mit einer Orientierung von innen nach außen und von Position 121 – 139 mit einer Orientierung von außen nach innen.

Im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung, insbesondere bei Verwendung der verschiedenen Translationsprodukte der erfindungsgemäßen Sequenzen bzw. der erfindungsgemäßen Polypeptide, wie sie, unter anderem, Gegenstand der Sequenzen SEQ. ID. No. 13 – 15 sind, können als Zielmoleküle fungieren. Dabei ist besonders beachtlich, dass es sich dabei um Transmembran-Proteine handelt, was insoweit von Bedeutung ist, als dass bei der Entwicklung von Molekülen der verschiedenen hierin diskutierten Verbindungsklassen, d. h. Peptiden, Proteinen, Antikörpern, Anticalinen und funktionalen Nukleinsäuren, aber auch kleinen Molekülen, die Zugänglichkeit von Teilen dieser Sequenzen insoweit besonders leicht gegeben ist, als dass Teile dieser Zielmoleküle extrazellulär angeordnet sind, wie sich aus den vorstehenden Beschreibungen der Transmembran-Domänen ergibt.

Beispiel 5: Überexpression von PKCG in Schilddrüsenkarzinomzellen

Unter Anwendung einer semiquantitativen PCR und einer Northern Blot-Analyse wurde untersucht, inwieweit in Schilddrüsenkarzinomzellen PKCG überexprimiert wurde.

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

55

Die Durchführung der semiquantitativen RT-PCR erfolgte an cDNA des anaplastischen Schilddrüsenkarzinoms S227, der Schilddrüsenadenom-Zelllinie S40.2, normalen Schilddrüsengewebes, der Zelllinie HeLa, der Mammarkarzinom-Zelllinie MCF-7 und der Zelllinie EFM-19.

Als Primer wurden HPKCGup1 (5'-cttggccctctctctccacac-3') und HPKCGlo2 (5'-gggacggctgttagagctgtatggagttcagaag-3') verwendet, die auf mRNA-Ebene den 2091bp open reading frame von PKC γ einschließen und ein Fragment von 2424bp amplifizieren.

Zum Vergleich der RT-PCR des PKC γ -Gens wurde parallel eine RT-PCR an cDNA der oben genannten Gewebe mit den GAPDH-Primern GAPDH2 (5'-gtgaagtcggagtaacg-3') und GAPDH3 (5'-ggtagaagcgcagtgagc-3') durchgeführt, die ein Produkt von 299bp amplifizieren. Die Ansätze (50 μ l Gesamtvolumen pro Ansatz) enthielten 2 μ l cDNA, 5 μ l 10xPCR-Puffer, jeweils 1 μ l Primer, 1 μ l 2mM dNTP-Mix, 1,5 μ l 15mM MgCl₂ und 0,5 μ l Taq-Polymerase sowie 38 μ l bidest. H₂O.

Die RT-PCR-Bedingungen waren für die genannten Primer-Paare (HPKCGup1/lo2 und GAPDH2/3) dieselben mit Ausnahme der Annealing-Temperaturen (HPKCGup1/lo2: 68°C; GAPDH2/3: 52°C bei jeweils 30sek.) und betragen für die Denaturierung 95°C (30sek.) sowie für die Extension 72°C (45sek.). Insgesamt erfolgten diese Schritte in 35 Zyklen. Vor Beginn erfolgte eine einmalige Denaturierung bei 95°C (3min.) und abschließend eine zusätzliche Extension bei 72°C für 10min.

Der Nachweis der RT-PCR erfolgte gelelektrophoretisch.

Die Northern Blot-Analyse wurde wie folgt durchgeführt:

Als molekulare Sonde wurde ein 2,4kbp PKC γ spezifisches Fragment, welches den ORF einschließt, verwendet. Die radioaktive Markierung mit ³²P erfolgte nach dem Prinzip der „random primer extension“. Nach einer Prähybridisierung der Membran in ExpressHyb™ Hybridisierungslösung (Clontech Laboratories, Palo Alto, U.S.A.) für 30 min bei 68°C erfolgte die Hybridisierung der Membran mit 100ng Sonde in ExpressHyb™ Hybridisierungslösung für 60 min bei 68°C. Danach wurden die Membran zweimal für 20 min bei Raumtemperatur in 2 x SSC / 0.05 % SDS und viermal für 10 min bei 50°C in 0.1 x SSC / 0.1 % SDS gewaschen. Die Signale

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

56

wurden auf einem STORM Phosphorimager (Molecular Dynamics, Sunnyvale, U.S.A.) detektiert.

Das Ergebnis hinsichtlich der Northern Blot-Analyse ist in Fig. 9 dargestellt, das Ergebnis der semiquantitativen PCR in Fig. 10.

Das menschliche PKCG-Gen liegt ca. 150 kb vom Bruchpunktbereich der Schilddrüsentumoren entfernt. Regulatorische Elemente des PKCG-Gens können durch Rearrangieren in der Bruchpunktregion betroffen sein. Aus diesen Gründen stellt PKCG ein Targetmolekül im Zusammenhang mit Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Schilddrüsentumoren dar. Die relative Lage des PKCG-Gens ist in Fig. 8 dargestellt. Wie aus der Northern Blot-Analyse ersichtlich, wird PKCG in Schilddrüsenkarzinomzellen überexprimiert. Der Nachweis erfolgte mit einer PKCG-spezifischen Sonde, die zu Hybridisierungszwecken eingesetzt wurde. Die Hybridisierungsbedingungen entsprechen hierin allgemein und im speziellen jenen, wie sie in den Beispielen offenbart sind.

Das Schilddrüsenkarzinom wurde in eine Zelllinie überführt, die auch eine Veränderung am Chromosom 19 zeigt, und war Gegenstand der in diesem Beispiel beschriebenen Untersuchungen.,

Die vorstehend im Zusammenhang mit der Northern Blot-Analyse beschriebenen Ergebnisse wurden auch mit Hilfe einer semiquantitativen PCR bestätigt. Dabei wurde nach semiquantitativer RT-PCR mit PKCG-spezifischen Primern die Expression in einer Schilddrüsenkarzinomzelle festgestellt. Bei dem in Fig. 10 dargestellten Agarosegel ist dabei Folgendes aufgetragen: In Spur 1 ein Marker (Marker III (Roche), λ -DNA geschnitten mit HindIII-EcoRI), Spur 2 eine Zelllinie des anaplastischen Schilddrüsenkarzinoms S277, Spur 3 die Zelllinie des Schilddrüsenadenoms S40.2, Spur 4 normales Schilddrüsengewebe, Spur 5 eine HeLa-Zelle, d. h. Mammakarzinom, Spur 6 die Zelllinie MCF7 (ATCC-Nummer HTB-22, ebenfalls ein Adenokarzinom), Spur 7 die Zelllinie EFM19, eine menschliche Brustkrebszelllinie (DSMZ-Nummer ACC231), Spur 8 eine Negativ-Kontrolle, Spur 9 eine Positiv-Kontrolle (Nachweis von GAP-Dehydrogenase zum Beleg der Isolierung von cDNA).

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

57

Aus Fig. 10 ergibt sich somit, dass im Falle des anaplastischen Schilddrüsenkarzinoms S277 die Expression des PKCG-Gens, im vorliegenden Falle mit einer Länge von 2442 kb, festgestellt werden konnte. PKCG-Genaktivität konnte ebenfalls in der Zelllinie MCF7 festgestellt werden. In Fig. 10 sind die entsprechenden Banden durch einen Pfeil gekennzeichnet.

Die in der vorstehenden Beschreibung, dem Sequenzprotokoll und den Ansprüchen offenbarten Merkmale der Erfindung können sowohl einzeln als auch in beliebiger Kombination für die Verwirklichung der Erfindung in Ihren verschiedenen Ausführungsformen wesentlich sein. Der Offenbarungsgehalt der Ansprüche wird hiermit durch Bezugnahme aufgenommen.

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

58

Ansprüche

1. Nukleinsäure mit bei Hyperplasien und/oder Tumoren geänderter Expression, dadurch gekennzeichnet, dass sie eine Nukleinsäuresequenz umfasst, die ausgewählt ist aus der Gruppe, die SEQ. ID. No. 1 bis 12 und SEQ. ID. No. 16 - 19 umfasst.
2. Nukleinsäure nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass der Tumor ausgewählt ist aus der Gruppe, die epitheliale Tumoren mit einer Veränderung der chromosomalen Bande 19q und Tumore mit einer Veränderung der chromosomalen Bande 19q13 umfasst.
3. Nukleinsäure nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Hyperplasie ausgewählt ist aus der Gruppe, die Hyperplasien der Schilddrüse umfasst.
4. Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass SEQ. ID. No. 1, 2, 7, 10, 11 und/oder 12 für ein CAT, insbesondere ein humanes CAT, oder einen Teil davon codiert.
5. Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass SEQ. ID. No. 3, 4, 8, 16 und/oder 17 für ein DC2, insbesondere ein humanes DC2, oder einen Teil davon codiert.
6. Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass SEQ. ID. No. 5, 6, 9, 18 und/oder 19 für PKCgamma, insbesondere humanes PKCgamma, oder einen Teil davon codiert.
7. Nukleinsäure umfassend eine Nukleinsäuresequenz die ohne die Degeneriertheit des genetischen Codes für die gleiche Aminosäuresequenz codieren würde wie eine Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 6.
8. Nukleinsäure, die an eine der Nukleinsäuren nach einem der Ansprüche 1 bis 7 hybridisiert.

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

59

9. Vektor, dadurch gekennzeichnet, dass er eine Nukleinsäure nach einem der vorangehenden Ansprüche umfasst.
10. Vektor nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, dass er weiterhin mindestens ein Element umfasst, das ausgewählt ist aus der Gruppe, die Promotoren, Terminatoren und Enhancer umfasst.
11. Vektor nach Anspruch 9 oder 10, dadurch gekennzeichnet, dass der Vektor ein Expressionsvektor ist.
12. Vektor nach Anspruch 9 bis 11, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens eine Promotor im Leserahmen mit mindestens einem für ein Polypeptid codierenden Teil einer Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 8 ist.
13. Polypeptid codiert durch eine Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 8.
14. Polypeptid nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, dass es modifiziert ist.
15. Zelle, insbesondere eine isolierte Zelle, die einen Vektor nach einem der Ansprüche 9 bis 12 umfasst.
16. Antikörper, dadurch gekennzeichnet, dass er gegen ein Polypeptid nach Anspruch 13 oder 14 gerichtet ist.
17. Antikörper nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, dass er gegen eine Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 8 gerichtet ist.
18. Ribozym, dadurch gekennzeichnet, dass es gegen eine Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 8 gerichtet ist.
19. Ribozym nach Anspruch 18, dadurch gekennzeichnet, dass es zumindest einen Teil einer Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 8 umfasst.

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

60

20. Anti-sense Nukleinsäure umfassen eine Sequenz, die komplementär zu einer der Nukleinsäuresequenzen nach einem der Ansprüche 1 bis 8 ist.

21. RNAi umfassend eine Sequenz, die komplementär oder identisch ist mit einer der Nukleinsäuren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 8, wobei bevorzugterweise die RNAi einen Bereich mit einer Länge von 21 bis 23 Nukleotiden umfasst, der komplementär oder identisch ist.

22. Verfahren zum Bestimmen einer Verbindung, die die Wirkung eines Translationsproduktes einer Nukleinsäure nach einem der vorangegangenen Ansprüche beeinflusst, insbesondere inhibiert, gekennzeichnet durch die folgenden Schritte:

- Bereitstellen des Translationsproduktes und der Verbindung
- Inkontaktbringen des Translationsproduktes und der Verbindung in einem System, das die Wirkung des Translationsproduktes darstellt, und
- Bestimmen, ob unter dem Einfluss der Verbindung eine Änderung der Wirkung des Translationsproduktes auftritt.

23. Verfahren zum Bestimmen einer Verbindung, die die Wirkung eines Transkriptionsproduktes einer Nukleinsäure nach einem der vorangegangenen Ansprüche beeinflusst, insbesondere inhibiert, gekennzeichnet durch die folgenden Schritte:

- Bereitstellen des Transkriptionsproduktes und der Verbindung
- Inkontaktbringen des Transkriptionsproduktes und der Verbindung in einem System, das die Wirkung des Transkriptionsproduktes darstellt, und
- Bestimmen, ob unter dem Einfluss der Verbindung eine Änderung der Wirkung des Transkriptionsproduktes auftritt.

24. Verfahren nach Anspruch 22 oder 23, dadurch gekennzeichnet, dass das System ausgewählt ist aus der Gruppe, die zelluläre Expressionssysteme, zellfreie Expressionssysteme, Assay

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

61

zur Bestimmung der Wechselwirkung zwischen Verbindung und Translationsprodukte, und Assay zur Bestimmung der Wechselwirkung zwischen Verbindung und Transkriptionsprodukte umfasst.

25. Verfahren zur Bestimmung von Genen, die für die Entstehung von Hyperplasien und Tumoren, insbesondere der Schilddrüse, verantwortlich sind umfassend die folgenden Schritte:

- Ermitteln der Bruchpunkte bei chromosomalen Translokationen der Hyperplasien und der Tumoren,
- Bestimmen von Genen, die innerhalb eines Bereichs von 400 kbp, bevorzugterweise 150 kbp, in jede Richtung ab dem Bruchpunktbereich liegen, und
- Bestimmen, ob die Translation/ Transkription des Gens in einer Zelle der Hyperplasie oder des Tumors gegenüber einer nicht-Hyperplasie-Zelle oder einer nicht-Tumor-Zelle verändert ist.

26. Verwendung einer Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 8 und/oder eines Ribozyms nach Anspruch 18 oder 19 und/oder von einer Antisense-Nukleinsäure nach Anspruch 20 und/oder einer RNAi nach Anspruch 21 zur Diagnose und/oder Therapie von Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Schilddrüsentumoren.

27. Verwendung einer Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 8 und/oder eines Ribozyms nach Anspruch 18 oder 19 und/oder von einer Antisense-Nukleinsäure nach Anspruch 20 und/oder einer RNAi nach Anspruch 21 zur Herstellung eines Medikaments, insbesondere zur Therapie und/oder Prävention von Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Schilddrüsentumoren.

28. Verwendung eines Polypeptids nach einem der Ansprüche 13 bis 14 zur Diagnose und/oder Therapie von Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Schilddrüsentumoren.

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

62

29. Verwendung eines Polypeptids nach einem der Ansprüche 13 bis 14 zur Herstellung eines Medikaments, insbesondere zur Therapie und/oder Prävention von Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Schilddrüsentumoren.
30. Verwendung eines Antikörpers nach einem der Ansprüche 16 bis 17 zur Diagnose und/oder Therapie von Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Schilddrüsentumoren.
31. Verwendung eines Antikörpers nach einem der Ansprüche 16 bis 17 zur Herstellung eines Medikaments.
32. Kit zur Diagnose von Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Schilddrüsentumoren, dadurch gekennzeichnet, dass der Kit mindestens ein Element umfasst, das ausgewählt ist aus der Gruppe, die eine Nukleinsäure, einen Vektor, ein Polypeptid, eine Zelle, einen Antikörper, eine Antisense-Nukleinsäure, RNAi und ein Ribozym, jeweils nach einem der vorangehenden Ansprüche, umfasst.
33. Verfahren zum Nachweis von Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Tumoren der Schilddrüse, gekennzeichnet durch die Schritte:
- Kontaktieren von Schilddrüsenmaterial mit dem Agens, das ausgewählt ist aus der Gruppe, die eine Nukleinsäure, einen Vektor, ein Polypeptid, einen Antikörper, eine Antisense-Nukleinsäure, RNAi, ein Ribozym und eine Zelle, jeweils nach einem der vorangehenden Ansprüche, umfasst, und
 - Bestimmen, ob Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Tumore der Schilddrüse vorliegen.
34. Verfahren nach Anspruch 33, dadurch gekennzeichnet, dass das Schilddrüsenmaterial ex vivo vorliegt.
35. Verwendung einer Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 8 als Primer und/oder als Sonde.

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

63

36. Primer zum Darstellen und/oder Screenen und/oder Detektieren einer Nukleinsäure, dadurch gekennzeichnet, dass er zu einem Teil einer Nukleinsäuresequenz nach einem der Ansprüche 1 bis 8 komplementär ist.

37. Verfahren zum Darstellen einer Nukleinsäure, die eine Sequenz umfasst, welche in Schilddrüsentumoren oder Strumen nachgewiesen werden kann, bei denen eine Translokation mit Bruchstelle in der chromosomalen Bande 19q13 vorliegt, wobei die Sequenz innerhalb der chromosomalen Bande 19q13 liegt, dadurch gekennzeichnet, dass das Verfahren die Schritte umfasst:

- Bereitstellen von Primern nach Anspruch 36, zum Durchführen einer Polymerase-Kettenreaktion,
- Bereitstellen einer der Bande 19q13 des humanen Chromosoms 19 entnommenen Nukleinsäuresequenz oder einer Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 8,
- Mischen der Nukleinsäuresequenz bzw. der Nukleinsäure mit den Primern,
- Durchführen einer Polymerase-Kettenreaktion.

38. Pharmazeutische Zusammensetzung, dadurch gekennzeichnet, dass sie umfasst:

mindestens ein Agens, das ausgewählt ist aus der Gruppe, die eine Nukleinsäure, einen Vektor, ein Polypeptid, eine Zelle, einen Antikörper, eine Antisense-Nukleinsäure, RNAi, ein Ribozym, jeweils gemäß einem der vorangehenden Ansprüche, sowie Kombinationen davon umfasst, und

mindestens einen pharmazeutisch akzeptablen Träger.

39. Verfahren zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Tumoren und Hyperplasien, dadurch gekennzeichnet, dass eine Verbindung an einen Patienten verabreicht wird, die die Auswirkungen der geänderten Expression der Nukleinsäuren nach einem der vorangegangenen Ansprüche verhindert.

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

64

40. Verwendung einer Verbindung, die die Auswirkungen der geänderten Expression der Nukleinsäuren nach einem der vorangegangenen Ansprüche verhindert, zur Herstellung eines Medikaments.
41. Verwendung nach Anspruch 40, dadurch gekennzeichnet, dass das Medikament für die Behandlung und/oder Prophylaxe von Tumoren und/oder Hyperplasien, insbesondere von Tumoren und/oder Hyperplasien der Schilddrüse ist.
42. Verwendung einer Nukleinsäure mit einer Sequenz, wobei die Sequenz ausgewählt ist aus der Gruppe, die SEQ. ID. No. 1 – 12 und SEQ. ID. No. 16 – 19 umfasst, oder Derivate davon und/oder davon codierte Polypeptide oder Derivate davon zur Herstellung eines Medikaments, insbesondere zur Behandlung von Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Schilddrüsentumoren und/oder zur Herstellung eines diagnostischen Mittels, insbesondere für die Diagnose von Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Schilddrüsentumoren.
43. Verwendung nach Anspruch 42, dadurch gekennzeichnet, dass das Polypeptid eine Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID No. 13, SEQ ID No. 14 und/oder SEQ. ID No. 15 aufweist.
44. Verwendung nach Anspruch 42 oder 43, dadurch gekennzeichnet, dass die Nukleinsäure mit der Nukleinsäure gemäß einer der Sequenzen SEQ ID No. 1 – 12 und/oder SEQ ID No. 16 – 19 ohne die Degeneriertheit des genetischen Codes hybridisieren würde.
45. Verwendung eines Polypeptids mit einer Sequenz, wobei die Sequenz ausgewählt ist aus der Gruppe, die SEQ. ID. No. 13 – 15 umfasst, oder Derivate davon zur Herstellung eines Medikaments, insbesondere zur Behandlung von Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Schilddrüsentumoren und/oder zur Herstellung eines diagnostischen Mittels, insbesondere für die Diagnose von Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Schilddrüsentumoren.
46. Verfahren zum Screenen eines Mittels zur Behandlung von Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Schilddrüsentumoren und/oder eines dia-

gnostischen Mittels für die Diagnose von Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Schilddrüsentumoren, umfassend die Schritte:

- e) Bereitstellen einer Kandidaten-Verbindung,
- f) Bereitstellen eines Expressionssystems und/oder Aktivitätssystems;
- g) Inkontaktbringen der Kandidaten-Verbindung mit dem Expressionssystem und/oder dem Aktivitätssystem;
- h) Bestimmen, ob unter dem Einfluss der Kandidaten-Verbindung die Expression und/oder die Aktivität einer Nukleinsäure mit einer Sequenz, wobei die Sequenz ausgewählt ist aus der Gruppe, die SEQ. ID. No. 1 – 12 und SEQ. ID. No. 16 - 19 umfasst, oder Derivate davon und/oder davon codierte Polypeptide und/oder Polypeptide mit einer Sequenz gemäß SEQ. ID. No. 13 - 15 oder Derivate davon verändert wird.

47. Verfahren nach Anspruch 46, dadurch gekennzeichnet, dass die Kandidaten-Verbindung in einer Verbindungsbibliothek enthalten ist.

48. Verfahren nach Anspruch 46 oder 47, dadurch gekennzeichnet, dass die Kandidaten-Verbindung ausgewählt ist aus der Gruppe von Verbindungsklassen, die Peptide, Proteine, Antikörper, Anticaline, funktionale Nukleinsäuren und kleine Moleküle umfasst.

49. Verfahren nach Anspruch 48, dadurch gekennzeichnet, dass die funktionalen Nukleinsäuren ausgewählt sind aus der Gruppe, die Aptamere, Aptazyme, Ribozyme, Spiegelmer, Antisense-Oligonukleotide und RNAi umfasst.

50. Verwendung einer Nukleinsäure mit einer Sequenz, wobei die Sequenz ausgewählt ist aus der Gruppe, die SEQ. ID. No. 1 – 12 und SEQ. ID. No. 16 - 19 umfasst, oder Derivate davon und/oder davon codierte Polypeptide oder Derivate davon und/oder eines Polypeptids mit einer Sequenz gemäß SEQ. ID. No. 13 – 15 oder eines Derivates davon und/oder eines insbesondere natürlichen Wechselwirkungspartners einer Nukleinsäure mit einer Sequenz, wobei die Sequenz ausgewählt ist aus der Gruppe, die SEQ. ID. No. 1 – 12 und SEQ. ID. No. 16 - 19 umfasst, oder Derivate davon und/oder davon codierte Polypeptide oder Derivate davon und/oder einer dafür codierenden Nukleinsäure und/oder der Wechselwirkungspartner eines Polypeptids mit einer

Sequenz gemäß SEQ. ID. No. 13 – 15 oder eines Derivates davon als Zielmolekül für die Entwicklung und/oder Herstellung eines diagnostischen Mittels zur Diagnose von Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Schilddrüsentumoren, und/oder für die Entwicklung und/oder Herstellung eines Medikaments zur Prävention und/oder Behandlung von Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Schilddrüsentumoren.

51. Verwendung nach Anspruch 50, dadurch gekennzeichnet, dass das Medikament oder das diagnostische Mittel ein Agens umfasst, das ausgewählt ist aus der Gruppe, die Antikörper, Peptide, Anticaline, kleine Moleküle, Antisense-Moleküle, Aptamere, Spiegelmerer und RNAi-Moleküle umfasst.

52. Verwendung nach Anspruch 51, dadurch gekennzeichnet, dass das Agens mit einem Polypeptid mit einer Sequenz gemäß SEQ. ID. No. 13 – 15 oder einem Derivat davon oder einem Wechselwirkungspartner davon in Wechselwirkung tritt.

53. Verwendung nach Anspruch 51, dadurch gekennzeichnet, dass das Agens mit einer Nukleinsäure mit einer Sequenz in Wechselwirkung tritt, wobei die Sequenz ausgewählt ist aus der Gruppe, die SEQ. ID. No. 1 – 12 und SEQ. ID. No. 16 – 19 umfasst, oder Derivate davon und/oder mit einer für einen insbesondere natürlichen Wechselwirkungspartner codierenden Nukleinsäure, insbesondere mit mRNA, genomischer Nukleinsäure oder cDNA in Wechselwirkung tritt.

54. Verwendung eines Polypeptids, das mit einem Peptid in Wechselwirkung tritt, das von einer Nukleinsäure mit einer Sequenz codiert wird, wobei die Sequenz ausgewählt ist aus der Gruppe, die SEQ. ID. No. 1 – 12 und SEQ. ID. No. 16 – 19 umfasst, oder Derivate davon und/oder einem Polypeptid gemäß SEQ. ID. No. 13 – 15 und/oder mit einem insbesondere natürlichen Wechselwirkungspartner davon in Wechselwirkung tritt zur Entwicklung oder Herstellung eines diagnostischen Mittels zur Diagnose von Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Schilddrüsentumoren, und/oder zur Entwicklung oder Herstellung eines Medikaments zur Prävention und/oder Behandlung von Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Schilddrüsentumoren.

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

67

55. Verwendung nach Anspruch 54, dadurch gekennzeichnet, dass das Polypeptid ausgewählt ist aus der Gruppe, die Antikörper und bindende Polypeptide umfasst.

56. Verwendung einer Nukleinsäure, die mit einem Polypeptid in Wechselwirkung tritt, wobei das Polypeptid von einer Nukleinsäure mit einer Sequenz codiert, wobei die Sequenz ausgewählt ist aus der Gruppe, die SEQ. ID. No. 1 – 12 und SEQ. ID. No. 16 – 19 umfasst, oder Derivate davon und/oder einem Polypeptid gemäß SEQ. ID. No. 13 – 15 und/oder mit einem insbesondere natürlichen Wechselwirkungspartner davon zur Entwicklung oder Herstellung eines diagnostischen Mittels zur Diagnose von Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Schilddrüsentumoren, und/oder zur Entwicklung oder Herstellung eines Medikaments zur Prävention und/oder Behandlung von Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Schilddrüsentumoren.

57. Verwendung nach Anspruch 56, dadurch gekennzeichnet, dass die Nukleinsäure ausgewählt ist aus der Gruppe, die Aptamere und Spiegelmere umfasst.

58. Verwendung einer ersten Nukleinsäure, die mit einer zweiten Nukleinsäure in Wechselwirkung tritt, wobei die zweite Nukleinsäure eine Sequenz aufweist, wobei die Sequenz ausgewählt ist aus der Gruppe, die SEQ. ID. No. 1 – 12 und SEQ. ID. No. 16 – 19 umfasst, oder Derivate davon und/oder mit einer Nukleinsäure in Wechselwirkung tritt, die für einen Wechselwirkungspartner eines Polypeptids mit einer Sequenz gemäß SEQ. ID. No. 13, 14 oder 15 codiert zur Entwicklung oder Herstellung eines Medikaments zur Prävention und/oder Behandlung von Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Schilddrüsentumoren.

59. Verwendung nach Anspruch 58, dadurch gekennzeichnet, dass die in Wechselwirkung tretende erste Nukleinsäure ein Antisense-Oligonukleotid, ein Ribozym und/oder RNAi ist.

60. Verwendung nach Anspruch 58 oder 59, dadurch gekennzeichnet, dass die zweite Nukleinsäure die jeweilige cDNA oder mRNA ist.

61. Pharmazeutische Zusammensetzung umfassend mindestens ein Agens, das ausgewählt ist aus der Gruppe, wie durch die Verwendung gemäß einem der Ansprüche 50 bis 60 definiert, und

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

68

mindestens einen pharmazeutisch akzeptablen Träger, insbesondere zur Prävention und/oder Behandlung von Funktionsstörungen der Schilddrüse und/oder Hyperplasien der Schilddrüse und/oder Schilddrüsentumoren.

62. Kit für die Charakterisierung des Zustandes der Schilddrüse, umfassend mindestens ein Agens, das durch die Verwendung gemäß einem der Ansprüche 50 bis 60 definiert ist.

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

1/32

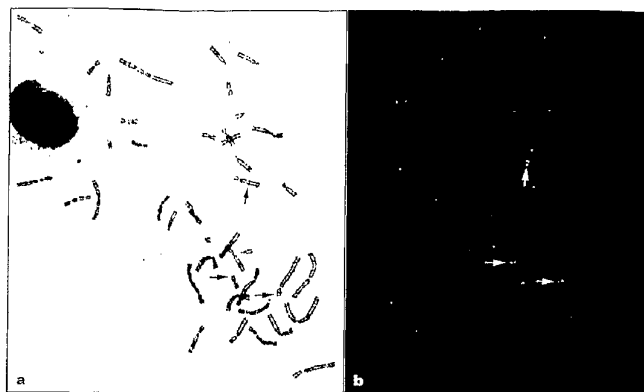


Fig. 1

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

2/32

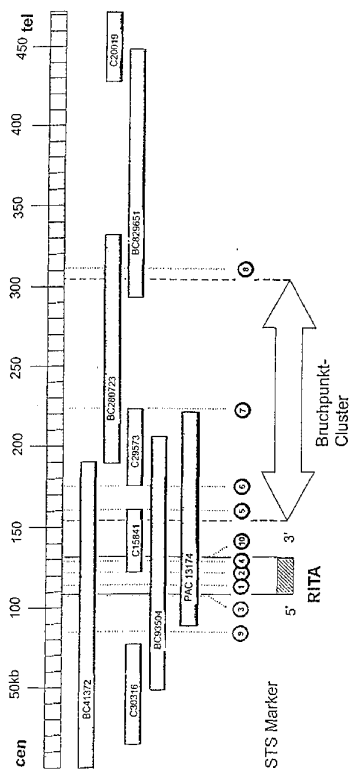


Fig. 2

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

3/32

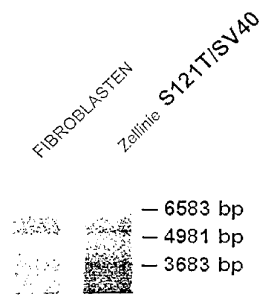


Fig. 3

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

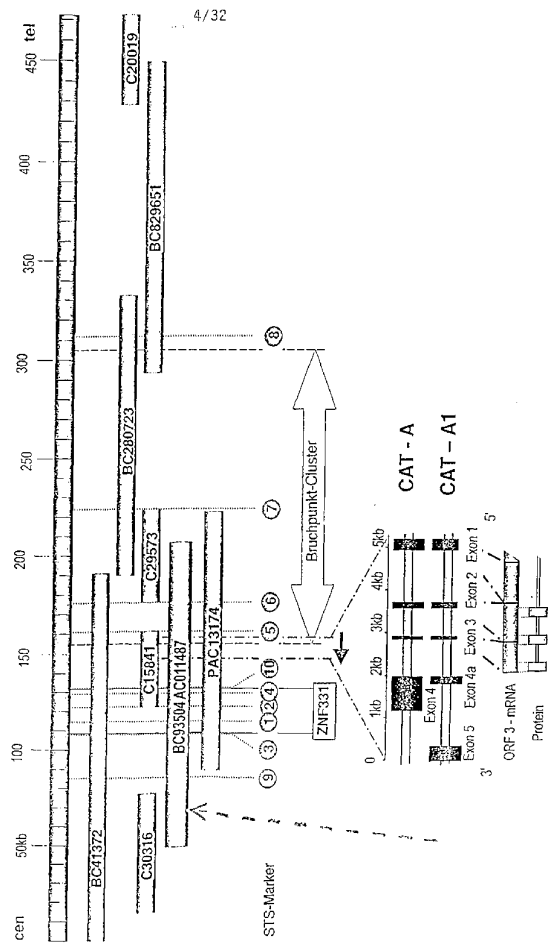


Fig. 4

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

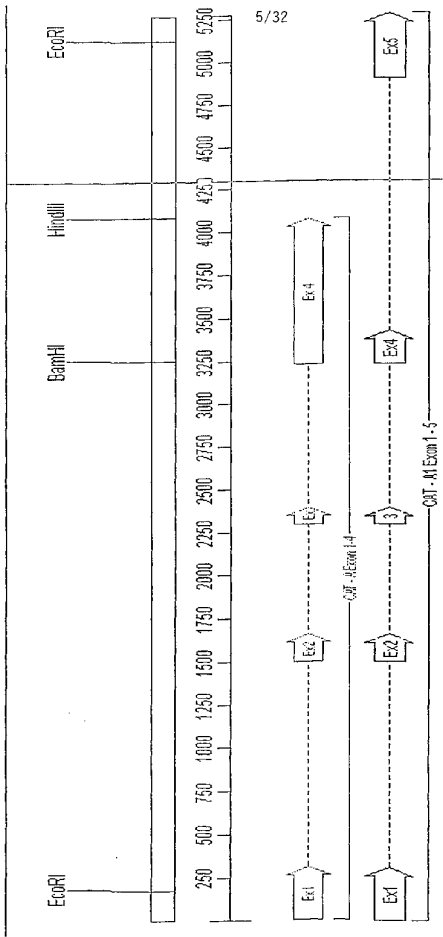


Fig. 5

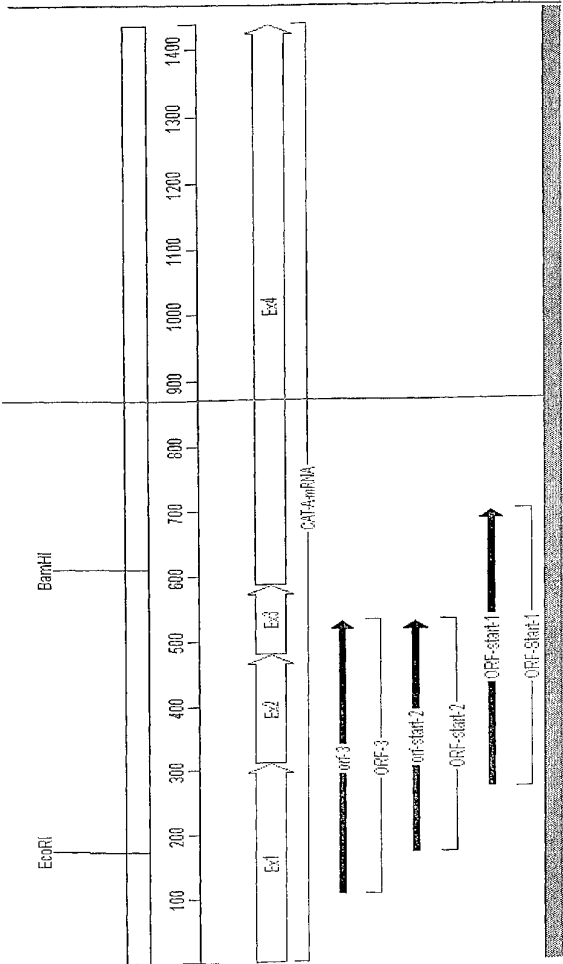


Fig. 6

Fig. 7 Teil 1

PCT/EP02/04090

[illegible]

Fig. 7 Teil 2

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

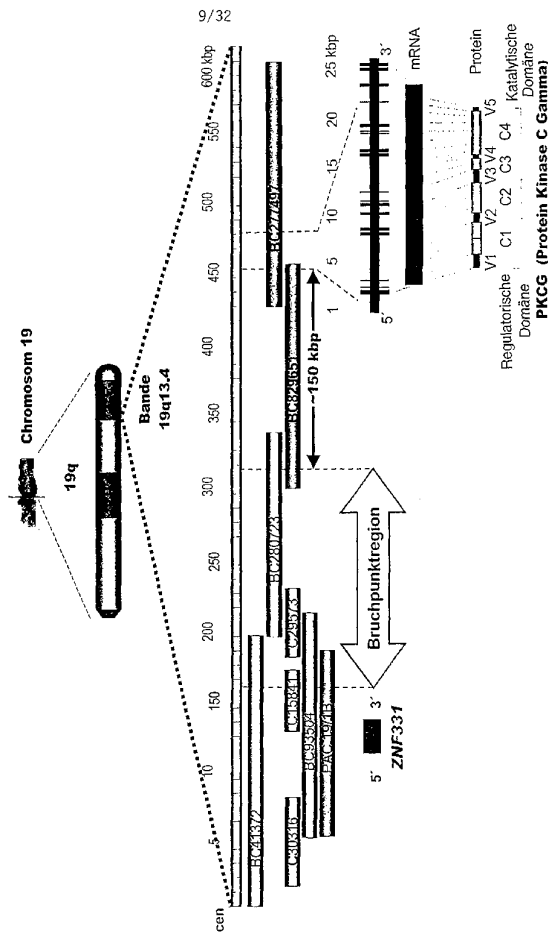


Fig. 8

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

10/32

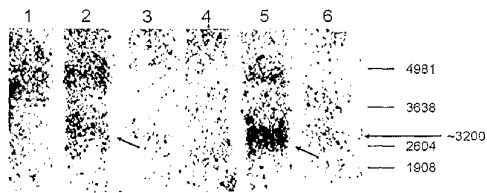


Fig. 9

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

11/32

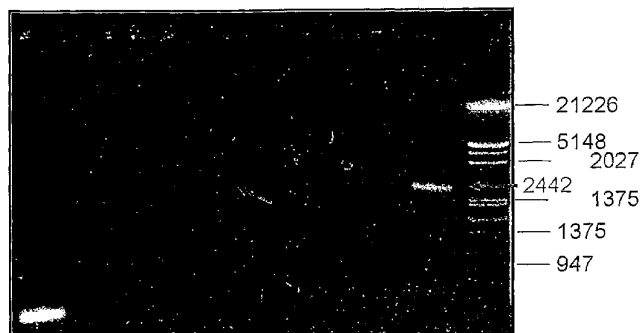


Fig. 10

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

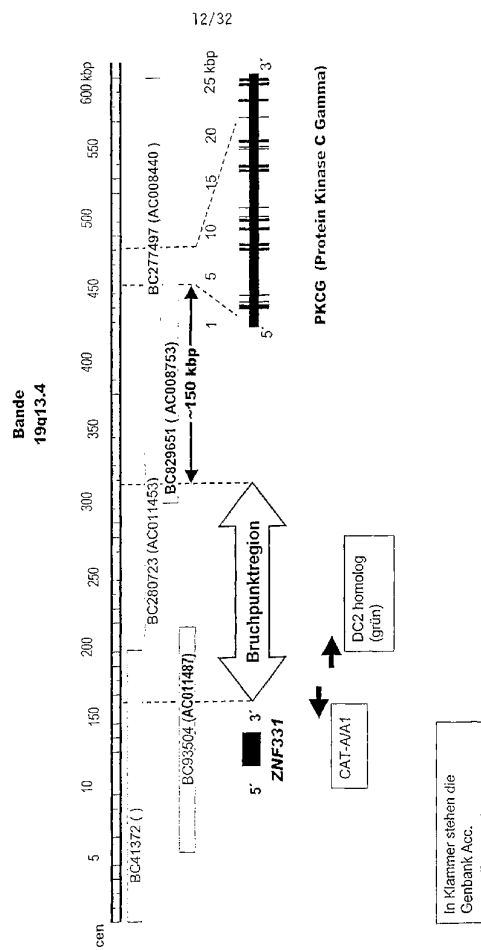


Fig. 11

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

13/32

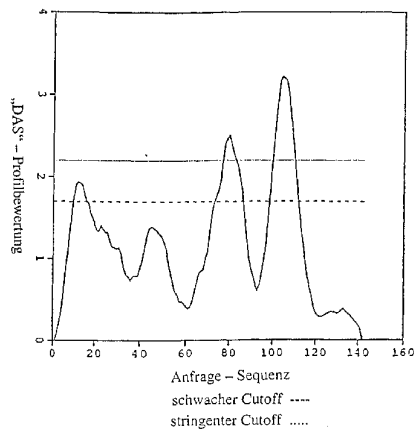


Fig. 12

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

14/32

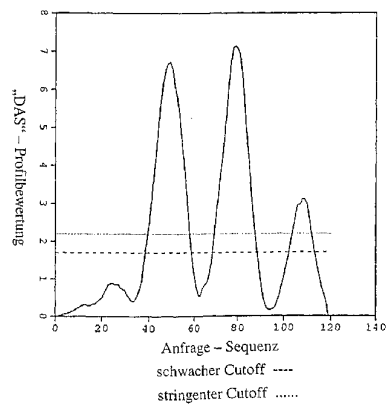


Fig. 13

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

15/32

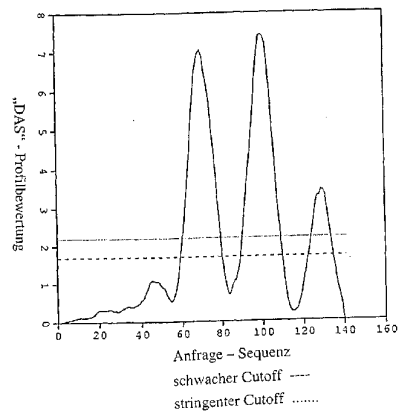


Fig. 14

PCT/EP02/04090

16/32

[illegible]

Fig. 15

142 aa

MGPHRLWMCLSAACPAVHAMPGIGPLAQTPVLWRADLHRSGCVAAGAHCIGHFHRLETA
PEQHSSLLQGPPVACSPLVSISAHVYLMQM TTTETWAQCGVWMLIGFAMFYGYGIPHSLE
NNQOPPASSOTPHENIPSPLN

Fig. 16

119 aa

MNSVPKAE SPACVPEASSTPASLWSPVSTIPTPRWGRIVYGCAFLLVLLSMLCLVLAHWP
KRLFSGELIYIAAAVLLLVIVGFTFTVWRQPQSNTPLYFKVPLLPVLLWSASLHMFT

Fig. 17

140 aa

FRYQPDENFS KNEKPKEEVV EMNSVPKAES PACVPEASST PASLWSPVST IPTPRWGRIV
YGCAPLLVVL LSMCLVLVAH WPKRLFSGEL IYIAAAVLLL VLIVGFTFTV WRQPQSNTPL
YFKVPLLPVL LWSASLHMET

Fig. 18

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

17/32

SEQ. ID. No. 17

TGGATATGGGTAGATGAAACCTCGGATACGTGGGAGCTACCGTGGGTGTATTAGGCTC
TCTGATGTTGGATGAACAGGGACCTGGGTTAATCTTGCCCTACTCTCTAATTCAGGT
ACCAGCCAGACGAGAATTTTCAGCAAGAACGAGAAGCCGAAGGAGGAAGTAGTTGAGA
TGAATTCGTACCCAAAGCAGAATCCCCAGCATGTGTTCTGAAAGCGTCCAGCACTCCG
GCGAGTCTGTGGAGCCCTGTCAGCACCATCCCCACCCGAGATGGGGCCGCATCGTCT
ATGGATGTGCCTTTCTGCTTGTGTCTGCTGTGTCATGCTATGCCTGGTATTGGCCCAT
GGCCCAAACGCCTGTTCTCTGGAGAGCTGATCTACATCGCAGCGGCTGTGTTGCTGCTG
GTGCTCATTTGGGATTCACTTTCACCGTCTGGAGACAGCCCCAGAGCAACACTCCTCT
TACTTCAAGGTCCCCCTGTTGCCGTGTTCTCCTCTGGTCAGCATCTCTGCACATGTTTAC
CTGATGATGCAGATGACCACTGAGACCTGGGCCCAATGTGGAGTCTGGATGTTGATTG
GATTGTGATGTATTTGGATATGGGATCCCAACACAGCTTGGAGAACATCAACAGCCA
CCAGCGTCAAGCTCCCAAACCTCCTCATGAAAACATCCCTAGTCCCTTGCTGAATTAGTT
TAACCACGGAAAAGGGATGGTCCAGTCCACTGGAGGTGTCTCTGGATGAAGGGAAAG
TGTAAGCTCTGTGGAGCATGAAGAGATGGAGTTTACCTTGTGCGGAGGCTGGTCTT
GAACCTCTGAGCTGAAGCCATCCTCTGCCTCTGGCCTCTAAAAGTGTGGGATTCCAG
GCGTGAGCCAGCGTGCCCGCCATCATGTTTACTTCAAACAGATTTTCTCTGGCGTCTT
CTAGGACACTTGTATCTGATCTTACTGAAAAGTCACATTCTTAGCAAGACTTAACCTTA
CATCCTGAGTAAAAATTGCGAATTCACAGATGCCCTCAATCTTCTGACCTCGGCTCC
TCTTCTGTTTCCCGCATGGCTTGAAGCGCAACGGCAITCTACCTGTTTACTCAGGATG
TGCTTACCATTAAAGTCCCTGCCTGCAGAGCAGTTGGCTTGATTTCACCT

Fig. 19

18/32

Fig. 20 Teil 1

Fig. 20 Teil 1

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

19/32

CTCCCGCCCTCAAGTGATCCTCTTSCCTCAGCCTCCCGAGTAGCTGGGAATACAGGCATGCGCTACCACACCAGGATAAT
TTTGTATTTACAGTAGAGATGGAGTTTCACCTTGTGCCCAGGCTGGTCTTGAACTCCTGAGCTGAAGCCATCCTCCTG
CCTCTGCCCCTAAGAGTCTGGGATTCAGGCTGAGCCAGGCTGCCCGGCATCATGTTTACTTCAACAGATTTTCT
CTGGCGTCTCTAGGACACTTGTATCTGATCTTACTGAAAGTCACATTCTTAGCAAGACTTACCTTACATCCTGAGTA
AAATTGCGAATCCACAGATGCCCTCAATCTTCTGACCTCGGCTCCTCTTCTGTTCCCGCATGGCTTGAAGCGCAA
CGCATTCACCTGTTTACTCAGGATGTGCTTACCATTAAAGTCCTGCCTGCAGAGCAGTTGGCTTGATTTACCT

Fig. 20 Teil 2

Fig. 21 Teil 1

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

21/32

GAGTCTCGCTCTATTGCCAGTCTGGAGTGCAGTGGCATTGATCTTGGCTCACTGCAACCTCCGCTCCCGGTTTC
AAGTGATTCCTCTGYGTGAGCTCCAGAGTAGCTGGAAATTACAGGCACATGACACTGTGCCAGCTAATTTTCT
TTATTAGYAGACCAAGGTTTACCAATGTTGGCCAGGCTGGTCTTGAACCTCCTGACCTCAAGTGATCCACCTGCTC
TCGGCCTCCCAAGTGTGAGATTACAGGCCTGAGCCACCGTGCCAGCCAAATTAACCTTTAAAAAATTACATTT
TTAAAAATTGACAAAYAAAGTTGCTATGTTTATGGTGACAAATTGCATATATTATATGTAATTTAAATTTGTGTA
TGTTTATGGTAT

Fig. 21 Teil 2

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

22/32

TTTTTAATTAGTATTTATTTCTGTTCCCTTCATACATGTTATTGTTTCAGGCAGCAGTCTTACATACCTATCTGA
AATAATCTACCATCACAACACTCTAGTTAAAGCCAAAGCTCCGTAGGTAAAGCTGACCAGCTGTCCAGAGTTCTCA
GCTCATGGAAATCTTGCTCTTGATTTTATGTTAATTTCTGAAGTCAGAAATGTCATCTCCAAAAGTGTAAAGG
GGGTGTGAAAAAATAATCACTATATTGTCTATTATAGTTGTAGGTATGCAATATATTCTTTCTTTCTTTCTTT
TCTTTTCTTTTCTTTGAAACAGAGTCTGCTCTGTGCTCCAGGCTGGAGTGCATGTCAGCGATCTAGGCTCACT
GCAGCTCCGCTCCAGGTTCACTGATTTCTGCTGCTCAGGCTCCAGTAGTGGGATTACAGGTGCTCCGCT
CACCACCAAGCCGCTAATTTTGTATTTTGTAGTAGATGGGTTTCAACATGTTGGCCAGGCTGGTCTGGAA
CTCTGACCTCTGATCTGCTCCACCTTGCTCCCAAGTGTGGGACTACAGAAAGTGGCCAGGCTGGTCTGGAA
TGATTTCTTAAAGAAATAAAACTAAGAAAGAAATGCCACTCATCATCATTTGGTATAGCAATGTGGTCAACA
GGAAAAGAAATACTGTGATAAATTTGTCTCTTTAATAAAGAAATTTCTAGTCCAAAGCTTCAATACACTTCT
GCTTTTCTACATAGATATTTCTTTTACTGTCTCTTCTCTTTCTTCTACATCTCATATTAGAGGATTGGACAGCC
TTTAAACTTCATTCACAGGAGCAATCCAGTATGCATGATTTCTTTTCTTTTCTTTTCTTTTCTTTTCTTTTCTTT
AGACGGAGATTTACTCTTGTGCTCAGGCTGGAGTGCATGATTTCTTTTCTTTTCTTTTCTTTTCTTTTCTTTTCTTT
GGTTCAAGCAATTTCTCTGCTCAGCTCCGAGTAGCTGGGATTACAGACATGTGTACACAGCTGGCTAAT
TTTGTATTTGTAGTGGGATGGGTTTACCATGTTGCCAGGCTGATCTCGAACTCTGACCTCAGATAATCCG
CTCGCTCCGCTCCCAAGTGTGGGATTGACAGGCTGAGGCTGACACCCAGCTGATTTCTTCTTAAAGGC
ACTCTAACCCTCAGAGAGCCCGTAGTTTCATTTCTACGAATACTCTAGCCGTGAAAAAACTCAATAGGACAC
AGACGAATCCAGCAATAGAAAGAAATCTATTGAGTTTGGGATATTGTGTGATTCGATCGGTCCAGGATTA
TGAAACCTAACTCCCTTTGTAACAGGAAGCTGGATCCAGTCTTCCATTAATATTTGTCCACTTACTCTG
TAGGCCAAGAAAGTACTTGGCTCTGATGCCCTTGTTCATCAGTCAATAGAGCAACACCTGGCGGTTCAACCGTA
ACATCATAAAGATTTCTCTGTTGATGAGGAATAGACACCACACAGAGCATACATAGTCATGGCCAAACGCT
ATGTGACCCAGGGCGCTTCTTCACTTCAAGTTGGGACATTCAGCGCTAAGAACGGGACAGGTTACAAAGTC
TCCATGTTGGTGGCAGCAAGGCCATTCTCGGCTC

Fig. 22

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

23/32

CHARAKTERISTIKA	Lokalisierung/Bereichung
Exon	1..288
Div_Charakteristikum	/Merkmal="Exon 3"
	komplementär(1..288)
	/Merkmal="homolog zu
	XM_034710-mRNA-782-1070-endteil.seq(1>288)"
Exon	621..863
Div_Charakteristikum	/Merkmal="exon 2"
	komplementär(621..863)
	/Merkmal="homolog zu XM_034710-mRNA-539-782-
	teil.seq(1>244)"
Exon	1183..1686
Div_Charakteristikum	/Merkmal="Exon 1"
	komplementär(1183..1686)
	/Merkmal="homolog zu XM_034710-mRNA-37-538-
	teil.seq(1>502)"
BASEN ANZAHL	426 a 403 c 350 g 507 t

TTTTAAATAGTATTATTTCTGTTCTTTTCATACATGTTATTGTTTCAGGCAGCAGTCTTACATACCTATCTGA
 AATAATCTACCATCACACACTCTAGTTAAAGCCAAAGCTCCGTAGGTAAAGCTGACCAGCTGTCCAGAGTTCTCA
 GCTCATGGAAATCTGCTTCTGATTGTTAATTTTCGAAAGTCAGAAATGTCATCTCCAAAAAGTTAAAGG
 GGGTTGTAATAAATAATCACTATATTGCTATTATAGTTGATGATGAGTATATTTCTTTTCTTTCTTTCTT
 TCTTTTTTTTTTTTGAACACAGAGTCTGCTCTGTCGCCAGGCTGGAGTGCAGTGGCAGCGATCTAGGCTCACT
 GCAGCCTCCGCTCCAGGTTCACTGATTTCTCTGCTCAGCCTTCCAAAGTGTGGGATTACAGGTGCCCGC
 CACCACCACGCCCGCTAATTTTGTATTTTAGTAGAGATGGGGTTTCAACATGTTGGCCAGGCTGGTCTGGAA
 CTCTGACCTCGTATCTGCCCCACCTTGGCCTCCCAAGTGTGGGACTACAGAAGTGAAGCCAGCGCGCTGGCT
 TGTATTTTCTTAAGAAATAAAAACTAAGAAAGAAATGCCACTCATCATCATTGGTATAGCAATGTGGTCAGCA
 GGAAGAAAAATCTGTGATAAATTTGCTCTTTAATAAAGAAATTTCTAGTCCAGCTTCAATACACTTCTCT
 GGTTTTTCACTAGATATTCTTTACTGCTGCTCTCTCTTTCTTCTACATCTCATATTAGAGGATGGACAGCC
 TTAAAACTTCATTGACAGAGCAAAATCCAGTATGCACTGATTCTTTTTTTTTTTCTTTTTTTTGGTG
 AGACGGAATTTACTCTGTGTTCTCCAGGCTGGAGTGCATGTCGATCTCTGGCTCAGCGCATCTCTGCTCC
 GGTTCAGCAATTTCTCTGCTCAGCCTCCCGAGTACTGGATTACAGACATGTGTCAACAGCCTGCTAAT
 TTTGATTTGTATAGGATGGGGTTTACCATGTTGCCCGCTGATCTCGAATCTCTGACCTCAGATTAATCCG
 CTGCTCTCGGCTCCCAAGTGTGGGATTGACAGGCTGAGCCACTGACCCAGCTGATTCTTCTTAAAGGC
 ACTTAACCATCAGAGAGCCCGTATTTTCATCTCACGAACTCTAGCCGTGAAAAAATCAATAGGACAC
 AGACGAATCCACAGATTAGAGAAAGAAATCTATTGAGTTTGGGATTTGGTGCATTCGATCGTCCAGGATTA
 TGAACCTAAACCTCCCATTTGTAACAGGAAGTGGATCCAGTCTTCCATAAATAATTTGTCACCTTACTCTG
 TAGGCCAAGAAAGTACTTGGCTCTGATGCCCTTGTTCATCAGTCATAGAGCCACACCTGGGGTTCAACCGTA
 ACATCAATAAGATTTCTCTGCTGATGAGGAAGTAAAGACACCACCCAGAGCATACATAGTCATGGCCAAAGGC
 ATGTGACAGCAGGGCGCTTCTTCACTTCAAGTTGGGACATTCAAGCGCTAAGAACGGGACACGCTACAAAGTC
 TCCATGTTGGTGGCAGCAGGCCATTCTCGGCTC

Fig. 23

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

24/32

CHARAKTERISTIKA	Lokalisierung/Bezeichnung
Exon	748..1035
Div_Charakteristikum	/Merkmal="Exon 3"
	748..1035
	/Merkmal="homolog zu XM_034710-mRNA-762-1070-endteil.seq(1>288)"
Exon	505..747
Div_Charakteristikum	/Merkmal="Exon 2"
	505..747
	/Merkmal="homolog zu XM_034710-mRNA-539-782-teil.seq(1>244)"
Div_Charakteristikum	1..504
	/Merkmal="Exon 1"
Div_Charakteristikum	1..504
	/Merkmal="homolog zu XM_034710-mRNA-37-538-teil.seq(1>502)"
BASEN ANZAHL	307 a 194 c 222 g 312 t

GAGGCCGAGAAATGGCCCTTGCTGCCCAACATGGAGACTTTGTACCGTGTCCCGTTCTTAGCGCTTGAATGTCC
 CAACCTGAAGCTGAAGAAGCCGCCCTGGCTGCACATGCCGTGGCCATGACTATGTATGCTCTGGTGGTGGTGTG
 TTAATCTCTCATCACCAGAGGAATCGTTTATGATGTTACGGTTGAACCGCCAGGTGTTGGCTCTATGACTGATGA
 ACAAGGGCATCAGAGGCCAGTAGCTTCTTGGCCTACAGAGTAAGTGGACAAATATTATTATGGAAGGACTTGGAT
 CCAGCTTCCTGTTTACAATGGGAGGTTTAGGTTTCATAATCCTGGACCGATCGAATGCACCAATATCCCAAAC
 TCAATAGAAATTCCTTCTTATTCGTTGGATTCTGTGTCTCTTATTGAGTTTTTTTACGGCTAGAGTATTCTGTG
 AGAATGAATACCGGGCTCTCTGATGGGTTAGAGTGCCTTTAAGAAGAAATCAGTGCATCTGGATTGCTCCT
 GTCAATGAAGTTTTAAAGGCTGTCCATCCTCTAATATGAGATGTAGAAAAGAGGAAGAGCAGCAGTAAAGAA
 ATATCTAGTGAAGAAACAGGAAGTGTATGAGGCTTGGACTAGAAATTTCTTCTTTATTAAGAGACAAATTTATC
 ACAGTATTTTCTTTTCCCTGCTGACCAATTGCTATACCAATGATGATGATGGCATTTCCTCTTACTTTTAA
 GAAATATATCTGCATACCTACAACTATAATAGCAAAATATAGTATATTTTACAAACCCCTTAACTTTTGG
 GAGATGACATTTCTGACTTTCAGAAATTAACATRAATCAAGAGCAAGATTCATGAGCTGAGAACTCTGGACA
 GCTGGTCAGCTTTAGCTACGGAGCTTTGGCTTTAACTAGAGTGTGTATGATGATTTTCAGATAGGTATGTA
 AGACTGCTGCCGTAACATAACATGTATGAAGGACAGAAATAATCTAATTAAAAA

Fig. 24

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

25/32

CHARAKTERISTIKA	Lokalisierung/Bezeichnung
Exon	2118..2524 /Merkmal="Exon 18"
Exon	1976..2117 /Merkmal="Exon 17 "
Exon	1867..1975 /Merkmal="Exon 16 "
Exon	1785..1866 /Merkmal="Exon 15 "
Exon	1645..1784 /Merkmal="Exon 14 "
Exon	1581..1644 /Merkmal="Exon 13 "
Exon	1488..1580 /Merkmal="Exon 12 "
Exon	1298..1487 /Merkmal="Exon 11 "
Exon	1144..1297 /Merkmal="Exon 10"
Exon	1113..1143 /Merkmal="Exon 9"
Exon	1024..1112 /Merkmal="Exon 8"
Exon	888..1023 /Merkmal="Exon 7"
Exon	730..887 /Merkmal="Exon 6"
Exon	597..729 /Merkmal="Exon 5"
Exon	484..596 /Merkmal="Exon 4"
Exon	400..483 /Merkmal="Exon 3"
Exon	367..399 /Merkmal="Exon 2"
Exon	1..366 /Merkmal="Exon 1"

BASEN ANZAHL 475 a 814 c 729 g 506 t

GGCGCGCCCGGGGTGCCGCTCCCTGCTGGCGGCTCCGACCTGGAGGTGCCCTTGCCCTCTCCTGCCACCTC
GGAAATTCCTGTGGCTCCTTTGATCCTTCGAGTCTCCAGCTCCTCCTCCCTTCCACCTGTTTCCGCCAAGAAAG
CAGGATCCTGGTCCCTGCTACGTTTCTGGGGCCATGGCTGGTCTGGGCGCCGGCGTAGGCGATCAGAGGGGGGA
CCCGGCCCTGTTTTCAGAGAAAGGGGGCCCTGAGGCGAAGGTGGTCCACGAGTCAAGAGCCCAAGTTCAACC
GCTCGCTTCTTCAAGCAGCCACCTTCTGACGACCTGCACCGACTTCACTGGTGAGGGGAAGGGGCGGGCCCT
GCATGTCAAGGTAAAGCTGGGGTGGTTTCATCGACGATGCCAAGATTGTGACCTTCGAGTGTCCAGGCGCTG
GGAAAGGGCCCCCAGACGGACGTGAGTGTCTCGGACCGGAACAAACAAAGTTCCGCTGCTAGCTACAGCAGCCC
CACCTTCTGCGACCACTGTGGCTCCCTCCTCTACGGGCTGTGTCACACGGGCATGAAATGCTCCTGTGAGTGAGA
TGAACTGTGACCGCGCTGTGTGCTGCTAGCTGCCCTCCTGTGGGTGTGGACACACCGAGCGCCCGGGCGGC
TGCACTGTGAGATCCGGGCTCCCAAGCAGATGAGATCCAGTAACTGGTGAGGAGGCCGTAACTAATTCCT
ATGACCCCAATGTCTCTCTGATCCCTATGTGAACTGAAGCTCATCCAGACCTCGGAACCTGACGAAACAG
AAGACCCGACGCTGAAAGCCACGCTAAACCTGTGTGGAATGAGACCTTGTGTGTGAGTCTTGAAGCCAGGG
GATGTGAGCGCCGCTCAGCGTGAAGGTGTGGACTGGGACCGGACCTCCCGCAACGACTTCACTGGGGGCCATG
TCCTTTGGCTCTCGGAGCTGCTCAAGGCGCCGTGGATGGTGTGACAGTTACTGAACAGGAGGAGGGCGA
GTATTACATGTGCGGCTGCGGATGCTGCAACTGACGCTCCTCCAGAAAGTTGAGGTACTGTAACTACCCCC
TGGAAATTGATGAGGTGAGCGGGTGCAGATGGGCGCTCTCTCTCCCATCCCTCCCTTCCCTTCCCTAGTCCCA
CGACCCCAAGCGCTGCTTCTTGGGGCGAGTCCAGGACGCTGCACATCTCCGACTCAGCTTCCCTCATGGTTCT
AGGAAAGGACGTTTGGGAAAGGTGATGCTGGCGAGCGCAGGGGCTCTGATGAGCTTACGCCATCAAGATCT
TGAAAGGACGTGATCTCCAGGACGACGATGTGACTGCACGCTGGTGAGAAACCTGTGTGTGGCTGGGG
GCCGGGGTCTTGGCGCCGGCCCTCACCTCACCGAGCTCCACTCCACCTTCCAGACCCCGGACCGCTGTATT
TCGTGATGAGTACCTCACCGGGGAGACTTGTATATCAACATTTCAACAGCTGGGCAAGTTTAAAGGAGCCCATG
CAGCGCTTCTAGCGCGCAGAAATGCTGATCGGCTCTCTTCTTCAACATCAGGGCATCATCTACAGGGGACCT
GAGCTGACAAATGTGATGCTGATGCTGAGGACATCAAGATCACTGACTTTGGCATGTGTAAAGGAGAACGT
CTTCCCGGGGACACACCCGACCTTCTGCGGGACCCGACTACATAGCCCGGAGGATCATTCCTACCGC

Fig. 25 Teil 1

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

25/32

CCTATGGGAAAGTCGTGCGATTGGTGGTCCTTTGGAGTTCTGCTGTATGAGATGTTGGCAGGACAGGCCTCCCTTC
GATGGGGAGGACGAGGAGAGCTGTTTCAAGCCATCATGGAAACAACTGTCACCTACCCCAAGTGGCTTCCCGG
GAAGCCGTGCGCATCTGCAAGGGGGGTTCCTGACCAAGCACCCAGGGAAGCGCTGGGCTCAGGGCTGATGGGG
AACCCTAGCATCCGTGCCATGGCTTTTTCGGCTGGATTGACTGGGAGCGGCTGGAAAGATTGGAGATCCCGCTC
CTTTCAGACCCCGCCCGGTGGCCGCGAGCGCGAGAACTTTGACAACTTCTTCAAGCGGGCGCGCCAGCGCTG
ACCCCTCCAGACCGCTAGTCTGGCCAGCATCGACCGGCGGATTTCCAGGGCTTACCTACGTGAACCCCGAC
TTGTTGACACCCGATGCGCGAGCCCAACAGCCAGTGGCTGTGCGCGTCATGTAATCTCACCCGCGCCACTA
GGTGTCCCAAGTCCCTCCGCGGTGCGCGGCGAGCCCACTTCAACCCCACTTCAACCCCGCTGTCCTAT
TCTAGATCCCTGACCCAGCATTCAGCTCTGCCCCGCGGTTCTAGACGCCCTCCCAAGCGTTCTTGGCTT
CTGAACCTCCATACAGCCCTACAGCCGTCCCGGTTCAAGACTTGAGCG

Fig. 25 Teil 2

WO 02/083727		27/32	PCT/EP02/04090
CHARAKTERISTIKA	Lokalisierung/Bezeichnung		
Quelle	komplementär(1..24801) /Organismus="Homo sapiens" /db_xref="taxon:9606" /Chromosome="19" /Klon="CTC-331H23"		
Exon	24395..24801 /Merkmal="Exon 18 "		
Exon	24005..24146 /Merkmal="Exon 17"		
Exon	22324..22432 /Merkmal="Exon 16"		
Exon	20762..20843 /Merkmal="Exon 15"		
Exon	18300..18439 /Merkmal="Exon 14"		
Exon	18108..18171 /Merkmal="Exon 13"		
Exon	17922..18014 /Merkmal="Exon 12"		
Exon	16128..16317 /Merkmal="Exon 11"		
Exon	15647..15800 /Merkmal="Exon 10"		
Exon	11054..11084 /Merkmal="Exon 9"		
Exon	10580..10768 /Merkmal="Exon 8"		
Exon	10001..10336 /Merkmal="Exon 7"		
Exon	9368..9525 /Merkmal="Exon 6"		
Exon	7580..7712 /Merkmal="Exon 5"		
Exon	7332..7444 /Merkmal="Exon 4"		
Exon	1862..1945 /Merkmal="Exon 3 "		
Exon	864..896 /Merkmal="Exon 2"		
Exon	1..366 /Merkmal="Exon 1"		
BASEN ANZAHL	5613 a	6407 c	6621 g 6150 t

GGCGCGCCCGGGTGCCGCTCCCTGCCTGGCGGCTCCGCACCTGGAGGTGCCTTGCCTCTCCTGCCACCTC
 GGAATTCCTGTGGCTCCTTTGATCCTTCGAGTCTCCAGCTCCTCTCCCTTCCACCTGTTCCGCCAAGAAAGG
 CAGGATCCTGGTCCCTGCTACGTTCTGCGGCCATGGCTGGTCTGGGCCCGCGGTAGGCGATTACAGAGGGGGA
 CCCCGCCCTGTTTTCAGAGAAAGGGGCCCTGAGGCAGAGGTGGTCCACGAAGTCAAGAGCCACAAGTTCACC
 GCTCGCTTCTTCAAGCAGCCACCTTCTGCAGCCACTGCAACCGACTTCATCTGGTGAAGGAGGGGCTGGGGGA
 CTGGGACGAGGGGACTAGGGTGCAGACTCCTATCACGCCGACCCCTGTGAAGGAGAGGAGGGGGCTGTA
 GTCCCGACTCCAGGTTCTAGGATGGCCAGGGAACGCTGGGAGCTTCGACTCTGGGTTTCAGTGAAGGAGGAGG
 TGCTTCCTGGAGTGTGGTCCGAGGGAGGAGGAGGCTGGAGGACAGAGTCTCTGGAGTCTTGGTCTTGGGGAG
 GAAGGGCTTGGGGGCTGGGAGCCTGGATTCTCTGGGCTGGAAGGAGGAGAACTGGGGCTGAACCTCCAGTCTA
 AGGGAAGAGGGCTGAGAGAGCGCAGGCCCTGTTGGCTCGAGAGGTTGGGGTCCAGGTACCCCTTTCTGAC
 TGACCTAGGATCCCTGACTCTTCCAGGGTATCGGAAAGCAGGGCTGCAATGTCAAGGTAAAGCTGGGGACCG
 GGCTCCTGGGACCTCAGGAGGGTGGAGGCTGGGGGCCACAGCTGAGGCTGCTTGACACAGTGTCTCTGTT
 CCCAGAGAGGCTCGGGGGAGCCCGGGGGGGGGTGTGGCAGAGACACAGCTGTGGTGGGGAGGAGCTTTGA
 TGGTGGGCCACCGGAGGTGGTGTCTGGGGGCCCTCTGGCCGCTCCAGGTGGGGACAGATATTTGAGA
 ATCTGTGCGCATGGGAACATGGAGATTGGAAAGGGGAGCTGAAGGGGAGAGGGGGAGGGCTGGAGATGCA
 AAGTCAGAGCCCCCCCCCAGGCTGCCGTGCGCATGACACACACAGCCGTCTAGGCGGGGCAAGGCCGGG

Fig. 26 Teil 1

[illegible]

Fig. 26 Teil 2

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

29/32

[illegible]

Fig. 26 Teil 3

WO 02/083727

PCT/EP02/04090

30/32

GCCGATGCTGACAACTGACGCTCTCCAGAGTTTGGAGGTACCCAGACCCCTGGCTTCCTCAAGGGAGCCAGGCC
 CAGCCTCCCAAGGTTACAGAGCTGGCTTTCCTTCCACCCCTGAGTGCCTGGTCTGGGACTACAGTTCACAG
 AAGCCCTAGGACTCCCTCTCTGCTCTTCTAGGGGACTGAGCCCAAGGCTGTGATGGGAATTATAGTTCCTAT
 CTATGCGCATGGCTTGGGGTACTAGGGGCCACAGCCCTGTCTAGGGGATCCCTGCTATCTTGGGACCC
 TGACTCTCTCTTCTTCTCCAGGCTGTAACTACCCCTGGAATTGTATGAGGTGAGTAGAACCCAGGGGCT
 GAATGGAGGCAAGTCTTGGCTACTTCTCTGATTCTTATCTCTCTCTGACTCTGTCTCAATTCACACAT
 GAGTTGAGCAACATTTGCTGCTAGGCTCTTGTGCTTGTGTAATAATCCAGGATCCAGAGATGAATCTGACCC
 TCAGCAACTCTCCCAAGGTAGGACACAGTCAAGATACTTAAATACAGGAAGATGTCTAAATTAGAGGTAGC
 CCAGGCCACTGAAAGGCTTACGGAGGCACTATCCAGCCCTGGGGGAGGGTGGTCAGGGAGGACTCCCTGAGG
 AGGTGACCCCTGAATTGATTCTTGGGTTTTTAAATTTTTTAAATTTTATTTTATTTTATTTTATTTTATTT
 TCTGTGCGCCAGGCTGGATGCAATGGCACAACTCGCCCTCACTGCAACCTCCAGCTCCCGGGTCAAGCAATTC
 TCTGTGCTCAGCCTCTCTGAGTAGCTGGGATTACAGGTGACCGCCACACACCCAGCTAATTTTTTTTATTTT
 AGTAGAGATGGATTTGCGCATGTGGCCAGGCTGATCTCAAACCTCCCAACTCAGGTGATCCGCTGCTTGGC
 CTCCCAAGGTCTGGGATTACAGGCTAGAGCCACTGCGCCGACCGATTCTTGAGTTTTTTATTTTATTTTGGAG
 ACCGAGTCTCGCTGAGCCAGGCTGGAGTGCAGTGGTGCATCTCGGCTCACTGCAAGCTCCGCTCTGGG
 TACAGCCATTCTCTGCTCAGCCTCTCTGAGTAGTGGGACTACAGGCGCCACACCACTGCGCGCTAATTTT
 TTGTTATTTATGATAGATGGGTTTCCAGGTTAGCCAGGATGCTCTGATCTCTGACCTGGTGATCCACCC
 GCTCAGCCTCCCAAGGTGCTGGGATTACAGGCTGAGCCACACACCCAGCGATTCTTGAGTTTAAAAAATC
 TATCAGCATGATCATCTTAATCTCTCCATTCATTCATTCACCTCACTGAATATCCTTTCTTTCTTTCTTTCT
 CTCTCTTTTCTTTTGGAGCAGAACTCTCTTTGTGCTCAGGTTGGAGTGAGTGAGTCTCAGCTCACT
 GCAACTCTGCTCCAGGATTCAAGTGAATCTCTGCTCAGCCTCTGAGTGTGGGATTACAGGAGGCGAC
 ACCACACTCTGGCTAATTTTGTATTTTATGATAGATGGGTTTGCAGATGTGGCCAGGCTGGTCTCGAATCC
 TGACTCAGAGTATCCACCCGCTCTGGCTCTCCCAAGCGCTGAGATTAGAGGCTGAGCGACACCGCCAGAGCA
 ATACCAATTTCTAGGGTGTCAAGCCAGCCCTGCTTGGGAATAGAAATCAGGCAATCTCCCTGGTGGAGCTCT
 TCTTCTAGTGGAGCAAGTTTACAAACCCAGGCTTCAACAGGAGCAATCTGCTGTATAGAGAGGCTCT
 CAGCAGCTGGGCTCTCTGCGACAGCTGAGTCAAGGAAAGCTCTCTAGAGGTTAGAGCTGTAGAGAGGCG
 GATTTTCCCAAGAGGAGCCAGATTTTCAGSCAGGAGGAATAGCTCTCTCCCTCATTTACCTTTTCAAAA
 ATACTTTACAGAGCACTTTGTGTGCGAGGCTGGCTCTACTCACTGGGATATAGAGAAAGCAGGAGAGACA
 AACAAACAAACAAAGTTTCTTCTTATGGATTTACACCGGAGAGAGACTTAAACAAATATATATAGCA
 TATGTAGACTGGGACAGGCTCTCATGTCTGTGATCCTAGTAAAGCGGGGATCACTCAGGTGAGGATTTG
 AGACAGCCTGGCCAGGCTGGCAAAACCCATCTCTACTAAAAATACAAATCAGCTGGGCTGGTGGAGGCG
 CCTGTATCCAGCTACTCGGAGGCTGAGGAGGAGATTTGCTGGATTCCGGGAGTAGAGGCTGCACTGAGGCC
 CAGATGCGCTCCACTGCACTCCAGCCTGGATGACAGAGGAGACTCTGTCTCAAAAAAAGAGAGAGAGAG
 GACAGAGATCTTCAAGATTCAACAAACAGCAACATGTTATAGTCTTTACTGSACTTTACAGAACTTTCAAC
 AGAGTTTTTAAATGTTGTGTGGGGGTTCACTGCACTAGAAATTCCTAGAGTGTCTTCTTTTAAAGCACTTCC
 CCAGCTTTCTGACAGCTACTCAGTACGATCTCTCTGATGCTCAATGTCTGCTACTAAATTAATCTCTCA
 GGTGATCTTTTTCAGAGTTAAGTTTGAAGATGGGCTCTGCGGCGGGGCGAGTGGCTCAGCCTGTCTATCCAG
 CACTTTGGGAGGCGCAAGGCGGGTGGATCAGAGGTGAGGATCAGAGCACTCTGGCTAACAGCGTGAATCCCG
 GTCTCTACTAAAAATACAAAAAATTTAGCTGGGCTGGTGGTGGGCTGCTGTAGTCCAGGTACTCAGGAGGCTG
 AGGCAAGAGATGSCATGAACCTGGGAGGTGGAGCTTGCATGAGCCAGATCGTCCCACTGCACTCAGGCTGG
 GTGACAGAGGAGCTCTATCTCAGAAAAAAGAGAGAAATGGGCTCTGCAAGGACAAAGGTTACAGC
 GGGAGGACATCTGAGGCAAGAGGTAGAGCTTTTGAATCAGCAGGAGTATCTCCCTGCAACCAAGCAAGAA
 ACCCAGCAGGCGAGATGGTGGGCAAGGCTAGAGGCAAGGAGTGTAGGTTGGTGTGTGCTGTGTGGCTCA
 CAGCACTCTCCCAAGTTCAGCAGGCACTTAATATACCAATGAAACCAACTCTGTGCCAAGCTGTGAGCT
 AGGTACGGGCTTAAACACACAGCAACAGAAACAGCCCTGATTATTATTATTATTATTATTATTATTATTAT
 TATT
 TCAGCTCACTGCAACCTCTGCTCCCGGCTTCAAGGATCTCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT
 GGCATGTGCCCAATCTCTACTAATTTTATATTGTGATAGATAGATGGGCTTCCAGTGTGGCCAGGCTGGT
 CTTGAATCTCTGCTCAGGTGATCTGCCCACTCGGCTCCCAAGTGTGGGATTACAGGCTAGGCAACCGC
 ACCAGGCTCCAAAGATTTTATGTAGCTCAATGAGGTAGGCACTTACTGTGCTTAGCGAAACAAAGCAGA
 CCGCTGCTTGGGAGCTCACAGGCGAAGAGCAGATAGTCACACAGATAGATGTAAATTACTAAGAAATAAGTG
 CCAGGAGGCT
 CTTTACAGGAGGCTTACCGCACATCCAGAGGCTTGGGTTGGGAGGAGCAATGAGTGTGAGGCTGAGGCTG
 GCTGGACATGAGGCTGGGAGAGAGAGAAACAACTGCTGAGTGTGAGTGTGAGTGTGAGTGTGAGTGTGAGT
 AATAAATCTTAAACAGAGGAGAGGTTAAAGGTTTACAGGATAGGAGGAGACTGAGCTGTTTATTTATTTT
 TTAATTTGGCTCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT
 GAGCTGTGACAGGAGCTTATGCTTGGGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT
 AGCTGAAAGCAGGCTGTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT
 AGTCCCAACCCAGATTTATAGAGTTAGAAATCTGGAGTGGGAGCCAGCAATCTGTTTACCAAACTCTGAG
 GGAATCCGGCTTAGAGGCTTAGAGGCAACAGATCTTACAGGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT
 TTTACTGCTGTGCT
 TAGCAGGCTTTCTGGAACAGCATATGATAGCTATCTAAAAAAGAGAGAAAGAGAGCTAGGTGTTT

Fig. 26 Teil 4

[illegible]

Fig. 26 Teil 5

[illegible]

Fig. 26 Teil 6

WO 02/083727

1/54

PCT/EP02/04090

SEQUENZ-PROTOKOLL

<110> Prof. Dr. Bullerdiek, Jörn

<120> Nukleinsäuresequenzen von Hyperplasien und Tumoren der Schilddrüse

<130> B 10011 PCT

<160> 19

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 394

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<223> EST, Acc. No.: BE 564764

```
<400> 1
ccaaagcaga atccccagca tctgttccctg aagcgtccag cactccggcg agtctgtgga 60
gccctgtcag caccatcccc accccgagat ggggcgcgat cgtctatgga tctgoccttc 120
tgcttggtgt cctgctgtcc atgctatgcc tggctattggo ccattggccc aaacgcctgt 180
tcctctggaga gctgatctac atgcacagcg ctgtgttgct gctgggtgctc attgtgggat 240
tcactttcac cgtctggaga cagccccaga gcaacactcc tctttacttc aaggcccccc 300
tggtgcctgt tctcctctgg tcagcatctc tgcacatggt tacctgatga tgcagatgac 360
cactgagacc tgggccaat gtggagtctg gaat 394
```

<210> 2

<211> 394

WO 02/083727

2/54

PCT/EP02/04090

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<223> EST, Acc. No.: BF 029168

```

<400> 2
cctaaagcaga atccccagca tctgttctctg aagcgctccag cactccggcg agtctgtgga 60
gccctgtccag caccatccc accccgagat ggggcccgcac cgtctatgga tctgcctttc 120
tgcttgttgt cctgtgtcc atgctatgcc tgggtattggc caattggccc aaacgcctgt 180
tctctggaga gctgatctac atcgacggcg ctgtgtttgct gctgggtgctc attgtgggat 240
tcactttcac cgtctggaga cagcccacaga gcaacactec tctttacttc aaggtecccc 300
tgttgcctgt tctctcttgg tcagcatctc tgcacatgtt tacctgatga tgcagatgac 360
cactgagacc tgggcccacat gtggagtctg gaat 394

```

<210> 3

<211> 867

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<223> EST, Acc. No.: AF 201937

```

<400> 3
tgcaggagtt ttccgggagc gcgtggggct tgaggccgag aacggccctt gctgccacca 60
acatggagac tttgtaccgt gtcccgttct tagtgctcga atgtcccaac ctgaagctga 120
agaagccgcc ctggttgac atgcccgcgg ccattgactgt gtatgctctg gtggtggtgt 180
cttacttctt catcacogga ggaataatlt atgatgttat tgttgaaact ccaagtgtcg 240
gttctatgac tgatgaacat gggcatcaga ggcacgtagc tttcttggcc tacagagtaa 300
atggacaata tattatggaa ggacttgcac ccagcttctt atttacaatg ggagggtttg 360
gtttcataat cctggaccga tgaatgcac caaatatccc aaaactcaat agattccttc 420

```

WO 02/083727

3/54

PCT/EP02/04090

```
ttctgttcat tggattcgtc tsgtgcctat tgagtttttt catggctaga gtattcatga 480
gaatgaaact gccgggctat ctgatgggtt agagtgcctt tgagaagaaa tcagtggata 540
cctggatttg ctctgtcaa tgaagtttta aaggctgtac caatcctcta atatgaaatg 600
tggaaaagaa tgaatgaagc agcagcagta aaagaaatat ctagtgaana aacagggaagc 660
gtattgaagc ttggactaga atttcttctt gggtattaaa gagacaagtt tatcacagaa 720
ttttttttcc tgcctggcctt attgctatac caatgatgtt gsgtggcatt ttcttttttag 780
tttttcatta aaatatatto catatctaca actataatat caaataaagt gttatttttt 840
acaacccctt aacatttttt ggggtggg 867
```

<210> 4

<211> 535

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<223> EST, Acc.No.: BE 271492

```
<400> 4
tagactttgt accgtgtccc gttcttagtg ctogaatgtc ccaacctgaa gctgaagaag 60
ccgccctggg tgcaacatgc gtcggccatg actgtgtatg ctctgggtgg ggtgtottac 120
ttcotcatca ccggaggaat aatttatgat gttattgttg aacotccaag tgcgggttct 180
atgactgatg aacatgggca tcagaggcca gtagctttct tggcctacag agtaaatgga 240
caatatatta tggaaggact tgcacccagc ttctatttta caatgggagg tttaggtttc 300
ataatcctgg accgatcgaa tgcacccaat atcccaaaa ccaatagatt ccttctttctg 360
ttcattggat tgcctgtgtg cctattgagt ttttccatgg cttagattat catgagaatg 420
aaaotgcogg gctatctgat ggggttagagt gcttttgaga agaaatcagt ggatactgga 480
ttgtctctg tcaatgaagt tttaaaggct gtaccaatcc tctaatatga aatgt 535
```

<210> 5

<211> 2506

<212> DNA

<213> Homo sapiens

WO 02/083727

4/54

PCT/EP02/04090

<220>

<221> misc_feature

<223> EST, Acc. No.: AF 345 987

<400> 5
ccttgccgag cggcgccgcc cggggtgcc cccctgcct ggcgcgtcc gcaactggag 60
gtgccttgcc cctctcctgc ccacctcgga attccctgt ggcctcttg atccttcgag 120
ctccagctc ctctcccttc cactctgttc cccaagaaa ggcaggatcc tggctcctgc 180
tacgtttctg gggccatggc tggctctggc cccggcgtag gcgattcaga ggggggaacc 240
cggccctctg tctgcagaaa ggggctctg aggcagaagg tggccacga agtcaagagc 300
cacaagttca ccgctcgtt cttcaagcag cccaccttct gcagccactg caccgaactc 360
atctggggta tggaaaagca gggcctgcaa tgtcaagtct gcagctttgt ggttcacaga 420
cgatgccacg aatttgtgac ctctcgagtgt ccaggcgtg ggaaggccc ccagacggac 480
gaccccccga acaaacacaa gttccgcctg catagctaca gcagccccc cttctgcgac 540
cactgtggct cctcctctca cgggcttggt caccagggca tgaatgttc ttgctgcgag 600
atgaacgtgc accggcgctg tctgcgtagc gtgcctctc tgtgcggtgt ggaccacacc 660
gagcgcgcgc ggcgcctgca gctggagatc cgggctccca cagcagatga gatccacgta 720
actgttggtg aggcctgtaa cctaattcct atggacccca atggtctctc tgatccctat 780
gtgaaactga agctcatccc agaccctcgg aacctgacga aacagaagac ccgaaacgtg 840
aaagccacgc taaaccctgt gtggaatgag acctttgtgt tcaacctgaa gccaggggat 900
gtggagcgcc ggctcagcgt ggaagtgtg gactgggacc ggaactccc caacgaattc 960
atgggggcca tgtccttttg cgtctcggag ctgctcaagg cgccttgga tggctgggtac 1020
aagttactga accaggagga gggcgagtat tacaatgtgc cggtaggcca tgcagacaac 1080
tgagccctcc tccagaagtt tgaaggctgt aactacccc tggaaattgt tgaagcgggtg 1140
cggatggggc cctcttcttc tcccatcccc tccccttccc ctagtccac cgaccccaag 1200
cgctgcttct tggggcgag tccaggagcc ctgcacatct ccgacttcag ctctctcatg 1260
gttctaggaa aaggcagttt tgggaagggt atgctggcgc agcgcagggg ctctgatgag 1320
ctctaccca tcaagatctt gaaaaaggac gtgatcgtcc aggcgacga tgtggactgc 1380
acgctggtgg agaaacgtgt gctggcgctg gggggccggg gtcctggcgg ccggcccccac 1440
ttctccacco agctccactc caccctccag accccggacc gctgtatctt cgtgatggag 1500
tacgtcacgc ggggagactt gatgtacac attcaacagc tgggcaagtt taaggagccc 1560

WO 02/083727

5/54

PCT/EP02/04090

```

catgcagcgt tctacgcggc agaaatcgct atcggcctct tcttccttca caatcagggc 1620
atcatctaca gggacctgaa gctggacaat gtgatgctgg atgctgaggg acacatcaag 1680
atcactgact ttggcatgtg taaggagaac gtcttccccg ggacgacaac ccgaaccttc 1740
tgcgggaccc cggactacat agccccggag atcattgcct accagcccta tgggaagtct 1800
gtcgattggt ggctcctttgg agttctgctg tatgagatgt tggcaggaca gcctcccttc 1860
gatggggagg acgaggagga gctgtttcac gccatcatgg aacaaactgt cactacccc 1920
aagtgccttt cccgggaagc cgtggccatc tgcaaggggt tctcgaccaa gcacccaggg 1980
aagcgccttg gctcaggggc tgatggggaa cctaccatcc gtgcacatgg ctttttccgc 2040
tggattgact gggagcggct ggaacgattg gagatccgc ctcctttcag accccgccc 2100
tgtggccgca gctggcgagaa ctttgacaag ttcttcacgc gggcggcgcc agcgtgacc 2160
ctccagacac gcctagtctt ggccagcatc gaccaggcgg atttccaggg cttaacctac 2220
gtgaaccccg acttcgtgca ccgggatgac cgcagcccca ccagcccagt gctgtgccc 2280
gtcatgtaat ctacccgcc gccactaggt gtccccaacg tccctccgc cgtgcggcg 2340
gcagcccccac ttaccccac acttcaccac cccctgtccc attctagatc ctgcaaccca 2400
gcattccagc tctgcccccg cgggttctag acgcccctcc caagcgttcc tggccttctg 2460
aactccatac agcctctaca gccgtccgc gttcaagact tgagcg 2506

```

<210> 6

<211> 1149

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<223> EST, Acc. No.: X 625337

```

<400> 6
ctcccagaga ggagacagag acggactccc aaagagtcaa gttgcagagg gagggggaga 60
cagagtccgc ctgagagaga atagagttca cagagccaga gagacaaaga cagggaagaa 120
aacaaactca gggagacaga ggcggaagaa tttatcagac gtagagggag agacagaggg 180
agactgatcc acagtgagga agaccaagac cccgagaaga accacgacac caagacccag 240
agatggcgac agatcacagat ggagacacac agcagaggaa atagagaaat agaaagaaat 300
agaaacagca tttctcggag acagggaata gaaaacagat ccactgagag gcagaaacag 360

```

WO 02/083727

6/54

PCT/EP02/04090

```

agacacatcg agaaagctcg ctccaggaat agagggagag ggacagaggt cacaagaaag 420
acacacgcag gcagagagct acacaaataa tggagaggcc aggggaggaa ataangactc 480
agccggcctc ggagaaagtg agaaccctag cgcctgcct gtccactgct ggacccttag 540
cgtggagcat aaagtttgtt gaaggaaagg gaggggaggg gtccagacaca ggaccctagg 600
gcgccacacg gacacacgag gcacctagtg ggggaggaa cggggcaggga tgacagattg 660
cagggtggtg ggggggagcc aggcctcagag gatgccttc cctccagcca ggcccccagg 720
gtgggtgtgt gcacgtgtgg ggggcgggca gggaggacat ttgtccctg tctccggag 780
gggagcgctt ttaagccgaa acccgccctc tgggtcgtc tgcaacgcct ccccccctcg 840
gggctccac atttcagcag gtgcgggagc tggagctccc acccgcccg ccgtgcctc 900
cggctgcctg cgcctctgct ttggctctt cctcccact cgcctgctc cctggcgga 960
gcccggcgcc ccgggggtgc gctccctgct tggcgcgctc cgcacctgga ggtgccttc 1020
cctctctctg cccacctcgg aatttccctg tggctctctt gatccttcca gtctccagct 1080
cctctccctt ccacctgttt cccccaagaa aggcaggatc ctggtccctg ctactttct 1140
ggggccatg 1149

```

<210> 7

<211> 647

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<223> cDNA-Sequenz des CAT-homologen Gens auf 19q13.4

```

<400> 7
catgtgttcc tgaagcgtcc agcactccgg cgagtctgtg gagccctgtc agcacatcc 60
ccaccccgag atggggcgcg atcgtctatg gatgtgcctt tctgcttgtt gtccctgtgt 120
ccatgctatg cctgggtattg gcccatggc ccaaacgcct gttctctgga gagctgatct 180
acatcgacgc ggctgtgttg ctgctgggtc tcattgtggg attcactttc accgtctgga 240
gacagcccca gagcaacact cctctttact tcaaggctcc cctgttcctt gttctctct 300
ggtcagatc tctgcacatg tttaacctgat gatgcagatg accactgaga cctggggcca 360
atgtggagtc tggatgttga ttggtttget atgtattttg gatatgggat cccacacaga 420

```

WO 02/083727

7/54

PCT/EP02/04090

```

ttggagaaca atcaacagcc accagcgta agctccaaa ctctcatga aaacatccct 480
agtcctctgc tgaattagtt taaccacgga aaagggatgg tccagtcac tggagggtgc 540
ctctggatga agggaaagtg tgaagctctg tggagcatga aggtgggata cacttaaagc 600
cccttgtagc ttgccagtga gcaaacactt tttaaaaac ttatttt 647

```

<210> 8

<211> 749

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<223> cDNA-Sequenz des DC2-homologen Gens auf 19q13.4 (unsere Sequenz)

```

<400> 8
tagaggccga gaatggccct tgctgccacc aacatggaga ctttgtaccg tgtcccgttc 60
ttagcgcttg aatgtcccaa cctgaagctg aagaagccgc cctggctgca catgcgcttg 120
gccatgacta tgtatgctct ggtgggtggtg tottacttcc tcatcaccag aggaatcggt 180
tatgatgta cggttgaacc gccagggtgt ggctctatga ctgatgaaca agggcatcag 240
aggccagtag ctttcttggc ctacagagta agtggacaat attattatgg aaggacttgg 300
atccagcttc ctgtttacaa tgggaggttt aggtttcata atcctggacc gatcgaatgc 360
accaaatata ccaaaactca atagatttct tottctatcc gttggattcg tctgtgtcct 420
attgagtttt ttacacggct agagtattcg tgagaatgaa actacgggc totctgatgg 480
gttagagtg ctttaagaag aaatcagtg atactggatt tgcctcctgc aatgaagttt 540
taaggctgt ccaatcctct aatatgagat gttagaaaaga aggaagagca gcagtaaaag 600
aaatatctag tgaaaaacca ggaagtgtat tgaagcttgg actagaattt cttctttatt 660
aaagagacaa atttatcaca gtattttctt ttctctgctga ccacattgct ataccaatga 720
tgatgagtg cattttcttc ttagttttt 749

```

<210> 9

<211> 3457

<212> DNA

<213> Homo sapiens

WO 02/083727

8/54

PCT/EP02/04090

<220>

<221> misc_feature

<223> cDNA-Sequenz des PKCgamma-homologen Gens auf 19q13.4, fast 100%ige Homologie soweit vergleichbar, zusammengesetzt aus Acc. No. X 6 25337 und AF 345987

```

<400> 9
ctcccagaga ggagacagag acggactocc aaagagtcaa gttgcagagg gagggggaga    60
cagagtccgc ctgagagaga atagagttca cagagccaga gagacaaaga cagggaagaga    120
aacaactca gggagacaga ggcggaagaa ttatcagac gttaggggag agacagaggg    180
agactgattc acagtgggc agaccaagac ccgagaaga accacgacac caagaccag    240
agatggcgac agatcacagat ggagacacac agcagaggaa atagagaant agaaagaaat    300
agaaacagca ttctccggag acagggaaaa gaaacagat ccactgagag gcagaaacag    360
agacacatcg agaaagctcg ctccaggaat agagggagag ggacagaggt cacaagaag    420
acacacgcag gcagagagct acacaaataa tggagaggcc agggggaggaa ataaagactc    480
agccggcacc ggagaaagtg agaaccctag cgcctgcct gtccactgct ggaaccctag    540
cgtggagcat aaagtttgtt gaaggaaaga gaggggcagg gtcagacaca ggaccccgag    600
gogccacag gacacacgag gcacctagtg ggggaggaaac gcgggcaggga tgacagattg    660
cagggtggtg gggggggagcc aggtcagag gatgcccctc cctccagcca ggcccccgga    720
gtgggtgtgt gcaagtgttg ggggcgggca gggaggacat ttgtccctg tctccgggag    780
gggagcgctt ttaagccgaa acccgccctc tcggtcgctc tgcaacgcct ccccccaccg    840
gggtccccc atttcagcag gtgcgggag tggagctccc accgcgcgc cccgtgcctc    900
cggctgcgg cgccctcgcc ttggtctct cctcccact cgcgcgctcc cctkkgcgga    960
gcggcgcgcc ccggggtgccc gctccctgcc tggcgcgctc cgcacctgga ggtgccttgc    1020
ccctctctcg ccacactcgg aatttccctg tggctcctt gatccttcga gtctccaagct    1080
cctctccctt ccacctgttt cccccaagaa aggcaggatc ctggtccctg ctacgtttct    1140
ggggccatgg ctggctctggg ccccgcgta ggcgattcag aggggggacc ccggccctg    1200
ttctgcagaa agggggctct gaggcagaag gtggtccacg aagtcagag ccacaagttc    1260
accgtctgct tctcaagca gccacacttc tgcagccact gcaccgactt catctggggg    1320
atcggaagac agggccctgca atgtcaagtc tgcagctttg tgggttcacg acgatgccac    1380
gaatttgtga ccttcagtg tccaggcgtc gggaaaggcc ccagacgga cgaccccg    1440
aacaacacac agttccgctt gcatagtac agcagcccca ccttctgcga ccactgtggc    1500

```

WO 02/083727

9/54

PCT/EP02/04090

```

tccctcctct acgggcttgt gcaccagggc atgaaatgtt cttgtgcga gatgaacgtg 1560
caccggcgct gtgtgcgtag cgtgcctct ctgtgcgtg tggaccacac cgagcgccgc 1620
ggggcgctgc agctggagat cggggctccc acagcagatg agatccacgt aactgttggc 1680
gaggcccgta acctaatcc tatggacccc aatggctct ctgatcccta tgtgaaactg 1740
aagctcatcc cagacccctc gaacctgacg aaacagaaga ccgaacgggt gaaagccacg 1800
ctaaaccccg tgtggaatga gacctttgtg ttcaacctga agccaggga tgtggagcgc 1860
cggtccagcg tggaggtgtg ggaactgggc cggacctccc gcaacgactt catggggggc 1920
atgtcctttg gcgtctcga gctgctcaag gcgcgcgtg atggctggta caagttaactg 1980
aaccaggagg agggcgagta ttacaatgtg ccggtggcgg atgctgacaa ctgcagccctc 2040
ctccagaagt ttgaggcttg taactacccc ctggaattgt atgagcgggt gcggatgggc 2100
ccctcttct ctccctccc ctccccttc cctagtccca ccgacccaa gcgtgcttc 2160
ttcggggcga gtccaggagc ctgcacatc tccgacttca gcttctcat ggttcttagga 2220
aaaggcagt ttgggaagg gtatgtggcc gagcgaggg gctctgatga gctctacgc 2280
atcaagatct tgaanaagga cgtgatcgtc caggacgacg atgtggactg cagcgtgggt 2340
gagaaacgtg tgctggcgct gggggcgccg ggtcctggcg gccggcccca ctctctacc 2400
cagctccact ccaccttcca gaccocggac cgcctgtatt tctgatgga gtacgtcac 2460
gggggagact tgatgtacca cattcaacag ctgggcaagt ttaaggagcc ccattgcagc 2520
ttctacggcg cagaaatgc tatcgccctc ttcttcttc acaatcagg catcatctac 2580
agggacctga agctggacaa tgtgatgtg gatgctgag gacacatcaa gatcactgac 2640
tttggcatgt gtaaggagaa cgtcttcccc gggacgacaa ccgcacctt ctgcgggacc 2700
ccggactaca tagcccgga gatcattgcc taccagccct atgggaagtc tgtcgattgg 2760
tggtcctttg gagttctgct gtatgagatg ttggcaggac agcctccctt cgatggggag 2820
gacgaggagg agctgtttca ggccatcatg gaacaaactg taacctacco caagtctgtt 2880
tcccgggaag ccgtggccat ctgcaagggt ttcttgacca agcaccagc gaagcgctg 2940
ggctcagggc ctgatggga acctacatc cgtgcacatg gctttttccg ctggattgac 3000
tgggagcggc tggaaagatt ggagatcccg cctccttca gaccccgccc gtgtggcgc 3060
agcggcgaga accttgacaa gttcttcacg cggggcgccg cagcgtgac cctccagac 3120
cgctagctc tggccagcat cgaccaggcc gatttccagg gcttcccta cgtgaacccc 3180
gacttctgac acccggtgc ccgcagcccc accagcccag tgctgtgac cgtcatgtaa 3240
tctaccgcgc cgcactagg tgtcccaac gtcccctcg ccgtgcccgc ggcagcccca 3300
cttccacccc aacttccca cccctgtcc cattctagat cctgcacccc agcattccag 3360
ctctgcccc gcgggttcta gacgcccctc ccaagcgttc ctggccttct gaactccata 3420

```

WO 02/083727

10/54

PCT/EP02/04090

cagcctctac agccgtcccg cgttcaagac ttgagcg

3457

<210> 10

<211> 1437

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<223> cDNA von CAT-A

<220>

<221> exon

<222> (1)..(312)

<223> Exon 1 von CAT-A

<220>

<221> exon

<222> (313)..(479)

<223> Exon 2 von CAT-A

<220>

<221> exon

<222> (480)..(587)

<223> Exon 3 von CAT-A

<220>

<221> exon

<222> (588)..(1437)

<223> Exon 4 von CAT-A

WO 02/083727

11/54

PCT/EP02/04090

<220>

<221> misc_feature

<222> (275)..(703)

<223> ORF start 1 in CAT-A

<220>

<221> misc_feature

<222> (174)..(530)

<223> ORF start 2 in CAT-A

<220>

<221> misc_feature

<222> (111)..(530)

<223> ORF 3 in CAT-A

<220>

<221> misc_feature

<222> (482)..(667)

<223> 58% Homologie zu humanem CAT3, GB Acc. AF320612

<220>

<221> misc_feature

<222> (482)..(667)

<223> 63% Protein-Homologie zum cationic amino acid transporter 3 [Rattus norvegicus] GB Acc. BAA20133.1

<220>

<221> misc_feature

<222> (452)..(682)

<223> Protein-Homologie zum ecotropic retrovirus receptor [Rattus norvegicus] GB Acc. BAB83893

<400> 10

WO 02/083727

12/54

PCT/EP02/04090

tgg ata tgg gta gat gaa acc tgg gat acg tgg gag cta ccg tgg gtc	48
Trp Ile Trp Val Asp Glu Thr Ser Asp Thr Trp Glu Leu Pro Trp Val	
1 5 10 15	
tat tag gct ctc tga tgt tgg atg aac agg gac ctg ggt taa tct tgc	96
Tyr Ala Leu Cys Trp Met Asn Arg Asp Leu Gly Ser Cys	
20 25	
cct act ctc tct aat tca ggt acc agc cag acg aga att tca gca aga	144
Pro Thr Leu Ser Asn Ser Gly Thr Ser Gln Thr Arg Ile Ser Ala Arg	
30 35 40 45	
acg aga agc cga agg ags aag tag ttg aga tga att ctg tac cca aag	192
Thr Arg Ser Arg Arg Lys Leu Arg Ile Leu Tyr Pro Lys	
50 55	
cag aat ccc cag cat gtg ttc ctg aag cgt cca gca ctc cgg cga gtc	240
Gln Asn Pro Gln His Val Phe Leu Lys Arg Pro Ala Leu Arg Arg Val	
60 65 70 75	
tgt gga gcc ctg tca gca cca tcc cca ccc cga gat ggg gcc gca tcg	288
Cys Gly Ala Leu Ser Ala Pro Ser Pro Pro Arg Asp Gly Ala Ala Ser	
80 85 90	
tct atg gat gtg cct ttc tgc ttg ttg tcc tgc tgt cca tgc tat gcc	336
Ser Met Asp Val Pro Phe Cys Leu Leu Ser Cys Cys Pro Cys Tyr Ala	
95 100 105	
tgg tat tgg ccc att ggc cca aac gcc tgt tct ctg gag agc tga tct	384
Trp Tyr Trp Pro Ile Gly Pro Asn Ala Cys Ser Leu Glu Ser Ser	
110 115 120	
aca tcg cag cgg ctg tgt tgc tgc tgg tgc tca ttg tgg gat tca ctt	432
Thr Ser Gln Arg Leu Cys Cys Cys Trp Cys Ser Leu Trp Asp Ser Leu	
125 130 135	
tca ccg tct gga gac agc ccc aga gca aca ctc ctc ttt act tca ag g	480
Ser Pro Ser Gly Asp Ser Pro Arg Ala Thr Leu Leu Phe Thr Ser Arg	
140 145 150	
tcc ccc tgt tgc ctg ttc tcc tct ggt cag cat ctc tgc aca tgt tta	528
Ser Pro Cys Cys Leu Phe Ser Ser Gly Gln His Leu Cys Thr Cys Leu	
155 160 165 170	
cct gat gat gca gat gac cac tga gac ctg ggc cca atg tgg agt ctg	576
Pro Asp Asp Ala Asp Asp His Asp Leu Gly Pro Met Trp Ser Leu	
175 180 185	
gat gtt gat tg g att tgc tat gta ttt tgg ata tgg gat ccc aca cag	624
Asp Val Asp Trp Ile Cys Tyr Val Phe Trp Ile Trp Asp Pro Thr Gln	
190 195 200	
ctt gga gaa caa tca aca gcc acc agc gtc aag ctc cca aac tcc tca	672
Leu Gly Glu Gln Ser Thr Ala Thr Ser Val Lys Leu Pro Asn Ser Ser	
205 210 215	
tga aaa cat ccc tag tcc ctt gct gaa tta gtt taa cca cgg aaa agg	720
Lys His Pro Ser Leu Ala Glu Leu Val Pro Arg Lys Arg	
220 225 230	
gat ggt cca gtc cac tgg ags tgt cct ctg gat gaa ggg aaa gtg tga	768
Asp Gly Pro Val His Trp Arg Cys Pro Leu Asp Glu Gly Lys Val	
235 240 245	

WO 02/083727

13/54

PCT/EP02/04090

```

agc tct gtg gag cat gaa ggt ggg ata cac tta aag ccc ctt gtg cat      816
Ser Ser Val Glu His Glu Gly Gly Ile His Leu Lys Pro Leu Val His      250 255 260

tgc cag tga gca aac act ttt taa aaa act tta ttt tgt tgt ttg ttt      864
Cys Gln Ala Asn Thr Phe Lys Thr Leu Phe Cys Cys Leu Phe      265 270 275

gtt tgt ttg ttt gtt tgt ttg tta tag agg tga gga ctt gct ctg ttg      912
Val Cys Leu Phe Val Cys Leu Leu Arg Gly Leu Ala Leu Leu      280 285

ccc agg cgg aac ttg aac tcc tgg gct caa gtg atc ctc ctg cct cag      960
Pro Arg Arg Asn Leu Asn Ser Trp Ala Gln Val Ile Leu Leu Pro Gln      290 295 300 305

tct tcc aag cag ctg gga cta cag gta ccc cat cat acc cag ctt aac      1008
Ser Ser Lys Gln Leu Gly Leu Gln Val Pro His His Thr Gln Leu Asn      310 315 320

aaa ata tct tta ttt gat ttg att ttt ttt ctt ttt gag aca gag tct      1056
Lys Ile Ser Leu Phe Asp Leu Ile Phe Phe Leu Phe Glu Thr Glu Ser      325 330 335

cgc tct att gcc cag tct gga gtg cag tgg cat gat ctt ggc tca ctg      1104
Arg Ser Ile Ala Gln Ser Gly Val Gln Trp His Asp Leu Gly Ser Leu      340 345 350

caa cct ccg cct ccc ggg ttc aag tga ttc ccc tgy gtg agc ctc cag      1152
Gln Pro Pro Pro Gly Phe Lys Phe Pro Cys Val Ser Leu Gln      355 360 365

agt agc tgg aat tac agg cac atg aca ctg tgc cca gct aat ttt tot      1200
Ser Ser Trp Asn Tyr Arg His Met Thr Leu Cys Pro Ala Asn Phe Ser      370 375 380

tta tta gya gag acc agg ttt cac cat gtt ggc cag gct ggt ctt gaa      1248
Leu Leu Xaa Glu Thr Arg Phe His His Val Gly Gln Ala Gly Leu Glu      385 390 395 400

ctc ctg acc tca agt gat cca cct gcc tgg gcc tcc caa agt gct gag      1296
Leu Leu Thr Ser Ser Asp Pro Pro Ala Ser Ala Ser Gln Ser Ala Glu      405 410 415

att aca ggc ctg agc cac cgt gcc cag cca aaa taa ctt taa aaa ctt      1344
Ile Thr Gly Leu Ser His Arg Ala Gln Pro Lys Leu Lys Leu      420 425 430

aca ttt tta aaa att gac aaa yaa aag ttg tct atg ttt atg gtg tac      1392
Thr Phe Leu Lys Ile Asp Lys Xaa Lys Leu Ser Met Phe Met Val Tyr      435 440 445

aat tgc ata tat tat atg tat taa aat tgt gta tgt tta tgg tat      1437
Asn Cys Ile Tyr Tyr Met Tyr Asn Cys Val Cys Leu Trp Tyr      450 455 460

```

<210> 11

<211> 1168

WO 02/083727

14/54

PCT/EP02/04090

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<223> cDNA von CAT-A1

<400> 11
tggatatggg tagatgaaac ctcgatatcg tgggagctac cgtgggtgta ttaggtcttc 60
tgatgttggg tgaacaggga cctgggttaa tcttgcccta ctctctctaa ttcaggtaac 120
agccagacga gaatttcagc aagaacgaga agccgaagga ggaagtagtt gagatgaatt 180
ctgtacccaa agcagaatcc ccagcatgtg ttccctgaagc gtccagcact ccggcgagtc 240
tgtggagccc tgtcagcaco atccccacco cgagatgggg ccgcacgtgc tatggatgtg 300
cctttctgct tgttgtctctg ctgtccatgc tatgctggtt attggcccat tggcccaaac 360
gcctgttctc tggagagctg atctacatcg cagcggctgt gttgctgctg gtgctcattg 420
tgggattcac ttccacgtc tggagacagc cccagagcaa cactctcttt taactcaagg 480
tccccctgtt gcctgttctc ctctggtcag catctctgca catgtttacc tgatgatgca 540
gatgaaccact gagacctggg cccaatgtgg agtctggatg ttgattggat ttgctatgta 600
ttttggatat gggatccac acagcttggg gaacaatcaa cagccaccag cgtcaagctc 660
ccaaactcct catgaaaaca tccctagtcc ctgtctgaat tagtttaacc acggaaaagg 720
gatggtccag tccactggag gtgtccctctg gatgaaggga aagtgtgaag ctctgtggag 780
catgaagaga tggagtttca cctgttgtcc gaggtggtc ttgaactcct gagctgaagc 840
catcctctctg cctctggcct ctaaaagtgc tgggattcca ggctgtgagc agcgtgcccg 900
gccatcatgt ttactcaaaa cagattttct ctggcgtctt ctaggacact tgtatctgat 960
ctttactgaa agtcacatcc ttagcaagac ttaaccttac atcctgagta aaattgacga 1020
ttccacagat gccctcaatc ttctctgacc tgggctctc ttctgtttcc cggcatggct 1080
tgaagcgcaa cggcattcta cctgtttact caggatgtgt cttaaccatta aagtcctctc 1140
ctgcagagca gttggcttga tttcacct 1168

<210> 12

<211> 5278

<212> DNA

WO 02/083727

15/54

PCT/EP02/04090

<213> Homo sapiens

<220>

<221> exon

<222> (1)..(312)

<223> Exon 1 von CAT-A/A1

<220>

<221> exon

<222> (1501)..(1667)

<223> Exon 2 von CAT-A/A1

<220>

<221> exon

<222> (2292)..(2399)

<223> Exon 3 von CAT-A/A1

<220>

<221> exon

<222> (3230)..(4079)

<223> Exon 4 von CAT-A

<220>

<221> misc_feature

<222> (3230)..(3429)

<223> alternatives Exon 4a von CAT-A1

<220>

<221> exon

<222> (4898)..(5278)

<223> Exon 5 von CAT-A1

WO 02/083727

16/54

PCT/EP02/04090

<400> 12
 tgg ata tgg gta gat gaa acc tgg gat acg tgg gag cta cgg tgg gtg 48
 Trp Ile Trp Val Asp Glu Thr Ser Asp Thr Trp Glu Leu Pro Trp Val
 1 5 10 15
 tat tag gct ctc tga tgt tgg atg aac agg gac ctg ggt taa tct tgc 96
 Tyr Ala Leu Cys Trp Met Asn Arg Asp Leu Gly Ser Cys
 20 25
 cct act ctc tct aat tca ggt acc agc cag acg aga att tca gca aga 144
 Pro Thr Leu Ser Asn Ser Gly Thr Ser Gln Thr Arg Ile Ser Ala Arg
 30 35 40 45
 acg aga agc cga agg agg aag tag ttg aga tga att ctg tac cca aag 152
 Thr Arg Ser Arg Arg Arg Lys Leu Arg Ile Leu Tyr Pro Lys
 50 55
 cag aat ccc cag cat gtg ttc ctg aag cgt cca gca ctc cgg cga gtc 240
 Gln Asn Pro Gln His Val Phe Leu Lys Arg Pro Ala Leu Arg Arg Val
 60 65 70 75
 tgt gga gcc ctg tca gca cca tcc cca ccc cga gat ggg gcc gca tgg 288
 Cys Gly Ala Leu Ser Ala Pro Ser Pro Pro Arg Asp Gly Ala Ala Ser
 80 85 90
 tct atg gat gtg cct ttc tgc ttg gtgagcagtg gcgtttctcc gcgggtgtgt 342
 Ser Met Asp Val Pro Phe Cys Leu
 95
 ttgaacctga tagcatgctg cagggggcgg agtagggagt gtggggcttt ggtagttgag 402
 agggagttgt aagatgttgt ggcccttctt agtaggcgca cttttggcgg ggcacagtgg 462
 attacacatg gaatcccgag actttgggag gctgaggcgg gacaaactgt tgagcctggg 522
 cagtcgaggg ttcaagtgaat caagaccaca ccactgcact gtagtctggg caatggggcg 582
 agatcccatc tcaaaaaaca acaaaaaagc catatatata tatacacaca cacacacata 642
 tatacacaca cacacaata catatacaca cacaatatata tatatatata attaaaagtt 702
 taggctgggt gtggtggctc actttagaag gctgaggcaa gtggatcaact tgaggtgagg 762
 agttgagacc agcctgggca acatggtgaa acccatctc tactaaaaat acaaaaaatt 822
 aggtcaggga cagtggctca cgcctgtaat cccagcactc tgggaggcgg ggtgcggggg 882
 gggagtggaat cacaaggta gtagttcgag atcagcctgg ccaacatggt gaaaccccat 942
 ctctactaaa aatacaaaaa ttagccgagc acggtggcag acgcctgtaa tccagctac 1002
 tcggggagac tgaggcagga gaattatttg aaccggagag gccgagtttc cagttagcca 1062
 agatcacgac actgcacttc agcctgggca acagagaaa actttttctc aaaaaaaaaa 1122
 aaaaaatata aaaaattagc tgggtgttgt ggcagttacc tgtaatccca gctacttggg 1182
 aggtcgaggc aggagaatca cttgaaccca ggaggcagag gttgcagtga gccaaagattg 1242
 tgccactgca ctccatcctg ggcaacaaga gtgaaactgc atctcaaaaa aaaaaaaaaa 1302

WO 02/083727

17/54

PCT/EP02/04090

gtatttgggt gtgctgacac gtgcctgtag tccctacttg ggaggctggc acacacacac 1362
 acacacacac acacacacac acacacacac acacccatag ccatatataat gggttggggg 1422
 ataggatgtg gcccgagatg ttcaattatt tagcttttga agttgaacct gttctcccca 1482
 accttgaccc ttttcag ttg tcc tgc tgt cca tgc tat gcc tgg tat tgg 1533
 Leu Ser Cys Cys Pro Cys Tyr Ala Trp Tyr Trp
 100 105 110
 ccc att gcc cca aac gcc tgt tct ctg gag agc tga tct aca tgg cag 1581
 Pro Ile Gly Pro Asn Ala Cys Ser Leu Glu Ser Ser Thr Ser Gln
 115 120 125
 cgg ctg tgt tgc tgc tgg tgc tca ttg tgg gat tca ctt tca ccg tct 1629
 Arg Leu Cys Cys Trp Cys Ser Leu Trp Asp Ser Leu Ser Pro Ser
 130 135 140
 gga gac agc ccc aga gca aca ctc ctc ttt act tca ag gtagggtggc 1677
 Gly Asp Ser Pro Arg Ala Thr Leu Leu Phe Thr Ser Arg
 145 150
 ttatgtcccc acaccacct cctgagtcag tggactctgc atgcctcaag ctctaaatac 1737
 tctaaggggac cagggggtaaa aagggcagtt gcgaaaaacc aatggactgt tcatggacac 1797
 cccctccagc cccacatat cagtacttcc caaaacctgt ctctccaga acacccaatg 1857
 gaatacctac tcagaacagg cattgagcca ggtgaggtgg ctacacctg taatccacgc 1917
 actttggggg gcccaaggcgg gtggatcact tgaggcgagg agttcgggac cagcctgacc 1977
 aacatggtga aattccggtt ctactaaaaa taaaaaaatt agccgggcat ggtggtgtgt 2037
 gccgtaato ccagctactc aggaggtgta ggcaggagaa tcgcttgaac ccaggaggcg 2097
 gatgttgcab tcagctgaga tcgcgcact gcactccagc ctgggtgaca cagcaagact 2157
 ctgtctcaaa aaaaaaaaaa aaagaatagg cattgaatat gcgactgcaa cagagctgag 2217
 gccttccca cccctggaat aagggtccct tgcagacgtt cgtggtgtgc tcacgggttaa 2277
 cgctttgcct gcag g tcc ccc tgt tgc ctg ttc tcc tct ggt cag cat ctc 2328
 Ser Pro Cys Cys Leu Phe Ser Ser Gly Gln His Leu
 155 160 165
 tgc aca tgt tta cct gat gat gca gat gac cac tga gac ctg gcc cca 2376
 Cys Thr Cys Leu Pro Asp Asp Ala Asp Asp His Asp Leu Gly Pro
 170 175 180
 atg tgg agt ctg gat gtt gat tg gtgagtggtt tcttgaaaa aaagaggcct 2429
 Met Trp Ser Leu Asp Val Asp Trp
 185
 ctgggtgtgc tgagcccaac actcttctct cyacctttcc ctatagctgt ctacggctaa 2489
 cagtggtggg tgtgctgtga gtccagcta ctcaggagat gaaggcagga gcatocttg 2549
 agaccaggag ctccagacca gcttgggcaa catggcgaga ctccacctct accaaaaata 2609
 aaaactggcc gcacgcagtg gctcgacact ataattccag cacttcaggg ggccaaggca 2669
 ggtgggtcac ctaagatcag gagctcaaga acagcctggc caacatggtg aaaccccatc 2729

WO 02/083727

18/54

PCT/EP02/04090

```

tctactaaaa atacaaaaaa gtagccgggc gtggtggcgg gcgcctgtaa tcccacctac 2789
tcaggagggt gaggcattgag aattgcttga acccaggagg cagagtttgc ggtgagccga 2849
gatcatgcca ttgcactcca gcgcaggcga caggagctga gattgtgcca ctgcactcca 2909
gcctgggtga cagagtgaga tgctgtctca aaaaaaaaaa aaaaaaattag 2969
ccaggcacgg tggcacctgc ctgtagtcac atctattctg aaggctgagg tgggaggatc 3029
gcttgaaccc aggaggtcga ggctgcagtg agccatgata atgccactgc actocagcct 3089
gggcaatgga gcgaagctct atttttaaat aaaagaaaca agaaaacctc caaataaaca 3149
aaccacagta taatcgctat agggcattta taagggaagg ggtgactaca ttctctttca 3209
ttgtctcatt tccctgctag g att tgc tat gta ttt tgg ata tgg gat ccc 3260
Ile Cys Tyr Val Phe Trp Ile Trp Asp Pro
190 195

aca cag ctt gga gaa caa tca aca gcc acc agc gtc aag ctc cca aac 3308
Thr Gln Leu Gly Glu Gln Ser Thr Ala Thr Ser Val Lys Leu Pro Asn
200 205 210 215

tcc tca tga aaa cat ccc tag tcc ctt gct gaa tta gtt taa cca cgg 3356
Ser Ser Lys His Pro Ser Leu Ala Glu Leu Val Pro Arg
220 225

aaa agg gat ggt cca gtc cac tgg agg tgt cct ctg gat gaa ggg aaa 3404
Lys Arg Asp Gly Pro Val His Trp Arg Cys Pro Leu Asp Glu Gly Lys
230 235 240

gtg tga agc tct gtg gag cat gaa ggt ggg ata cac tta aag ccc ctt 3452
Val Ser Ser Val Glu His Glu Gly Gly Ile His Leu Lys Pro Leu
245 250 255

gtg cat tgc cag tga gca aac act ttt taa aaa act tta ttt tgt tgt 3500
Val His Cys Gln Ala Asn Thr Phe Lys Thr Leu Phe Cys Cys
260 265 270

ttg ttt gtt tgt ttg ttt gtt tgt ttg tta tag agg tga gga ctt gct 3548
Leu Phe Val Cys Leu Phe Val Cys Leu Leu Arg Gly Leu Ala
275 280 285

ctg ttg ccc agg cgg aac ttg aac tcc tgg gct caa gtg atc ctc ctg 3596
Leu Leu Pro Arg Arg Asn Leu Asn Ser Trp Ala Gln Val Ile Leu Leu
290 295 300

cct cag tct tcc aag cag ctg gga cta cag gta ccc cat cat acc cag 3644
Pro Gln Ser Ser Lys Gln Leu Gly Leu Gln Val Pro His His Thr Gln
305 310 315

ctt aac aaa ata tct tta ttt gat ttg att ttt ttt ctt ttt gag aca 3692
Leu Asn Lys Ile Ser Leu Phe Asp Leu Ile Phe Phe Leu Phe Glu Thr
320 325 330 335

gag tct cgc tct att gcc cag tct gga gtg cag tgg cat gat ctt ggc 3740
Glu Ser Arg Ser Ile Ala Gln Ser Gly Val Gln Trp His Asp Leu Gly
340 345 350

tca ctg caa cct cgg cct ecc ggg ttc aag tga ttc ccc tgy gtg agc 3788
Ser Leu Gln Pro Pro Pro Gly Phe Lys Phe Pro Cys Val Ser

```

WO 02/083727

19/54

PCT/EP02/04090

355	360	365	
ctc cag agt agc tgg aat tac agg cac atg aca ctg tgc cca gct aat			3836
Leu Gln Ser Ser Trp Asn Tyr Arg His Met Thr Leu Cys Pro Ala Asn			
370	375	380	
ttt tct tta tta gya gag acc agg ttt cac cat gtt ggc cag gct ggt			3884
Phe Ser Leu Leu Xaa Glu Thr Arg Phe His His Val Gly Gln Ala Gly			
385	390	395	
ctt gaa ctc ctg acc tca agt gat cca cct gcc tgg gcc tcc caa agt			3932
Leu Glu Leu Leu Thr Ser Ser Asp Pro Pro Ala Ser Ala Ser Gln Ser			
400	405	410	
gct gag att aca ggc ctg agc cac cgt gcc cag cca aaa taa ctt taa			3980
Ala Glu Ile Thr Gly Leu Ser His Arg Ala Gln Pro Lys Leu			
415	420	425	
aaa ctt aca ttt tta aaa att gac aaa yaa aag ttg tct atg ttt atg			4028
Lys Leu Thr Phe Leu Lys Ile Asp Lys Xaa Lys Leu Ser Met Phe Met			
430	435	440	
gtg tac aat tgc ata tat tat atg tat taa aat tgt gta tgt tta tgg			4076
Val Tyr Asn Cys Ile Tyr Tyr Met Tyr Asn Cys Val Cys Leu Trp			
445	450	455	
tat acatgaagct tggaaatatg tatacattgt ggaattgcta aatcaggttg			4129
Tyr			
460			
attaacgtat tcattacett acataccttt tttttttttg agatggagtc tccctctgtc			4189
gcccagaactg gagtgcagta gtgtgatctc agctcaactgc aacctccgcc tcccaggttc			4249
aagcaattct cctgcctcag cctcctgagt agctgggatt acaggtgtgc cccaccattc			4309
ccggctaatt tttgtgttt tagtagagac ggggtttcac catgtcggtc aggtctggtc			4369
cgaatgcctg acctcatgat ctgcccgcct cggcctccca aagtgcctgg attacaggcg			4429
tgagccaacca caccagcct tacgtgccat tttttttttt ttttgtgta aaaacattta			4489
aaatggcogg gtgcggtggc tcatgctgt aatccagca ctttgggagg ccaaggcagg			4549
tggatcatct gaggtcagga gttcaagacc agtctggcca acgtggcgaa accctgtctc			4609
tactaaaaat acaaaaaatt agctggggcg cagtggcagg tgctgtaat cccagctact			4669
cgggagactg aggtctgaac ccagaggcag aggttgagct gagctgagat tgcaccattg			4729
cactccagct tgggcaacaa gagtgaatt catctcaaaa aaaaaaaaaa atagccaggt			4789
gcggctctga actccggcc tcaagtgatc ctcttgcttc agcctccga gtagctggga			4849
atacaggcat gcgctaccac accagggtaa tttttgtatt tacagtag aga tgg agt			4906
		Arg Trp Ser	
ttc acc ttg ttg ccg agg ctg gtc ttg aac tcc tga gct gaa gcc atc			4954
Phe Thr Leu Leu Pro Arg Leu Val Leu Asn Ser Ala Glu Ala Ile			
465	470	475	
ctc ctg cct ctg gcc tct aaa agt gct ggg att cca ggc gtg agc cag			5002

```

400> 13
Met Gly Pro His Arg Leu Trp Met Cys Leu Ser Ala Cys Cys Pro Ala
1          5          10          15

Val His Ala Met Pro Gly Ile Gly Pro Leu Ala Gln Thr Pro Val Leu
          20          25          30

Trp Arg Ala Asp Leu His Arg Ser Gly Cys Val Ala Ala Gly Ala His
          35          40          45

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

```

WO 02/083727

21/54

PCT/EP02/04090

Ser Leu Leu Gln Gly Pro Pro Val Ala Cys Ser Pro Leu Val Ser Ile
65 70 75 80

Ser Ala His Val Tyr Leu Met Met Gln Met Thr Thr Glu Thr Trp Ala
85 90 95

Gln Cys Gly Val Trp Met Leu Ile Gly Phe Ala Met Tyr Phe Gly Tyr
100 105 110

Gly Ile Pro His Ser Leu Glu Asn Asn Gln Gln Pro Pro Ala Ser Ser
115 120 125

Ser Gln Thr Pro His Glu Asn Ile Pro Ser Pro Leu Leu Asn
130 135 140

<210> 14

<211> 119

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> Proteinsequenz des ORF 2 der mRNA von CAT-A

<400> 14

Met Asn Ser Val Pro Lys Ala Glu Ser Pro Ala Cys Val Pro Glu Ala
1 5 10 15

Ser Ser Thr Pro Ala Ser Leu Trp Ser Pro Val Ser Thr Ile Pro Thr
20 25 30

Pro Arg Trp Gly Arg Ile Val Tyr Gly Cys Ala Phe Leu Leu Val Val
35 40 45

Leu Leu Ser Met Leu Cys Leu Val Leu Ala His Trp Pro Lys Arg Leu
50 55 60

Phe Ser Gly Glu Leu Ile Tyr Ile Ala Ala Ala Val Leu Leu Leu Val
65 70 75 80

Leu Ile Val Gly Phe Thr Phe Thr Val Trp Arg Gln Pro Gln Ser Asn
85 90 95

WO 02/083727

22/54

PCT/EP02/04090

Thr Pro Leu Tyr Phe Lys Val Pro Leu Leu Pro Val Leu Leu Trp Ser
100 105 110

Ala Ser Leu His Met Phe Thr
115

<210> 15

<211> 140

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> Proteinsequenz des ORF 3 der mRNA von CAT-A

<400> 15

Phe Arg Tyr Gln Pro Asp Glu Asn Phe Ser Lys Asn Glu Lys Pro Lys
1 5 10 15

Glu Glu Val Val Glu Met Asn Ser Val Pro Lys Ala Glu Ser Pro Ala
20 25 30

Cys Val Pro Glu Ala Ser Ser Thr Pro Ala Ser Leu Trp Ser Pro Val
35 40 45

Ser Thr Ile Pro Thr Pro Arg Trp Gly Arg Ile Val Tyr Gly Cys Ala
50 55 60

Phe Leu Leu Val Val Leu Leu Ser Met Leu Cys Leu Val Leu Ala His
65 70 75 80

Trp Pro Lys Arg Leu Phe Ser Gly Glu Leu Ile Tyr Ile Ala Ala Ala
85 90 95

Val Leu Leu Leu Val Leu Ile Val Gly Phe Thr Phe Thr Val Trp Arg
100 105 110

Gln Pro Gln Ser Asn Thr Pro Leu Tyr Phe Lys Val Pro Leu Leu Pro
115 120 125

Val Leu Leu Trp Ser Ala Ser Leu His Met Phe Thr

WO 02/083727

23/54

PCT/EP02/04090

130 135 140

<210> 16
<211> 1686
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> genomische Sequenz des DC2 homologen Gens

<220>
<221> exon
<222> (1)..(288)
<223> Exon 3 des zu DC2 homologen Gens

<220>
<221> exon
<222> (621)..(863)
<223> Exon 2 des zu DC2 homologen Gens

<220>
<221> exon
<222> (1183)..(1686)
<223> Exon 1 des zu DC2 homologen Gens

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(288)
<223> komplementär (1..288) homolog zum XM_034710-mRNA-Endteil Nukleoti
de 782..1070 (XM_034710; mRNA von Homo sapiens DC2)

WO 02/083727

24/54

PCT/EP02/04090

<220>

<221> misc_feature

<222> (621)..(863)

<223> komplementär (621..863) homolog zum XM_034710-mRNA-Teil Nukleotid
e 539..782 (XM_034710: mRNA von Homo sapiens DC2)

<220>

<221> misc_feature

<222> (1183)..(1686)

<223> komplementär (1183..1686) homolog zum XM_034710 mRNA-Teil Nukleot
ide 1183..1686 (XM_034710: mRNA von Homo sapiens DC2)

<400> 16

```

ttt ttt aat tag tat tta ttt ctg ttc ctt tca tac atg tta ttg ttc      48
Phe Phe Asn      Tyr Leu Phe Leu Phe Leu Ser Tyr Met Leu Leu Phe
1          5      10          15

agg cag cag tct tac ata cct atc tga aat aat cta cca tca cac act      96
Arg Gln Gln Ser Tyr Ile Pro Ile      Asn Asn Leu Pro Ser His Thr
          20          25          30

cta gtt aaa gcc aaa gct cgg tag gta aag ctg acc agc tgt cca gag      144
Leu Val Lys Ala Lys Ala Pro      Val Lys Leu Thr Ser Cys Pro Glu
          35          40          45

ttc tca gct cat gga atc ttg ctt ctt gat ttt atg tta att tct gaa      192
Phe Ser Ala His Gly Ile Leu Leu Leu Asp Phe Met Leu Ile Ser Glu
          50          55          60

agt cag aaa tgt cat ctc caa aaa gtg tta agg ggg ttg taa aaa ata      240
Ser Gln Lys Cys His Leu Gln Lys Val Leu Arg Gly Leu      Lys Ile
          65          70          75

atc act ata ttt gct att ata gtt gta ggt atg cag tat att ttc ttt      288
Ile Thr Ile Phe Ala Ile Ile Val Val Gly Met Gln Tyr Ile Phe Phe
          80          85          90

tctttcttctt tttctttttt tttttttgaa acagagtctc gctctgtctc ccaggctgga      348

gtgcagtggc agcgatctag gctcactgca gccctcgcct cccaggttca cgtgattctc      408

ctgcctcagc cttccaagta gctgggatta caggtgcccc gccaccacca cgcccgcta      468

atttttgtat ttttagtaga gatgggggtt caacatggtg gccaggctgg tctggaactc      528

ctgaacctcgt gatctgcccc ccttggcctc ccaagtgct gggactacag aagtgagcca      588

ccggcctcgg cttgtatttt ctttaagaaa ta aaa aac taa gaa gaa aat gcc      641
          Lys Asn      Glu Glu Asn Ala
          95

act cat cat cat tgg tat agc aat gtg gtc agc agg aaa aga aaa tac      689
Thr His His His Trp Tyr Ser Asn Val Val Ser Arg Lys Arg Lys Tyr

```

WO 02/083727

25/54

PCT/EP02/04090

100	105	110	
tgt gat aaa ttt gtc tct tta ata aag aag aaa ttc tag tcc aag ctt			737
Cys Asp Lys Phe Val Ser Leu Ile Lys Lys Lys Phe Ser Lys Leu			
115	120	125	
caa tac act tcc tgg ttt ttc act aga tat ttc ttt tac tgc tgc tct			785
Gln Tyr Thr Ser Trp Phe Phe Thr Arg Tyr Phe Phe Tyr Cys Cys Ser			
130	135	140	145
tcc ttc ttt tct aca tct cat att aga gga ttg gac agc ctt taa aac			833
Ser Phe Phe Ser Thr Ser His Ile Arg Gly Leu Asp Ser Leu Asn			
150	155	160	
ttc att gac agg agc aaa tcc agt atg cac tgatttcttt ttttttttct			883
Phe Ile Asp Arg Ser Lys Ser Ser Met His			
165	170		
tttttttttt ttgtgtgaga cggagatttta ctcttggtgt ccaggctgga gtgcaatggt			943
gcgatctcgg ctcaccgcat cctctgcctc ccgggttcaa gcaattctcc tgcctcagcc			1003
tcccgagtag ctgggattac agacatgtgt caccacgcct ggctaatttt gtatttgtag			1063
tagggatggg gttttaccat gtgcccagg ctgatctcga actcctgacc tcagataatc			1123
cgctgcctc ggctcccaa agtgcctggga ttgacaggcg tgagccactg caccacagcc			1182
tga ttt ctt ctt aaa ggc act cta acc cat cag aga gcc cgg tag ttt			1230
Phe Leu Leu Lys Gly Thr Leu Thr His Gln Arg Ala Arg Phe			
175	180		
cat tct cac gaa tac tct agc cgt gaa aaa aac tca ata gga cac aga			1278
His Ser His Glu Tyr Ser Ser Arg Glu Lys Asn Ser Ile Gly His Arg			
185	190	195	200
cga atc caa cga ata gaa gaa gaa atc tat tga gtt ttg gga tat ttg			1326
Arg Ile Gln Arg Ile Glu Glu Glu Ile Tyr Val Leu Gly Tyr Leu			
205	210	215	
gtg cat tcc atc ggt cca gga tta tga aac cta aac ctc cca ttg taa			1374
Val His Ser Ile Gly Pro Gly Leu Asn Leu Asn Leu Pro Leu			
220	225		
aca gga agc tgg atc caa gtc ctt cca taa taa tat tgt cca ctt act			1422
Thr Gly Ser Trp Ile Gln Val Leu Pro Tyr Cys Pro Leu Thr			
230	235	240	
ctg tag gcc aag aaa gct act ggc ctc tga tgc cct tgt tca tca gtc			1470
Leu Ala Lys Lys Ala Thr Gly Leu Cys Pro Cys Ser Ser Val			
245	250	255	
ata gag cca aca cct ggc ggt tca acc gta aca tca taa acg att cct			1518
Ile Glu Pro Thr Pro Gly Gly Ser Thr Val Thr Ser Thr Ile Pro			
260	265	270	
ctg gtg atg agg aag taa gac acc acc acc aga gca tac ata gtc atg			1566
Leu Val Met Arg Lys Asp Thr Thr Thr Arg Ala Tyr Ile Val Met			
275	280	285	
gcc aac ggc atg tgc agc cag ggc ggc ttc ttc agc ttc agg ttg gga			1614
Ala Asn Gly Met Cys Ser Gln Gly Gly Phe Phe Ser Phe Arg Leu Gly			
290	295	300	

WO 02/083727

26/54

PCT/EP02/04090

```
cat tca agc gct aag aac ggg aca cgg tac aaa gtc tcc atg ttg gtg      1662
His Ser Ser Ala Lys Asn Gly Thr Arg Tyr Lys Val Ser Met Leu Val
   305              310              315

gca gca agg gcc att ctc ggc ctc      1686
Ala Ala Arg Ala Ile Leu Gly Leu
   320              325
```

<210> 17

<211> 1035

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<223> mögliche mRNA des DC2-homologen Gens

<220>

<221> exon

<222> (1)..(504)

<223> Exon 1 des zu DC2 homologen Gens

<220>

<221> exon

<222> (505)..(747)

<223> Exon 2 des zu DC2 homologen Gens

<220>

<221> exon

<222> (748)..(1035)

<223> Exon 3 des zu DC2 homologen Gens

<220>

<221> misc_feature

WO 02/083727

27/54

PCT/EP02/04090

<222> (1)..(504)

<223> weitgehend homolog zu den Nukleotiden 37-538 von XM_034710 (mRNA von DC2)

<220>

<221> misc_feature

<222> (504)..(747)

<223> weitgehend homolog zu den Nukleotiden 539-782 von XM_034710 (mRNA von DC2)

<220>

<221> misc_feature

<222> (748)..(1035)

<223> weitgehend homolog zu den Nukleotiden 782-1070 von XM_034710 (mRNA von DC2)

<400> 17

gag gcc gag aat ggc cct tgc tgc cac caa cat gga gac ttt gta ccg	48
Glu Ala Glu Asn Gly Pro Cys Cys His Gln His Gly Asp Phe Val Pro	
1 5 10 15	
tgt ccc gtt ctt agc gct tga atg tcc caa cct gaa gct gaa gaa gcc	96
Cys Pro Val Leu Ser Ala Met Ser Gln Pro Glu Ala Glu Glu Ala	
20 25 30	
gcc ctg gct gca cat gcc gtt ggc cat gac tat gta tgc tct ggt ggt	144
Ala Leu Ala Ala His Ala Val Gly His Asp Tyr Val Cys Ser Gly Gly	
35 40 45	
ggt gtc tta ctt cct cat cac cag agg aat cgt tta tga tgt tac ggt	192
Gly Val Leu Leu Pro His His Gln Arg Asn Arg Leu Cys Tyr Gly	
50 55 60	
tga acc gcc agg tgt tgg ctc tat gac tga tga aca agg gca tca gag	240
Thr Ala Arg Cys Trp Leu Tyr Asp Thr Arg Ala Ser Glu	
65 70 75	
gcc agt agc ttt ctt ggc cta cag agt aag tgg aca ata tta tta tgg	288
Ala Ser Ser Phe Leu Gly Leu Gln Ser Lys Trp Thr Ile Leu Leu Trp	
80 85 90	
aag gac ttg gat cca gct tcc tgt tta caa tgg gag gtt tag gtt tca	336
Lys Asp Leu Asp Pro Ala Ser Cys Leu Gln Trp Glu Val Val Ser	
95 100 105	
taa tcc tgg acc gat cga atg cac caa ata tcc caa aac tca ata gat	384
Ser Trp Thr Asp Arg Met His Gln Ile Ser Gln Asn Ser Ile Asp	
110 115 120	
ttc ttc ttc tat tgg gat tgg tct gtg tcc tat tga gtt ttt ttc	432

WO 02/083727

28/54

PCT/EP02/04090

```

Phe Phe Phe Tyr Ser Leu Asp Ser Ser Val Ser Tyr Val Phe Phe
125 130 135
acg gct aga gta ttc gtg aga atg aaa cta ccg ggc tct ctg atg ggt 480
Thr Ala Arg Val Phe Val Arg Met Lys Leu Pro Gly Ser Leu Met Gly
140 145 150
tag agt gcc ttt aag aag aaa tca gtg cat act gga ttt gct cct gtc 528
Ser Ala Phe Lys Lys Lys Ser Val His Thr Gly Phe Ala Pro Val
155 160 165
aat gaa gtt tta aag gct gtc caa tcc tct aat atg aga tgt aga aaa 576
Asn Glu Val Leu Lys Ala Val Gln Ser Ser Asn Met Arg Cys Arg Lys
170 175 180
gaa gga aga gca gca gta aaa gaa ata tct agt gaa aaa cca gga agt 624
Glu Gly Arg Ala Ala Val Lys Glu Ile Ser Ser Glu Lys Pro Gly Ser
185 190 195
gta ttg aag ctt gga cta gaa ttt ctt ctt tat taa aga gac aaa ttt 672
Val Leu Lys Leu Gly Leu Glu Phe Leu Leu Tyr Arg Asp Lys Phe
200 205 210
atc aca gta ttt tct ttt cct gct gac cac att gct ata cca atg atg 720
Ile Thr Val Phe Ser Phe Pro Ala Asp His Ile Ala Ile Pro Met Met
215 220 225 230
atg agt ggc att ttc ttc tta gtt ttt aaa gaa aat ata ctg cat acc 768
Met Ser Gly Ile Phe Phe Leu Val Phe Lys Glu Asn Ile Leu His Thr
235 240 245
tac aac tat aat agc aau tat agt gat tat ttt tta caa ccc cct taa 816
Tyr Asn Tyr Asn Ser Lys Tyr Ser Asp Tyr Phe Leu Gln Pro Pro
250 255 260
cac ttt ttg gag atg aca ttt ctg act ttc aga aat taa cat aaa atc 864
His Phe Leu Glu Met Thr Phe Leu Thr Phe Arg Asn His Lys Ile
265 270 275
aag aag caa gat tcc atg agc tga gaa ctc tgg aca gct ggt cag ctt 912
Lys Lys Gln Asp Ser Met Ser Glu Leu Trp Thr Ala Gly Gln Leu
280 285 290
tac cta cgg agc ttt ggc ttt aac tag agt gtg tga tgg tag att att 960
Tyr Leu Arg Ser Phe Gly Phe Asn Ser Val Trp Ile Ile
295 300
tca gat agg tat gta aga ctg ctg cct gaa caa taa cat gta tga aag 1008
Ser Asp Arg Tyr Val Arg Leu Leu Pro Glu Gln His Val Lys
305 310 315
gaa cag aaa taa ata cta att aaa aaa 1035
Glu Gln Lys Ile Leu Ile Lys Lys
320 325
<210> 18
<211> 24801
<212> DNA

```

WO 02/083727

29/54

PCT/EP02/04090

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<223> genomische Organisation von PKC β
in BAC Klon Acc.: AC008440 (Homo sapiens chromosome 19 clone CTC-
331H23, complete sequence) enthalten

<220>

<221> exon

<222> (1)..(366)

<223> Exon 1

<220>

<221> exon

<222> (864)..(896)

<223> Exon 2

<220>

<221> exon

<222> (1862)..(1945)

<223> Exon 3

<220>

<221> exon

<222> (7332)..(7444)

<223> Exon 4

<220>

<221> exon

<222> (7580)..(7712)

<223> Exon 5

WO 02/083727

30/54

PCT/EP02/04090

<220>

<221> exon

<222> (9368)..(9525)

<223> Exon 6

<220>

<221> exon

<222> (10201)..(10336)

<223> Exon 7

<220>

<221> exon

<222> (10680)..(10768)

<223> Exon 8

<220>

<221> exon

<222> (11054)..(11084)

<223> Exon 9

<220>

<221> exon

<222> (15647)..(15800)

<223> Exon 10

<220>

<221> exon

<222> (16128)..(16317)

<223> Exon 11

WO 02/083727

31/54

PCT/EP02/04090

<220>

<221> exon

<222> (17922)..(18014)

<223> Exon 12

<220>

<221> exon

<222> (18108)..(18171)

<223> Exon 13

<220>

<221> exon

<222> (18300)..(18439)

<223> Exon 14

<220>

<221> exon

<222> (20762)..(20843)

<223> Exon 15

<220>

<221> exon

<222> (22324)..(22432)

<223> Exon 16

<220>

<221> exon

<222> (24005)..(24146)

<223> Exon 17

<220>

WO 02/083727

32/54

PCT/EP02/04090

<221> exon

<222> (24395)..(24801)

<223> Exon 18

<400> 18

```

ggc ggc ccc ggg gtg cgc ctc cct gcc tgg cgc gct cgc cac ctg gag      48
Gly Ala Pro Gly Val Pro Leu Pro Ala Trp Arg Ala Pro His Leu Glu
1          5          10          15

gtg cct tgc ccc tct cct gcc cac ctc gga att tcc ctg tgg ctc ctt      96
Val Pro Cys Pro Ser Pro Ala His Leu Gly Ile Ser Leu Trp Leu Leu
20          25          30

tga tcc ttc gag tct cca gct cct ctc cct tcc acc tgt ttc ccc caa     144
Ser Phe Glu Ser Pro Ala Pro Leu Pro Ser Thr Cys Phe Pro Gln
35          40          45

gaa agg cag gat cct ggt ccc tgc tac gtt tct ggg gcc atg gct ggt     192
Glu Arg Gln Asp Pro Gly Pro Cys Tyr Val Ser Gly Ala Met Ala Gly
50          55          60

ctg ggc ccc ggc gta gcc gat tca gag ggg gga ccc cgg ccc ctg ttt     240
Leu Gly Pro Gly Val Gly Asp Ser Glu Gly Gly Pro Arg Pro Leu Phe
65          70          75

tgc aga aag ggg gcc ctg agg cag aag gtg gtc cac gaa gtc aag agc     288
Cys Arg Lys Gly Ala Leu Arg Gln Lys Val Val His Glu Val Lys Ser
80          85          90          95

cac aag ttc acc gct cgc ttc ttc aag cag ccc acc ttc tgc agc cac     336
His Lys Phe Thr Ala Arg Phe Phe Lys Gln Pro Thr Phe Cys Ser His
100          105          110

tgc acc gac ttc atc tgg tga ggg aag ggg gctgggggac tgggggacga     386
Cys Thr Asp Phe Ile Trp Gly Lys Gly
115          120

ggggactagg ggtgcagact cctatcagc cgaccctgt ggaaggaga aggagggggc     446

tgtagtccc actccaggt tctaggatgg ccagggaacg ctgggagctt cgactcctgg     506

gtttcagtga ggaggaggct ggttctctgga gtgctgggtc cgaggaggga ggaggctgga     566

ggacagaggt cctggagtct tgggtctgag ggaggagggg cctggggggc tgggagcctg     626

gattcctggg tctgaaggag gaagaaactg ggggctgaac tccagtctaa gggaagaagg     686

gctggggggc aanattttctg ggttctagaa agaggagggt gccggggctt ggacacctgg     746

gccctgcggg aggagggtca gagagcgag gccccctgtg gctcgcagag gttgggggtc     806

caggtacccc ttctgcact gacctaggat cctgactct tccaggggta tcggaaa      863

gca ggg cct gca atg tca agg taa gag ctg ggg accggggctc ctgggacct     916
Ala Gly Pro Ala Met Ser Arg Glu Leu Gly
125          130

caggagggtg gaggctgggg cccacagct gaggtgctt gacacagtg ttctctggtc     976

```

WO 02/083727

33/54

PCT/EP02/04090

```

cccagagagg cgcgggggag cccggggcgg ggggtgtgtg agagacacag cctgtgggtg 1036
ggagggagct ttgatgggtg ggcacccgcg gagggtgtgtc tgggggcccc tccctcggcc 1096
ggctccaggt ggggacagat atttggagaa tctgttgcca tgggaacatg gagattttga 1156
aaaggggagc tgaagggggg aagggggagg gggctggaga tgcaaaagta gagccccccc 1216
ccacccccag ctgcccgtgc catgacaaca ccagccgtcc taggcagggg cagcccggtt 1276
ggggtcacca atgggcgagt gggggccggg cggggccggc agttctgggg ggcgggagag 1336
gggggcgagt ccttagagac cagctgtctac tgcagagac agagttagtc aggggtgggg 1396
gcgggcccgg agcagcgccc ccagactcac ttctgcccac gttgctgctt cctgggctgc 1456
gtctgaagat atttcggttt tgcctctttt aatctgtgtc cctctctcct ggcctttctga 1516
tctccgtccg tgggctgtgt tctgtttgtc aatgggctcc tattttcttt ctctcttttt 1576
ccatctccct tccctagagt ctgtgtctgt tctctctctg taagtctctg cgtctctgtt 1636
tctgaactgt agccactctc ttgggtttct gtctctctgt tctctctctg gccctcgatt 1696
ttctctctgt tggactctct gtgttgagat cctctctctt ctgggtttct cagtgtccga 1756
gttccgtctc ctctttccaa tttctgtctc gctggggctc ccgctggac taatccatgc 1816
ctccgtctgt gtctctatga tttctctcta tagtctgcag ctttg tgg ttc atc gac 1873
                                Trp Phe Ile Asp

gat gcc acg aat ttg tga cct tcg agt gtc cag gcg ctg gga agg gcc 1921
Asp Ala Thr Asn Leu      Pro Ser Ser Val Gln Ala Leu Gly Arg Ala
135                        140                        145

ccc aga cgg acg tga gtg ctg gga caactgggtt tctctctcgg gcctgacccc 1975
Pro Arg Arg Thr      Val Leu Gly
150                        155

cgccctcac cctcggcgt ccgtcccaat ttctctgtgt atttttatgg ctgggagggg 2035
aggggggctg gagagatagg gggagctatc tggcccagat tcttgcctt tggcctggaa 2095
aggggggaat cgagggggac tgacaggctg gggacacggg tggggccacg agaggaggcc 2155
gggggtgagg aactgaagat ggggtgtgtc ggggggtggg tgtgatccag ggggtgaagg 2215
atttaaaat tgagagctga ggggcacacg gagaaaaata tcagtgcagg tgcggagagt 2275
ccaacataag acagagggaa tctcagggag aggaacagag acagaagaag acagagacct 2335
aggagagact gaagctgagg cagagagaga gagagatgga gcagagaaag aaccagggag 2395
aaagagagga atttgaggc accaaaagat ggcagagaaa actccaaag acggagagac 2455
agacacctgg agaaagagac taaaatagaa aatggtggat acagacaaca gcttaggaga 2515
tgcagagagg agaccaggg aagtcccaca gtacacttgc acacatgtgc gtgcatgtac 2575
agatgcccc tcatcacag atgtgcagca cgcagagaca cacagcctct cccaccccc 2635
tctctctcca tcagaggctc acaagaccag tcaacctga gtgcccattc ccgttccctt 2695

```

WO 02/083727

34/54

PCT/EP02/04090

```

ttctgtctta tctctgagcc tcagtttctt cctctataaa atggggctga tgatctagca 2755
ttgaaccaaca gaactgttta cagtgacgga agcattctgt acatgcactg tccantaggg 2815
agccaccagc tccatgtagc cagtgagcac ttgaaacagg gcgactgtgg ctgaggatta 2875
gaaattccat ttctgtctat ttgaattggc ttaaattttt tttttttatt tttatttttt 2935
gagacggagt cgcgcctctgt tgccaagct ggagtgaggt ggccagctct cagctcaatg 2995
caacttcctg tttccagggt caagcaatc ttctacotca gcctcctgag tagctgggac 3055
tacaggcgca tgccaccaca ccccgctaatt tttttttgta ttttttagtag agatgggggt 3115
tcaccatggt ggccaggctg gtctcgaact cctgacctg tgatccaccc gcctcggcct 3175
cccaaagtgt tgggattaca ggctgagcc accgcgcctg gcagaactga cttaaattta 3235
aacagccaca tgtagttagt ggccacaaa tgggacagca cacatctgga cacttccagg 3295
cttgttttga agtcagggtg gttcagagtt toggccaggg tttgacacaa gatcggagac 3355
agttttatga tgtacagatg gagagagagg cagagagaga gagatccaca gaagtccatg 3415
aggcgtttta ccacctctct agctgaaat aacagaagtc tacatagaag atgtgaactc 3475
atgnaacata tattgagcac caotgtctac cagcacgtgt atgtgattga tgacccccct 3535
cgtccactca cctccgccac caacaccaga taagtctgat gcattccagt ctcatgggtg 3595
acactcatca agattttttt ttttgtttt tgctgttaat ccagctactc cgggaggtctg 3655
aggcagaatt gcttgaacct gagcggcaga ggttgagtg agccaagatc acccactgc 3715
actccagcct gggtgacaga gcaagacttt gtcttgaaa aaaaaaaaaa gatttttttt 3775
tgtttttgtt gttttgtttt attttgggtt atttttttaga tggagtttca ctctgtcace 3835
caggctggag tgcactgggt caatcttggt tcactgcaac ctctacotcc caggttcaag 3895
cgattctcat gcctcagcct cccgagtagc tgggactaga acaggcatga gccaccatgg 3955
ccggctaatt tttatatttt tagtagacag ggtttcatca tgctggccaa gctggtcttg 4015
ctctgacct cactgatcc acccacctcg gcctcccaaa gtgctgggat tacaggctg 4075
agccaccgca ccagccgat ttttgggggt ttttgagaca gggctccact ctgtcacota 4135
gactggagta cagtgatggg atcatagctc actgcagcct tgaattctcc aggtccaagt 4195
gtctctctg cccagcttc tcaagttagt gggactatag gcacaagcca caacacctag 4255
ctaattaaaa aaaaatgttt ttgtagagat ggagtctcac tcactatatt gcccaggctg 4315
gtcttcaact cctggctctc ctgattctc ctgcctcagc ctcccaaat gatgggatta 4375
caggcgtgag ccactgcacc tggcctcaag tattttgtat acagtatagg ttggatccac 4435
acaacagctt atttggttat tttccctgt ctatctgggt tgaatccag ctccaccact 4495
ttttggtctt gtgacatttc ctgagttaat ttaoctctct gcacttgttg aattccttgt 4555

```

WO 02/083727

35/54

PCT/EP02/04090

```

ttgtaangtg gagatgataa ttatgctcac tatggatigt ttggaagatt tagtgagtc 4615
gacatttggg atgggtttctg acacattagca agagccaaaa tattattttt tattcttgtt 4675
aaaaattatta ttatgaccaa tgaggaaaacg agtgaatagt gagaaggaga tctttcctct 4735
gcattcactcg ggggtttttt tgtttttgtt tttttttgct gttgagacag ggtctcactc 4795
tgttgccccc gctgggagtcg aatagtgcga tcactgctca ctgcagtcct gacctccggg 4855
gctcaagtgta ttactgctg gcagttgac ttcttaaaag taacatgcag gacaggcaca 4915
gtggctcacg cctgtaatcc caacactttg ggagaccgag ggggtggat cactgaggt 4975
tgaggagttcg agaccagcct gaccaacatg gagaagccac gtgtctacta agaatacaaa 5035
attagctggg cgtggtaggca caccctgtga atccctagcta ctacaggaggc tgaggcagga 5095
gaatcacttg aaccocaggag gctgaggttg cagtgcagca agattgcgac attgcactcc 5155
agcctgggca gcaagaacaa aactctgtct caaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 5215
aaaaaaaaag gtaactgcgc ttgaccggc atggtggctc atgctgttaa tccagctctc 5275
ttggagggct gaggcaagcg gatcacgagg tcaggagatc caaacatcc tggctaacgc 5335
gttgaaaccc cgtctctact aaaaatacaa aaattagcc aggcacgggtg gcacgcgctc 5395
gtagtcccg ctaactggga ggctgaggca ggagtcgc ttgaacccg gaggcagagg 5455
ttgcagtgag ccgagatcac accactgcac tctagcctgg gcgacagagt gagactccat 5515
ctcaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaagtaaca tggatcaaga ttggcaaga atgatttcat 5575
ttagtcccca gggagggcac atgcccccc ttttcaagcg gtaaatctga ggctttgaaa 5635
aggggcagggc gtggtgaggc cacttagctg ggtaggggat agaggcaaga ttgaaactct 5695
gatgtatgta accacagcct ccgtgctgtc tcttttttaa cagcgacgtt cacttttgag 5755
aataagaaca gcagcctctg tctgtggatg gtttgtgtgt caggcagcct gctgagaacc 5815
ttcacacaca gcactctatt tagtgccgca ggaacccctt gagttagggt caggcgagat 5875
atttagaagc ccagcacatt gaaaaggatc ctggaaactg ccaacacct cctctaccca 5935
aatatatatt caaactagaa accccactaa catagatgaa aatccaagaa tggcctaagt 5995
gttcacctg tgataalcct tttaatggat tcttagaato aagttattta acaaggagat 6055
attgtcccg gggtagtggg tggcagggga gaaggagaag ctctactgat gaactgcatt 6115
ctgtctaat ggaactctgga aatttagcat tgcctcaaaa tatagattat ttatttccac 6175
ttgacagagg aggatgctga ggctcaaaac tgggaatgaa ctgccccaa atcacacagc 6235
tgagaagcgg ctagctctt acttacatc agggctatgt agggacttca ataaaatccc 6295
taacaataac cacagtaata gtattgggag catctaacgt ggtaggcaca gctatgttt 6355
gtacaccaat tattttattt aggcctcctg ggttcotatt ataactgaga ggtcatgttc 6415
tccattccac ctggagctca gagaaggcat accatatgga cactgacaga agctgccagt 6475

```

WO 02/083727

36/54

PCT/EP02/04090

```

gaaggagctg ggggttcaggg tggcccacaa gtctcacaat aataacttgt gggagttggg 6535
gggatgggaa ctatgggagg ttggaagctc ctgcctcctt catgttctgc ccagatataa 6595
tttggtcagc gagggccccc tgcactccc cctgcacaca gttttgttgt tgttgttgtt 6655
gtttgagaca gaattcttgt ctgtcatcca ggcaggagtg cagtggcaca atcttggctc 6715
actgcaacct cggcctcctg gattcaagca attctcatgc ctacagcctc tgagtagctg 6775
ggattacagg catgcaccac catgtccggc taatttttgt atttttagta gagacagagt 6835
tttgccatgt tgcctagcct ggccgggaac tctgagctc aaggcaatcc gccaccctcg 6895
gcctcccaaa gtgctgggat tacaggcatg agccaccgca cccagccagg accaccgtat 6955
ttaaaatttc aatcccccac cttctggtgg tcccacccc tgcctcattt tttctccaga 7015
gcacccatta ccaaccatca aactatatgt tttatttatt taccatgttt acattctgta 7075
tccctccatt aggaagtaaa ctccatgtga caaagggtt ttttttttct atttgtttta 7135
tgctgggtcc ccacaccaag aacagtcctt ggcacacagc aggtgctcaa tgattattgg 7195
tacatagagt gaaagagatg gagcctcagg ctgacctaga gagcaaggca ggaggaaaag 7255
ataaaagggc cctcccccctg gggtttttagg accctcccaa cgcctccctaa gccagctctc 7315
tctgccccca ggaccc ccg gaa caa aca caa gtt ccg cct gca tag cta cag 7367
Pro Gln Gln Thr Gln Val Pro Pro Ala Leu Gln
160 165
cag ccc cac ctt ctg cga cca ctg tgg ctc cct cct cta cgg got tgt 7415
Gln Pro His Leu Leu Arg Pro Leu Trp Leu Pro Pro Leu Arg Ala Cys
170 175 180
gca cca ggg cat gaa atg ctc ctg tga gt gacctgggccc ttgccagggc 7464
Ala Pro Gly His Glu Met Leu Leu Val
185 190
ccttccaaag cgcctggctt ggggttcggg aaatgcctcg gatgggtgg ggggtggagt 7524
cttggcttgg gggcggggcc tgaggtgcta cccgcagctt tccctccag gctgc g 7580
aga tga acg tgc acc ggc got gtg tgc gta gcg tgc cct ccc tgt gcg 7628
Arg Thr Cys Thr Gly Ala Val Cys Val Ala Cys Pro Pro Cys Ala
195 200 205
gtg tgg acc aca ccg agc gcc gcg ggc gcc tgc agc tgg aga tcc ggg 7676
Val Trp Thr Thr Pro Ser Ala Ala Gly Ala Cys Ser Trp Arg Ser Gly
210 215 220
ctc cca cag cag atg aga tcc acg taa ctg gtg agg ccccgccccc 7722
Leu Pro Gln Gln Met Arg Ser Thr Leu Val Arg
225 230
tcgcctgggc ccgccccctc cccaagtgtg aggcgggggt gaccacaaggc acttgtgtg 7782
gccacgcctt accccaaaga tggggccacg cctctttcta tggtaacgcc cacactcctg 7842
acccacccc aaaggccgag cacacccagc cataccctt ttggctcgaa gccccgcctc 7902

```

WO 02/083727	37/54	PCT/EP02/04090
caacctggct tcttgcaact ttctgcacct gttaatgact ttgactttct tttttttttt	7962	
gggacggagt ttctctcttg ttgctcaagc tggagtgcaa tggcgcgatc tcggctcact	8022	
gcaacttcgc cctccgggt tcaagtgatt ctctgcctc agcctccga gtagctggga	8082	
ttacaggcgc gtgtcaccaa gcccggtcaa tttttgtat ttttagtaca aacggggttt	8142	
caccatgtta gccaggctgg tctcgaaact ctgacccag gtgatccct cgaactggcc	8202	
tcccaaatg ctgggattaa caggcgctgag ccaccgcgc tggccaatgg cttctttttt	8262	
tgtttttatt ttatgtttat ttttttgaga tggagctctg ctctgtcacc caggctggag	8322	
tgcagtgggt caactctggc tcaactgcaat ctctgcctcc ggggttcaag ggattctctt	8382	
gcctcagcct ccgagtagc tgggaattaca ggcgcctgcc accacatccg gctaattttt	8442	
tttttttttt ttttttgaga caagatctcg ctctgttgcc caggctggag tgcagtagca	8502	
tgatctcagc tcaactcaac ctccgcctct cagggtcaag cgaattctct gcttcagcct	8562	
cctgagtagc tgggactaca ggtgcctgac actgcaccca gctcattttt gtatttttag	8622	
tagagacagg gtttcaccat gctagccagg ctggctcgga actcctgacc tcaggctgac	8682	
cgcctgcctc cgcctcccaa agtgcctggga ttacagggtg gaggaccgtg ccgggcaatg	8742	
gctttctggg tataaggatc ttgagaaggg agagtacctg gttctgaggg aggtctgtgt	8802	
tcagtacttg tgacatggcc agggcccaaa ctctggttcc taatggagag aaggctctg	8862	
gatctgattt cagggtcact ggttgcgga agggctctat gccctgtctt ctgggttctg	8922	
gagaggttaag aagtcctgag aaacgagact gagagcttg aattcttttt tttttttttt	8982	
tgagacggag tctgcctgtg acgcccaggc tggagtgtag tggcgtaatc tcggctcact	9042	
gcaagctccg actcctgggt tcacgtcatt ctccgcctc agcctcctga gtagctggga	9102	
ccacagacac ctgccaccac gcccaagctaa tttttttttt tttttgtatt ttttagtggag	9162	
acggggtttc accattcaca ggtgggtctc gatctcctga ccttgtgato cgcctgcctt	9222	
ggcctcccaa agtgcctggga ttacaggcat gagccgcctg gccgggcaa gcttggaaat	9282	
cttgattgct gactggagga gggctgggag ccccttctg gatctctaac ccgtcacact	9342	
cttctcact cccggttag ttggc gag gcc cgt aac cta att cct atg gac	9394	
	Glu Ala Arg Asn Leu Ile Pro Met Asp	
	235 240	
ccc aat ggt ctc tct gat ccc tat gtg aaa ctg aag ctc atc cca gac	9442	
Pro Asn Gly Leu Ser Asp Pro Tyr Val Lys Leu Lys Leu Ile Pro Asp		
245 250 255		
cct cgg aac ctg acg aaa cag aag acc cga acg gtg aaa gcc acg cta	9490	
Pro Arg Asn Leu Thr Lys Gln Lys Thr Arg Thr Val Lys Ala Thr Leu		
260 265 270 275		
aac cct gtg tgg aat gag acc ttt gtg ttg tga gt ctggggtgca	9535	
Asn Pro Val Trp Asn Glu Thr Phe Val Leu Val		
280 285		

WO 02/083727

38/54

PCT/EP02/04090

gggaaaggcaa tgacagctga cagagaatga tctgagggtc ctagtggccc ccagagagca 9595
 gctgatggga ggggttagga tagagggaac ccagaaaagg gcagaagaag atgggtggga 9655
 aagggaatag agtgattgag ggagtgggat ggagatacag aaacggagag acagccagac 9715
 cactgtataa ttagtctoca ttgaagcccc caactttaga gttagacaga gatgagagag 9775
 agaagagaga gtctcagaag aggcagaaac ccaagagag acacagatgg agaggggagg 9835
 gagaagatgg gggatggcag ggagacagag atcagttgac aggaagacag agtgatagag 9895
 acccagagag gagagaaggg tacagagact cagagagaga gatctcgaga gacaagagac 9955
 agagatggga agggggaggg aatgcaggag gaaggagag gaagagctct ctaggtttac 10015
 ttccagcccc aaagccctag ctggagagag agcccggtcg ggaaggtcag aggtcggaga 10075
 ccgacaaagc aggagaggag cccagctgg ctgggtttgc cccacctcc agcaccagag 10135
 atgggggaacc gaggggagcc atgagctcgg ctctgcaccc catccacccc accttctctc 10195
 agcaa c ctg aag cca ggg gat gtg gag cgc cgg ctc agc gtg gag gtg 10243
 Leu Lys Pro Gly Asp Val Glu Arg Arg Leu Ser Val Glu Val 300
 290 295 300
 tgg gac tgg gac cgg acc tcc cgc aac gac ttc atg ggg gcc atg tcc 10291
 Trp Asp Trp Asp Arg Thr Ser Arg Asn Asp Phe Met Gly Ala Met Ser 315
 305 310 315
 ttt ggc gtc tgg gag ctg ctc aag gcg ccc gtg gat gcc tgg tga 10336
 Phe Gly Val Ser Glu Leu Leu Lys Ala Pro Val Asp Gly Trp 330
 320 325 330
 ggagcagggc tggggcctgg ggatggagcg caatattacc atctccatct gtgtgtggtc 10396
 tctctctccc aggcactgt cctccctct gctccacagc atgcgcacac acacacacac 10456
 acacacacac acacgcacac acacgcacac accctctct ctctattctt ctctctctct 10516
 cccctccctt tctccctct cctctctttt tatctctact tttctctctt ccactctctgt 10576
 gtcctctct ctgtgtctct tctctccctt ccaatgtctt tgcctctccc atgggtgccc 10636
 catcccgct gcccgcctct ggtctctcgt tgtatgtcag gta caa gtt act gaa 10691
 Gln Val Thr Glu
 cca gga gga ggg cga gta tta caa tgt gcc ggt ggc cga tgc tga caa 10739
 Pro Gly Gly Gly Arg Val Leu Gln Cys Ala Gly Gly Arg Cys Gln 345
 335 340 345
 ctg cag cct cct cca gaa gtt tga ggt ac ccagaccctg gcttctctca 10788
 Leu Gln Pro Pro Pro Glu Val Gly Thr 355
 350 355
 gggagcccoag cccagctccc cagggttcag agctggcctt tcttccacc cctgagtgcc 10848
 cgctggctct gggactacag ttcccagaag accotaggac tccctctctt gctctcttag 10908
 gggactcgag cccaggggtc tgatgggaat tatagttcct atctatcgcc atggcttgag 10968

WO 02/083727

39/54

PCT/EP02/04090

```

ggctactaggg gccaccagcc cctgttctag gccgaccccc tgcatctctt gggaccctga 11028
ctctctctctt cttttctccc aggcct t gta act acc ccc tgg aat tgt atg agg 11081
Val Thr Thr Pro Trp Asn Cys Met Arg
360 365

tga gtagaaccag ggcggttgaat ggaggcagtt ttgacctact tctctgattt 11134
cttattctct cctctgacttc tgtcttcaat tccccacaca tgagttgagc acacatttgt 11194
gctaggcctg tcttctgctt gctgaataat ccaggatcca gagatgaatc tgacctccaa 11254
gcaactctcc aaggtaggga cacagtcaca gatacttaaa ataccggaag atgtgctaaa 11314
ttagaggtag cccaggggcac tgaagaggcc taacggaggc actaatccag cctggggggag 11374
ggtggtcagg gaggacttcc ctgaggaggt gacgcctgaa ttgattcttg aggtttttta 11434
aaatttttta atttattttt atttttattt ttatttttat ttctgtcgcc caggctggag 11494
tgaataggca caatctcgcc tcactgcaac ctccagctcc cgggttcaag caattctctt 11554
gcctcagcct cctgagtgcg tgggattaca ggtgaccgcc accacaccca gctaattttt 11614
ttttattttt tagtagagat gggatttcgc catgttggcc aggtgatct caaactccca 11674
aactcaggtg atccgcctgc cttggcctcc caaagtgcct ggattacagg catgagccac 11734
tgcgcccgag cgaattctga gttttttatt ttttttttga gacggagctc cgtctgacg 11794
cccaggctgg agtgacgtgg tgcgatctcg gctcactgca agctccgcct cctgggttca 11854
cgccattctc ctgcactcag ctccctgagta gctgggacta caggcgccca ccaccatgcc 11914
cggctaattt ttgtatttt tagtagagat ggggtttcac cgtgttagcc aggatggctc 11974
cgatctctg acctgggtgat ccaccgcct cagcctccca aagtgcctggg attacaggcg 12034
tgagccacca ccccagccg attcttgagt tttaaaaaat ctatcaagca tgatcatctt 12094
aatctctcca ttcatctatt cactcactga atatccttct tttctcttct tctctctctt 12154
cttttttttt ttgagacaga atctcctttt gtcacccagg ttggagtcca gtgatgcagt 12214
ctcagctcac tgcaacctct gctccccaga ttcaagtgat tctctgcct cagcctcctg 12274
agtagttggg attacaggag cgcaccacca cactgggcta atttttgtat ttttagtaga 12334
gatgggggtt cgacatgttg gccaggctgg tctcgaactc ctgacctcaa gtgatccacc 12394
cgcttggcc tcccaaagcg ctgagattag aggcgtgagc gaccaogccc agacgaatac 12454
ccattttcta ggggtgtaata agccaggccc tggctctggga atagaatcag gccattccct 12514
ggcggagctc ttcttctagt ggaggacaaa gttacaaacc cagacattca caacgaggag 12574
caatgctgct gtaatggaga cagcctcagg cactggggcg tccctggcac agcctgagtc 12634
agagaaagct tctagagag gtgagacctg gtagaagggc gggatttccc aaaggagaga 12694
ccagatttcc aggcaggagg aagtaatgct ctctccctca tttacccttt caaaaaatcc 12754
tttacagagc atcttctgtt gccaggcgtg gctctactca ctggggatat agagaaagca 12814

```


WO 02/083727

40/54

PCT/EP02/04090

gggaaagaac aacaaacaa aaaaaaagt tcttttctct atgggattta caccgggagg 12874
aagacattaa acaaaatata taagcatatg atagactggg cagcatgcct catgtctgtg 12934
atcctagtaa ggcggggcga tcacctgagg tcaggagttt gagaccagcc tggccagcgt 12994
ggcaaaaccc catctctact aaaaaatca aaaatcagct gggcatggtg gaggcgcctg 13054
taatcccagc tactcggaag gctgaggcag gagaattgct ggattccggg aagtagaggc 13114
tgcagtgagc ccagatcgct ccactgcact ccagcctgga tgacagaggg agactctgtc 13174
tcaaaaaaa aaaaaaaaa aaagaagaca agaattctca agattcaaca acagcaacaa 13234
catgttatag totttactgg actcttacag aaactttcac cagagttttt aatgttgtgt 13294
gtgggggttc acctgcacaa gaattcctag agtgcttgct tttaaaagca cattccccag 13354
cctttctgca gacactactca gtgacgatct ctctgatgac tcaaatgtct gcctactaaa 13414
ttaattcttc aggtgatcct ttggcaagt taagtgttag aatgggtctc cgggcggggc 13474
gcagtggttc acgctgtca tcccagcact ttgggaggcc aaggcgggtg gatcacgagg 13534
tcaggagatc gagaccatcc tggctaacc ggtgaatccc cgtctctact aaaaatacaa 13594
aaaaattagc tgggcgtggt ggtgggtgac ttagtccca ggtactcagg aggtgaggc 13654
aggagaatgg catgaacctg ggagggtggag ctgcaatga gccagagatg tgccactgca 13714
ctacagcctg ggtgacagag cgagactcta tctcagaaaa aaaaaaaaa gagagaaatg 13774
gctctgcagg agacaagggt accagcggga ggacattctg agccaaagag gtagagtctt 13834
ttgagatcag cagggatgat cctccgtac aaaccaaga aaccagcag ggcagatggt 13894
gggcaaggcc ctagaggcag ggagtgtagg gtggtgtgtg tgctgttgtt ggctcacagc 13954
actctccccc agttcagcag gccaccctta atattaccaa tgaacaccaa ctctgtgcca 14014
agccttgagc taggtacggg gctaacacaa cagcaaacag aaacagccct gattattatt 14074
attattatta ttattattat tattattatt attattatgt atttatctat ttgagacaca 14134
gtctcgtctc gtgcgccagg ctggaatgca gtggagcgat ctacagctac tgcaacctct 14194
gcctcccggt ttcaagcagc tctcctgcct tggcctccca agtagctggg actacaggca 14254
tgtgccacca tgtcctacta atttttatat tgctagtaga gatggggctt cgcacgttg 14314
gccaggctgg tcttgaactc ctgacctcag gtgatctgcc cactcgggc tcccaaatg 14374
ctgggattac aggcacagc caccgcacc agccctcaac aaatatatat gtagcctcaa 14434
tgaggtaggc agtgttactg tgtcttagcg aacaaagcag acccctgcct tagggagctc 14494
acaggcagaa agcagatagt cacacagata gatgtaaatt actaagaata aaagtgcag 14554
gaaggtgctg tccatggtga ccaagggtg gtaagagagg catctgaccc agtttaaaaa 14614
gtcaggcgag gctctatga agtgatgctt ggtcaaggc ctanagggtg ttggggagac 14674

WO 02/083727	41/54	PCT/EP02/04090
aactaggagg gaagggagg ggagagcttt acaggaagac ctaacggcac atccagaggc	14734	
cctgagggtgg gaggaggagac aatgagtgtc aggccagggt ggctggacca tggagcctgg	14794	
gagagagaag aacaacctgc agtgtcagtc tcagcctggc tctgcaagtc atgtggaata	14854	
aaatcttaac acagagggag cagttaagg gtttacaagc ataggggaga catgacctgg	14914	
tttattttatt ttttaattgg ctctctgccc tgcctgagtag agaattgcatt agaaaggcca	14974	
gocgtccatg tagaggagaca agtgtggaag ctgtgacagc agcttagtct tgggcccctt	15034	
ccctgggggg ccgaggcagg aaaaggtaga gaagggaacc tagctgaaag ccagggtgtgc	15094	
tccttggaact ggcagcacc atgtcaccga gaagcttttt acacataacg attctcaggt	15154	
cccaccccag atttatagag tttagaaaac tggcagtggt acccagcaat ctgtttttacc	15214	
aaacccctcta gggaattccg gcttagaggc taagagcaac cagattctag agctggactg	15274	
cttggttttc atttctggct ctgtccctta cctgctgtgt gactggggc aagttactta	15334	
acgtctctgt gctagtctcc tcttctgtaa aatggaaacg atagcagggt tttctggaaa	15394	
cagcatatga taagctatct aaaaaaaaa aagaagaaaa aaagagctaa gtgtttgttg	15454	
aataataaat aaacccctca gctatgggg agtcagagaa aattaagcca aggacagggt	15514	
aggaggttgg ccattttctt ctgtctagcg attctcatcc ttctcttctt tgggtgctgt	15574	
gtctcttggg agcatttctt tatcgtctgt taaggtctaa ctgctcttgg ctctttcttt	15634	
ctctcttcca ca gcg ggt gcg gat ggg ccc ctc ttc ctc tcc cat ccc ctc	15685	
Ala Gly Ala Asp Gly Pro Leu Phe Leu Ser His Pro Leu	370 375 380	
ccc ttc ccc tag tcc cac cga ccc caa gcg ctg ctt ctt cgg ggc gag	15733	
Pro Phe Pro Ser His Arg Pro Gln Ala Leu Leu Leu Arg Gly Glu	385 390 395	
tcc agg acg cot gca cat ctc cga ctt cag ctt cct cat ggt tct agg	15781	
Ser Arg Thr Pro Ala His Leu Arg Leu Gln Leu Pro His Gly Ser Arg	400 405 410	
aaa agg cag ttt tgg gaa g gttggattcc tggggttctg ggggaaagg	15830	
Lys Arg Gln Phe Trp Glu	415	
aggatgtctg tgggaaggtc agatttctgg ttcttaggga ggaagtggg gtgggaagag	15890	
actgggctcc tgcacttcca aatatggtta ggttggggcg ttcaggttcc tggagaggag	15950	
agggtttacag atgtggacac tctccttgag gggacgggcg gcaagtcagg gctgtcagtc	16010	
ccttaagaga tggaggaagg gcttgggac ccgtttccct gcgtccctta gggagggggc	16070	
aggctctgta ccactggggt cccaactgg actggccctt ttggaaactgt gcgcata	16127	
gg tga tgc tgg ccg agc gca ggg gct ctg atg agc tct acg cca tca	16174	
Gly Cys Trp Pro Ser Ala Gly Ala Leu Met Ser Ser Thr Pro Ser	420 425 430	
aga tct tga aaa agg acg tga tgc tcc agg acg acg atg tgg act gca	16222	

WO 02/083727

42/54

PCT/EP02/04090

Arg Ser	Lys Arg Thr	Ser Ser Arg Thr	Met Trp Thr Ala	
435		440	445	

cgc tgg tgg aga aac gtg tgc tgg cgc tgg ggg gcc ggg gtc ctg gcg 16270
 Arg Trp Trp Arg Asn Val Cys Trp Arg Trp Gly Ala Gly Val Leu Ala
 450 455 460

gcc ggc ccc act tcc tca ccc agc tcc act cca cct tcc aga ccc cg 16317
 Ala Gly Pro Thr Ser Ser Pro Ser Ser Thr Pro Pro Ser Arg Pro Arg
 465 470 475

gtaaggatgg agggggcgga ggctgtcttc cgggccctgc ctatccagt tctggacatc 16377
 tgcgttggga ttctagattt agggcgagga aagagaactt tgtctctctt gaggggcga 16437
 gggcaggcgg attgtctctt cagggggcgt ggcggggggg ggttctcttg ggggctggc 16497
 caggcgaagg gactcatcgg gggcggtggc caggcggagg ggctcaacgg aggcgagggc 16557
 gggcggaggg gctctctcgg ggcgtggcca ggtggaggga ctcatcgggg gcgtggccag 16617
 gcagaggggg tcttcgcggg gcgtggtcag gcggatgaaa tctttggggg ggtggtttag 16677
 agggggcggg ttgtcaggc gatgggatca ttaataggcg tggccaggca gattggcttc 16737
 ttggggcgga ggcagggcag acgagattat gaatgagcgt atccaggcag gtagattctt 16797
 cggagggcgt ggtcggcggt atgagctcct cggggggcgt gccaggcggg gaggctctcg 16857
 gtggatggc ctggccaggg gaatgggtcc tgcggagggt tctgaagcg gttgagttcc 16917
 ttggggcggt ggcaggttg atgggtcttt ggggggagtg gccagatgcc tgtttccctg 16977
 gggagcttgg tcttgagtg ctgtagccag tgctctggaa ttttcagcaa aggggcacag 17037
 tggaggaggg tgcttctcta gtgggcctgc ccagaattgg gctcagagt acgggggtcat 17097
 cacttttggg ttctgactga aggcacatc agaaacagga cattatttcc ttaggattgc 17157
 gacttagggg cagagagtca gaacctgcaa gattttaaga gggcgtgaat ttacttccag 17217
 gggctccgaa tgagagtggc cagccacctg gattaaaata tatgtatgag caactttgat 17277
 tctttttttt ttttttgaga agggagttag tcttgtccc caggctggag tgcaatggcg 17337
 cgtctcggc tcaactgcaac ctccgctccc cgggtttaag caattctccc gtctcagcct 17397
 cctgagtagc tgggattaca ggctcccgcc accacactca gctgattttt gtatttttag 17457
 tagagacggg gtttcgcaac gttggccagg ctggtctgga actcctgaco tcagggtgatc 17517
 ccccgcttc ggctcccaa agtgctggga ttacaggcgt gagccaccac gccagcctgc 17577
 aactttgatt cttagtagga agccagaatt gcatctgtgt gtgagtggtc gtggaaagag 17637
 attttggtgt tcccgattt cagcgaatg gtgggttca gtcttcaatt ctgagaaggc 17697
 ggggccagaa cacgtggtct gatagttggc ggtggtctgg cgggtggaga ttctgaggtc 17757
 gcaggattag cacttaggg cctcccaagg gatgtggcta ggtgctctga atttctggtt 17817
 ggggtcatct ggaaccttcc acgtctgttc tgagtgatca ggaagaaat tctcctactc 17877

WO 02/083727	43/54	PCT/EP02/04090
tgggtagatg gatcccgccct ctaagcccat gcactctctc gcag g acc gcc tgt		17931
	Thr Ala Cys 480	
att tgg tga tgg agt acg tca ccg ggg gag act tga tgt acc aca ttc		17979
Ile Ser Trp Ser Thr Ser Pro Gly Glu Thr	Cys Thr Thr Phe 485 490 495	
aac agc tgg gca agt tta agg agc ccc atg cag cg tgagtctcgg		18021
Asn Ser Trp Ala Ser Leu Arg Ser Pro Met Gln Arg	500 505	
ccaacagaga atggtcgggg ttggtggaagg gggcaggatc cagccactga cctcttgaag		18084
tccccaccga ccccgctctc cag g ttc tac gcg gca gaa atc gct atc ggc		18135
	Phe Tyr Ala Ala Glu Ile Ala Ile Gly 510 515	
ctc ttc ttc ctt cac aat cag ggc atc atc tac agg tgagcagccc		18181
Leu Phe Phe Leu His Asn Gln Gly Ile Ile Tyr Arg	520 525	
caggaatttc cgtggaggaa atcacgcccc ttgaaggaaa gggatttgaa tatgtggctc		18241
tagactgctg aactcaaac ttcttgcaat tctgcctcca caccctcgca tcgtccag		18299
gga cct gaa gct gga caa tgt gat gct gga tgc tga ggg aca cat caa		18347
Gly Pro Glu Ala Gly Gln Cys Asp Ala Gly Cys Gly Thr His Gln	530 535 540	
gat cac tga ctt tgg cat gtg taa gga gaa cgt ctt ccc cgg gac gac		18395
Asp His Leu Trp His Val Gly Glu Arg Leu Pro Arg Asp Asp	545 550 555	
aac ccg cac ctt ctg ccg gac ccc gga cta cat agc ccc gga gg		18439
Asn Pro His Leu Leu Arg Asp Pro Gly Leu His Ser Pro Gly Gly	560 565 570	
taaccccaac cctgtctctc ttggtcacgt ttgagatccc tttagagggtg tagctgatgg		18499
tccagtattc accacgggtg aggcctgacc ctcagacatt gtcatgagtt gtggcctctc		18559
tacacagcca gtctgtcttc cagcctccag cacaggtgag cctggcactg agcctgccag		18619
gtgggcccag ctgggtctct aaataggtaa ggtgggcagc acctgtgggt gaattgtcca		18679
ggagagtggg accagctcgt aggaattcca agtaggacct gaccctggat ccttctgaga		18739
aggggcagac gattttctagt gtactctgag ttgggtgtggc ctgtccccctg ccaacactga		18799
acatgtccgg actatctctt gaatacttta aactgggcag ggctctccct ggagattcca		18859
gttggaatga agcttatttc ctgtgttgta cgtgtttctc tgatgtaagt gtaactggact		18919
tctgtgctgc atttttcaag agggcaggat cagctggggc cgggtggctca caccgtgaat		18979
cccagcactt tgggagggct aggcaggtgg atcacttgag gtcaggagtt tgagaccagc		19039
ctggcccaaca ttggtgaanaa ctactcttaa caaatttaca caaattagcc gggcgtgggtg		19099
gtggcggcct gtatacccag ctattccgga cgggtgaagca ggagaaatgc ttgaaccggg		19159
gaggcggagg ttgcagtgaq ctgaagatca accactgcac tcaacgcttg gtacacacgc		19219

WO 02/083727

44/54

PCT/EP02/04090

```

ataacttcac aacttoactc caaaaaaaaa aaaaaaaaaa agccgggtgc agtggctcac 19279
acctgtaatt ccagcacttg ggaggctgag gggggcggat cacaaggcca ggagtttgag 19339
accagcctga ctacacatgg gaaactccat ctctactaaa aatacaaaaa ttagccaggc 19399
gtggtggcgg gtgcctgtag tcccagctac ttggggaggt gaggcaggag aattacttga 19459
acccgggagg tggagggttg agtgagctga gatcgcgcca ctgcactcca gtctgggcaa 19519
cagagtggaga cctgtcttca aaaaaaaaa aaaaaagaaa aagaaaaagg gcagggtgag 19579
atccctaagg ttctgggaga gcagatgctg tcttatgagt attttaagt ggtaggggat 19639
tacccgactt tgtaaaagg gtggggctga tttctgaat gtacgtatag atggataaag 19699
cacatgcctg tagtccagc taactgggag gatgtgctg actcgtgcc aaataatcaa 19759
tgtcagtgat cacaacaact ggctggtaat cagaatcac ttagaaaaa ttgaaaactg 19819
agggcagaca tgggtggctca tgctgtaat ccagcactt tgggaagctg aggcaggcag 19879
atcacttgag gtcagggaat caagaccagc ctgaccaaca tggtagaacc cgtctctac 19939
taaaaataca aaaattagct ggacatggtg atgtgtgct gtcaaccag ctactcagga 19999
ggctgaggca ggagaatcac ttgaaccag gaggtggagg ttgcagtga ccaagattgc 20059
accactgcac tgcactctgg gctacagagt gagactocat ctcaaaaaa aaaaaagata 20119
agaaaatttg aaaaactcac acatattcct gactctgaca caaatattct aggtgggtgg 20179
aaccagtgac ttggcgttca ggtagtctt ctatttgagg ccaaatgaat gtttgaagta 20239
ggtatgcttt gtctccagaa tattccaaaa gtttagatgc tggccaaaat attcagagt 20299
gagggtgggc gtgggtggct actcctataa tcccagcact ttggaggcgg gaggcaggcc 20359
aattgcttga gtccgggagt ttgagaccag cctgggcaac atagttagga cctatcttca 20419
ctaaaagtgc aaaaattagc caggtgtggt ggtgcacacc ttagaccac ctacttggga 20479
ggctgaggta gaagaattac ctgagcctgg gaagttagg ctgagtga cgtgatcaca 20539
ctactgtgct ccagcctggg caacagagtg agaccctgtc aaaaaaaaa aaaaaaaaaa 20599
aaaaaaaaa acaaaaaatc acctgatgaa ataatattc agagtgggaa gagcttgtgc 20659
tgaaagcact taactgggt agcgcctcca gggggtgagg ccagaggggt cctaggcttc 20719
ctaaagaacy catcatgatt cctgccttc cactccctcc ag a tca ttg cct acc 20774
Ser Leu Pro Thr
575
agc cct atg gga agt ctg tgg att ggt ggt cct ttg gag ttc tgc tgt 20822
Ser Pro Met Gly Ser Leu Ser Ile Gly Gly Pro Leu Glu Phe Cys Cys
580 585 590
atg aga tgt tgg cag gac agg taaggggaagg tggggagaag ctggcttggc 20873
Met Arg Cys Trp Gln Asp Arg
595

```

WO 02/083727

45/54

PCT/EP02/04090

taaaagagac agagaggggc acctggatct caggaggagc cagtttagaaa ggagccaga 20933
 aggttgtgct cgaatagcgc tgccatgggt tctgaagtgt tgtcttaatg tagaccaggt 20993
 gttttgtttt gttttgtttt gtttgtctcg ttaccatgga ttctttctcc ctatagggta 21053
 aagtagcagt ctgggttaagc ctatggatcc ctcttcagaa gaatgttttt caatgcacaa 21113
 aatagaataa tacatagcga gaaaaccaag gtccaaatcc tcactttgac acttactggc 21173
 tgtgtcagct tagacaatta catacattct aaatcagctt gattggattc ctggactgct 21233
 gagtgtacta caactaaaa aattgggtac cacactcttg atcatcttct tagctggcta 21293
 tggtagtggg caccctatagt ccagctact ggggaggtcg aggcaggagg gtcacatgag 21353
 cccaagaact caaggttaca ctgaactatg agtatgccac tgtgttccag cacaggcgag 21413
 agagcaagac cccatctcaa aagaacaaa aaacaaaaga aatcaatcat tttgaaagat 21473
 agtcaccaaa acttttaaaa tttaattgaa tctacaacc aactaaatcc aatgtataca 21533
 gttgtctaaa tatttaaaat tggaaaatgg acatattgtgc aatttcttat taattcatta 21593
 agtagtaagt tctaatggta gtaagtaaa aaggagctct aacagtaatt ttgagttagc 21653
 aatgactaat aatttggaat atctgcaact ctcatgtgat gagaaaatac ctgtgattac 21713
 tattgataat gaagccacaa gcactgctgc tgcctgcatt cataactgaa gggaaatgcta 21773
 aattttagtt agaagttaaa aaaaaatttg gccggacatg gtggctcacg cctgtaatcc 21833
 aagcactttg ggaggccgaa gtgggcagat cacttgaggt caggagtttg agaccagcct 21893
 ggcaaatatg atgaaacccc atctctaat ctctgcttg gtatcatttt ttgtaacctc 21953
 agaagactgt gaactactca tcaaccagg agaatgcttt taggggtgttt cctgcagttt 22013
 ttctctctct ctatttaact gacatgttgc ataattaaca gcctgctgat ttacatagca 22073
 gataaagaga ggcagaatag tacagagatg cacagatctg aggcacccga gataggaaat 22133
 gagagaacct gagaaggaga gagatcaagc ttgggtggtt tggctctgac tctctgagg 22193
 gtgtggtcag gtgtgcattg ggggcgtgtg atgggtcagg catgttcccg gtggggtgag 22253
 gaggggtggt aagglttggg gaaaggcagt tgggcattgc cctgactctc tatccctcc 22313
 actttgatag cct ccc ttc gat ggg gag gac gag gag gag ctg ttt cag 22362
 Pro Pro Phe Asp Gly Glu Asp Glu Glu Glu Leu Phe Gln
 600 605 610
 gcc atc atg gaa caa act gtc acc tac ccc aag tcg ctt tcc cgg gaa 22410
 Ala Ile Met Glu Gln Thr Val Thr Tyr Pro Lys Ser Leu Ser Arg Glu
 615 620 625
 gcc gtg gcc atc tgc aag ggg g tgagagcccc ctgactccca gcttctccag 22462
 Ala Val Ala Ile Cys Lys Gly
 630 635
 gctcacacc acacacocca ttgctgtctc tgtgctatt agaaaaatgc tccattctc 22522
 gaagtcactt tacttccatc tgttggaata gtgatatga tgcataaggt ttgttagaac 22582

WO 02/083727

46/54

PCT/EP02/04090

```

aatgatttcc agccctgttg ccacgaggcc tggagatggc ctctgtctca tccctctctg 22642
tgaotccccc tcccagctc cctgcttgca ggaagtgcg aaagtccagg gtgtctgtct 22702
gtctagaact ggggtgggtca ggtaaaacca actctctcag ctttctctcc tgtgtgaact 22762
tgggtgagtc accaaaactt tgtgagetta actctcttca ggggttatgg agttgacaca 22822
gaagaaagca cctggcccat agcagatttt cagcccatgt cagcaccttc tgcgtctagc 22882
tgcctctctc gcctctccct gacagtctct ctgggttctg tctcatgcct cccctccatc 22942
tgcatacgal ggggtctctc gtgtttcttc ctttctctg tctctcttc tgcctctctg 23002
tctacacttt tgggcctttg tccaaacccc ctacccccc tctctgtccc ctctgtgtc 23062
cactctcata cacacaagct acatctcacc ctctctctct gctggcttcc tgtctctctc 23122
ttctctggg tctctgtccc catatttggc ctttattctc cctctgggt gtgtgttcc 23182
tgggtctcta tccctctctc tttctgaatc tctgtccccc tgggtctctc ctgtctctc 23242
cctctctga gtctctgct tcttacctgg ggtctctgta cccctctctg aattctatt 23302
tccctcttcc tctgggtctg caacctctct tcccccattc cctctctctc cccctctc 23362
tctctctacc tctctctctc cccctctacc acctctctct gtctctctct ctctctctcc 23422
ctctctctcc ctacctctcc ctctctctct cctctctctc cctctctctc ctctctctac 23482
cctttctccc tctctctctc tccatctccc tcatgatttg ttctgtttct ctgtgtgtcc 23542
ctgggtctct gggatgaat tccatctgct atcatttcca tctatctctc cctctctctc 23602
gtctctctct ctctctctct cactcaactc cactctctgt ctctctctct ctctgtctct 23662
ctctctctct ctctctctct tctctctctc tctctctctc tctgtctctc tccctctctc 23722
tctctctccc tctctctctc cctctctctc ctctctctcc tctctctctc cctctctctc 23782
ctctctctct tctctctctc tctctctctc tctctctctc ctctctctcc ttttctctc 23842
ctctctctct ttgcctgttt cccctggctg ttctctctc tccggatctc atgcctgtgt 23902
ctctgtgttc ctccatctgc ctgtctctgt cctctctctc ctgggtctac ctgtccgcca 23962
ctctgtctgt ttgtctgtct gtctctctct gtgtttccca ca gt tcc tga cca 24015
                                Gly Ser      Pro

agc acc cag gga agc gcc tgg gct cag gcc ctg atg ggg aac cta coa 24063
Ser Thr Gln Gly Ser Ala Trp Ala Gln Gly Leu Met Gly Asn Leu Pro
640                                645                                650

tcc gtg cac atg gct ttt tcc gct gga ttg act ggg agc gcc tgg aac 24111
Ser Val His Met Ala Phe Ser Ala Gly Leu Thr Gly Ser Gly Trp Asn
655                                660                                665                                670

gat tgg aga tcc cgc ctg ctt tca gac ccc gcc cg gtcagtcacc 24156
Asp Trp Arg Ser Arg Leu Leu Ser Asp Pro Ala Arg
675                                680

```

WO 02/083727 47/54 PCT/EP02/04090

ctccaggcaa caaaaacctg gtccctgaag ggggtggggtt cccctgggccc tcaatatacc 24216

tgatgtggg ggtgggggttc cctctgcaga gccccccgcc cccaacaaaa ggaggtgcag 24276

acaccatgaa gcatgaatag agattctgca ggagacagga gatgagactg ggggtacacag 24336

agggacaacc gaggagccct cggagctgct taactttccc tccccacgt ctcccaca g 24395

tgt ggc cgc agc ggc gag aac ttt gac aag ttc ttc acg cgg gcg gcg 24443
Cys Gly Arg Ser Gly Glu Asn Phe Asp Lys Phe Phe Thr Arg Ala Ala
685 690 695

cca gcg ctg acc cct cca gac cgc cta gtc ctg gcc agc atc gac cag 24491
Pro Ala Leu Thr Pro Pro Asp Arg Leu Val Leu Ala Ser Ile Asp Gln
700 705 710

gcc gat ttc cag ggc ttc acc tac gtg aac ccc gac ttc gtg cac ccg 24539
Ala Asp Phe Gln Gly Phe Thr Tyr Val Asn Pro Asp Phe Val His Pro
715 720 725 730

gat gcc cgc agc ccc acc agc cca gtg cct gtg ccc gtc atg taa tct 24587
Asp Ala Arg Ser Pro Thr Ser Pro Val Pro Val Pro Val Met Ser
735 740 745

cac ccg ccg cca cta ggt gtc ccc aac gtc ccc tcc gcc gtg ccg gcg 24635
His Pro Pro Pro Leu Gly Val Pro Asn Val Pro Ser Ala Val Pro Ala
750 755 760

gca gcc cca ctt cac ccc caa ctt cac cac ccc ctg tcc cat tct aga 24683
Ala Ala Pro Leu His Pro Gln Leu His His Pro Leu Ser His Ser Arg
765 770 775

tcc tgc acc cca gca ttc cag ctc tgc ccc cgc ggg ttc tag acg ccc 24731
Ser Cys Thr Pro Ala Phe Gln Leu Cys Pro Arg Gly Phe Thr Pro
780 785 790

ctc cca agc gtt cct ggc ctt ctg aac tcc ata cag cct cta cag ccg 24779
Leu Pro Ser Val Pro Gly Leu Leu Asn Ser Ile Gln Pro Leu Gln Pro
795 800 805

tcc cgc gtt caa gac ttg agc g 24801
Ser Arg Val Gln Asp Leu Ser
810 815

<210> 19

<211> 2524

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<223> PKCG nach GB Acc. XM_017991

WO 02/083727

48/54

PCT/EP02/04090

<220>

<221> exon

<222> (1) .. (366)

<223> Exon 1

<220>

<221> exon

<222> (367) .. (399)

<223> Exon 2

<220>

<221> exon

<222> (400) .. (483)

<223> Exon 3

<220>

<221> exon

<222> (484) .. (596)

<223> Exon 4

<220>

<221> exon

<222> (597) .. (729)

<223> Exon 5

<220>

<221> exon

<222> (730) .. (887)

<223> Exon 6

<220>

WO 02/083727

49/54

PCT/EP02/04090

<221> exon
<222> (868)..(1023)
<223> Exon 7

<220>
<221> exon
<222> (1024)..(1112)
<223> Exon 8

<220>
<221> exon
<222> (1113)..(1143)
<223> Exon 9

<220>
<221> exon
<222> (1144)..(1297)
<223> Exon 10

<220>
<221> exon
<222> (1298)..(1487)
<223> Exon 11

<220>
<221> exon
<222> (1488)..(1580)
<223> Exon 12

<220>
<221> exon

WO 02/083727

50/54

PCT/EP02/04090

<222> (1581)..(1644)

<223> Exon 13

<220>

<221> exon

<222> (1645)..(1784)

<223> Exon 14

<220>

<221> exon

<222> (1785)..(1866)

<223> Exon 15

<220>

<221> exon

<222> (1867)..(1975)

<223> Exon 16

<220>

<221> exon

<222> (1976)..(2117)

<223> Exon 17

<220>

<221> exon

<222> (2118)..(2524)

<223> Exon 18

<400> 19

ggc ggc ccc ggg gtg ccg ctc cct gcc tgg cgc gct ccc cac ctg gag	48
Gly Ala Pro Gly Val Pro Leu Pro Ala Trp Arg Ala Pro His Leu Glu	
1 5 10 15	
gtg cct tgc ccc tct cct gcc cac ctc gga att tcc ctg tgg ctc ctt	96
Val Pro Cys Pro Ser Pro Ala His Leu Gly Ile Ser Leu Trp Leu Leu	

WO 02/083727		51/54		PCT/EP02/04090
20	25	30		
tga tcc ttc gag tct cca gct cct ctc cct tcc acc tgt ttc ccc caa			144	
Ser Phe Glu Ser Pro Ala Pro Leu Pro Ser Thr Cys Phe Pro Gln				
35	40	45		
gaa agg cag gat cct ggt ccc tgc tac gtt tot ggg gcc atg gct ggt			192	
Glu Arg Gln Asp Pro Gly Pro Cys Tyr Val Ser Gly Ala Met Ala Gly				
50	55	60		
ctg ggc ccc ggc gta ggc gat tca gag ggg gga ccc cgg ccc ctg ttt			240	
Leu Gly Pro Gly Val Gly Asp Ser Glu Gly Gly Pro Arg Pro Leu Phe				
65	70	75		
tgc aga aag ggg gcc ctg agg cag aag gtg gtc cac gaa gtc aag agc			288	
Cys Arg Lys Gly Ala Leu Arg Gln Lys Val Val His Glu Val Lys Ser				
80	85	90		
cac aag ttc acc gct cgc ttc ttc aag cag ccc acc ttc tgc agc cac			336	
His Lys Phe Thr Ala Arg Phe Phe Lys Gln Pro Thr Phe Cys Ser His				
100	105	110		
tgc acc gac ttc atc tgg tga ggg aag ggg gca ggg cct gca atg tca			384	
Cys Thr Asp Phe Ile Trp Gly Lys Gly Ala Gly Pro Ala Met Ser				
115	120	125		
agg taa gag ctg ggg tgg ttc atc gac gat gcc acg aat ttg tga cct			432	
Arg Glu Leu Gly Trp Phe Ile Asp Ala Thr Asn Leu Pro				
130	135	140		
tcg agt gtc cag gcg ctg gga agg gcc ccc aga cgg acg tga gtg ctc			480	
Ser Ser Val Gln Ala Leu Gly Arg Ala Pro Arg Arg Thr Val Leu				
145	150	155		
gga ccg gaa caa aca caa gtt ccg cct gca tag cta cag cag ccc cac			528	
Gly Pro Glu Gln Thr Gln Val Pro Pro Ala Leu Gln Gln Pro His				
160	165	170		
ctt ctg cga cca ctg tgg ctc cct cct cta cgg gct tgt gca cca ggg			576	
Leu Leu Arg Pro Leu Trp Leu Pro Pro Leu Arg Ala Cys Ala Pro Gly				
175	180	185		
cat gaa atg ctc ctg tga gt g aga tga acg tgc acc ggc gct gtg tgc			624	
His Glu Met Leu Leu Val Arg Thr Cys Thr Gly Ala Val Cys				
190	195	200		
gta gcg tgc cct ccc tgt gcg gtg tgg acc aca ccg agc gcc gcg ggc			672	
Val Ala Cys Pro Pro Cys Ala Val Trp Thr Thr Pro Ser Ala Ala Gly				
205	210	215		
gcc tgc agc tgg aga tcc ggg ctc cca cag cag atg aga tcc acg taa			720	
Ala Cys Ser Trp Arg Ser Gly Leu Pro Gln Gln Met Arg Ser Thr				
220	225	230		
ctg gtg agg gag gcc cgt aac cta att cct atg gac ccc aat ggt ctc			768	
Leu Val Arg Glu Ala Arg Asn Leu Ile Pro Met Asp Pro Asn Gly Leu				
235	240	245		
tct gat ccc tat gtg aaa ctg aag ctc atc cca gac cct cgg aac ctg			816	
Ser Asp Pro Tyr Val Lys Leu Lys Leu Ile Pro Asp Pro Arg Asn Leu				
250	255	260		
acg aaa cag aag acc cga acg gtg aaa gcc acg cta aac cct gtg tgg			864	

WO 02/083727

52/54

PCT/EP02/04090

```

Thr Lys Gln Lys Thr Arg Thr Val Lys Ala Thr Leu Asn Pro Val Trp
265                270                275

aat gag acc ttt gtg ttg tga gt c ctg aag cca ggg gat gtg gag cgc    912
Asn Glu Thr Phe Val Leu Val Leu Lys Pro Gly Asp Val Glu Arg
280                285                290

cgg ctc agc gtg gag gtg tgg gac tgg gac cgg acc tcc cgc aac gac    960
Arg Leu Ser Val Glu Val Trp Asp Trp Asp Arg Thr Ser Arg Asn Asp
295                300                305                310

ttc atg ggg gcc atg tcc ttt ggc gtc tcg gag ctg ctc aag gcg ccc    1008
Phe Met Gly Ala Met Ser Phe Gly Val Ser Glu Leu Leu Lys Ala Pro
315                320                325

gtg gat ggc tgg tga caa gtt act gaa cca gga gga ggg cga gta tta    1056
Val Asp Gly Trp Gln Val Thr Glu Pro Gly Gly Gly Arg Val Leu
330                335                340

caa tgt gcc ggt ggc cga tgc tga caa ctg cag cct cct cca gaa gtt    1104
Gln Cys Ala Gly Gly Arg Cys Gln Leu Gln Pro Pro Pro Glu Val
345                350                355

tga ggt ac t gta act acc ccc tgg aat tgt atg agg tga gcg ggt gcg    1152
Gly Thr Val Thr Pro Trp Asn Cys Met Arg Ala Gly Ala
360                365                370

gat ggg ccc ctc ttc ctc tcc cat ccc ctc ccc ttc ccc tag tcc cac    1200
Asp Gly Pro Leu Phe Leu Ser His Pro Leu Pro Phe Pro Ser His
375                380                385

cga ccc caa gcg ctg ctt ctt cgg ggc gag tcc agg acg cct gca cat    1248
Arg Pro Gln Ala Leu Leu Leu Arg Gly Glu Ser Arg Thr Pro Ala His
390                395                400

ctc cga ctt cag ctt cct cat ggt tot agg aaa agg cag ttt tgg gaa g    1297
Leu Arg Leu Gln Leu Pro His Gly Ser Arg Lys Arg Gln Phe Trp Glu
405                410                415

gg tga tgc tgg ccg agc gca ggg gct ctg atg agc tot acg cca tca    1344
Gly Cys Trp Pro Ser Ala Gly Ala Leu Met Ser Ser Thr Pro Ser
420                425                430

aga tot tga aaa agg acg tga tgg tcc agg acg acg atg tgg act gca    1392
Arg Ser Lys Arg Thr Ser Ser Arg Thr Thr Met Trp Thr Ala
435                440                445

cgc tgg tgg aga aac gbg tgc tgg cgc tgg ggg gcc ggg gtc ctg gcg    1440
Arg Trp Trp Arg Asn Val Cys Trp Arg Trp Gly Ala Gly Val Leu Ala
450                455                460

gcc ggc ccc act tcc tca ccc agc tcc act cca cct tcc aga ccc cg g    1488
Ala Gly Pro Thr Ser Ser Pro Ser Ser Thr Pro Pro Ser Arg Pro Arg
465                470                475

acc gcc tgt att tgg tga tgg agt acg tca cgg ggg gag act tga tgt    1536
Thr Ala Cys Ile Ser Trp Ser Thr Ser Pro Gly Glu Thr Cys
480                485                490

acc aca ttc aac agc tgg gca agt tta agg agc ccc atg cag cg g ttc    1584
Thr Thr Phe Asn Ser Trp Ala Ser Leu Arg Ser Pro Met Gln Arg Phe
495                500                505

```

WO 02/083727

53/54

PCT/EP02/04090

tac gcg gca gaa atc gct atc ggc ctc ttc ttc ctt cac aat cag ggc Tyr Ala Ala Glu Ile Ala Ile Gly Leu Phe Phe Leu His Asn Gln Gly 510 515 520	1632
atc atc tac agg gga cct gaa gct gga caa tgt gat gct gga tgc tga Ile Ile Tyr Arg Gly Pro Glu Ala Gly Gln Cys Asp Ala Gly Cys 525 530 535	1680
ggg aca cat caa gat cac tga ctt tgg cat gtg taa gga gaa cgt ctt Gly Thr His Gln Asp His Leu Trp His Val Gly Glu Arg Leu 540 545 550	1728
ccc cgg gac gac aac cgg cac ctt ctg cgg gac ccc gga cta cat agc Pro Arg Asp Asp Asn Pro His Leu Leu Arg Asp Pro Gly Leu His Ser 555 560 565	1776
ccc gga gg a tca ttg cct acc agc cct atg gga agt ctg tgg att ggt Pro Gly Gly Ser Leu Pro Thr Ser Pro Met Gly Ser Leu Ser Ile Gly 570 575 580 585	1824
ggt cct ttg gag ttc tgc tgt atg aga tgt tgg cag gac agg cct ccc Gly Pro Leu Glu Phe Cys Cys Met Arg Cys Trp Gln Asp Arg Pro Pro 590 595 600	1872
ttc gat ggg gag gac gag gag gag ctg ttt cag gcc atc atg gaa caa Phe Asp Gly Glu Asp Glu Glu Glu Leu Phe Gln Ala Ile Met Glu Gln 605 610 615	1920
act gtc acc tac ccc aag tgg ctt tcc cgg gaa gcc gtg gcc atc tgc Thr Val Thr Tyr Pro Lys Ser Leu Ser Arg Glu Ala Val Ala Ile Cys 620 625 630	1968
aag ggg g gt tcc tga cca agc acc cag gga agc gcc tgg gct cag ggc Lys Gly Gly Ser Pro Ser Thr Gln Gly Ser Ala Trp Ala Gln Gly 635 640 645	2016
ctg atg ggg aac cta cca tcc gtg cac atg gct ttt tcc gct gga ttg Leu Met Gly Asn Leu Pro Ser Val His Met Ala Phe Ser Ala Gly Leu 650 655 660	2064
act ggg agc ggc tgg aac gat tgg aga tcc cgc ctc ctt tca gac ccc Thr Gly Ser Gly Trp Asn Asp Trp Arg Ser Arg Leu Leu Ser Asp Pro 665 670 675 680	2112
gcc cg g tgt ggc cgc agc ggc gag aac ttt gac aag ttc ttc acg cgg Ala Arg Cys Gly Arg Ser Gly Glu Asn Phe Asp Lys Phe Phe Thr Arg 685 690 695	2160
gcg gcg cca gcg ctg acc cct cca gac cgc cta gtc ctg gcc agc atc Ala Ala Pro Ala Leu Thr Pro Pro Asp Arg Leu Val Leu Ala Ser Ile 700 705 710	2208
gac cag gcc gat ttc cag ggc ttc acc tac gtg aac ccc gac ttc gtg Asp Gln Ala Asp Phe Gln Gly Phe Thr Tyr Val Asn Pro Asp Phe Val 715 720 725	2256
cac ccg gat gcc cgc agc ccc acc agc cca gtg cct gtg ccc gtc atg His Pro Asp Ala Arg Ser Pro Thr Ser Pro Val Pro Val Pro Val Met 730 735 740	2304
taa tct cac ccg ccg cca cta ggt gtc ccc aac gtc ccc tcc gcc gtg Ser His Pro Pro Pro Leu Gly Val Pro Asn Val Pro Ser Ala Val 745 750 755	2352

WO 02/083727

54/54

PCT/EP02/04090

```

ccg ggg gca gcc cca ctt cac ccc caa ctt cac cac ccc ctg tcc cat      2400
Pro Ala Ala Ala Pro Leu His Pro Gln Leu His His Pro Leu Ser His
760              765              770              775

tct aga tcc tgc acc cca gca ttc cag ctc tgc ccc cgc ggg ttc tag      2448
Ser Arg Ser Cys Thr Pro Ala Phe Gln Leu Cys Pro Arg Gly Phe
780              785              790

acg ccc ctc cca agc gtt cct ggc ctt ctg aac tcc ata cag cct cta      2496
Thr Pro Leu Pro Ser Val Pro Gly Leu Leu Asn Ser Ile Gln Pro Leu
795              800              805

cag ccg tcc cgc gtt caa gac ttg agc g      2524
Gln Pro Ser Arg Val Gln Asp Leu Ser
810              815

```

【国際公開パンフレット（コレクトバージョン）】

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
24. Oktober 2002 (24.10.2002)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 02/083727 A3

(51) Internationale Patentklassifikation: C07K 14/47

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/JP02/04090

(22) Internationales Anmeldedatum:
12. April 2002 (12.04.2002)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
101 18 452.2 12. April 2001 (12.04.2001) DE

CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE,
GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR,
KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK,
MN, MW, MX, MY, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU,
SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, UA, UG,
US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH,
GM, KI, LS, MW, MZ, SD, SI, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),
eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK,
ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR),
OAPI-Patent (BF, BJ, CI, CG, CL, CM, GA, GN, GQ, GW,
ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:
mit internationalem Recherchenbericht

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen
Recherchenberichts: 17. April 2003

(71) Anmelder und
(72) Erfinder: BULLERDIEK, Jörn [DE/DE]; In der
Poggenkühle 23, 28357 Bremen (DE).

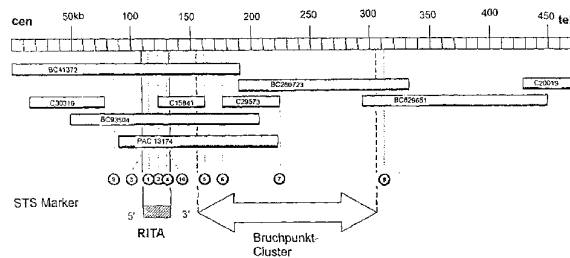
(74) Anwalt: BOHMANN, Armin, K.; Bohmann & Loosen,
Sonnenstrasse 8, 80331 München (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe
der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: NUCLEIC ACID SEQUENCES OF HYPERPLASIES AND TUMORS OF THE THYROID

(54) Bezeichnung: NUKLEINSÄURESEQUENZEN VON HYPERPLASIEN UND TUMOREN DER SCHILDDRÜSE



(57) Abstract: The invention relates to a nucleic acid that has a modified expression caused by hyperplasias and/or tumors, said nucleic acid comprising a nucleic acid sequence selected from the group including SEQ.ID.No. 1 to 12 and SEQ.ID.No. 16 to 19.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft eine Nukleinsäure mit bei Hyperplasien und/oder Tumoren geänderter Expression, wobei die Nukleinsäure eine Nukleinsäuresequenz umfasst, die ausgewählt ist aus Gruppe, die SEQ.ID.No. 1 bis 12 und SEQ.ID.No. 16-19 umfasst.

WO 02/083727 A3

【手続補正書】

【提出日】平成15年8月4日(2003.8.4)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

過形成及び／又は腫瘍を原因とする発現変化を有する核酸であって、配列番号1、2、7、10、11及び12からなる群から選択される核酸配列を含むことを特徴とする核酸。

【請求項2】

腫瘍が、染色体バンド19q内に何らかの変化を有する各種上皮腫瘍及び染色体バンド19q13内に何らかの変化を有する各種腫瘍からなる群から選択されることを特徴とする、請求項1に記載の核酸。

【請求項3】

過形成が甲状腺の各種過形成からなる群から選択されることを特徴とする、請求項1又は2に記載の核酸。

【請求項4】

配列番号1、2、7、10、11及び／又は12が、CAT（特にヒトCAT）又はこれらの一部をコードすることを特徴とする、請求項1～3のいずれか一項に記載の核酸配列。

【請求項5】

遺伝子コードの縮重がなければ請求項1～4のいずれか一項に記載の核酸と同じアミノ酸配列をコードする核酸配列を含む核酸。

【請求項6】

請求項1～5のいずれか一項に記載の核酸の内の一核酸とハイブリダイズする核酸。

【請求項7】

前出の請求項のいずれか一項に記載の核酸を含むことを特徴とするベクター。

【請求項8】

プロモーター、ターミネーター及びエンハンサーからなる群から選択される少なくとも一種の要素を更に含むことを特徴とする、請求項7に記載のベクター。

【請求項9】

ベクターが発現ベクターであることを特徴とする、請求項7又は8に記載のベクター。

【請求項10】

少なくとも一個のプロモーターが、ポリペプチドをコードする請求項1～8のいずれか一項に記載の核酸の少なくとも一部分を有するリーディングフレーム内にあることを特徴とする、請求項7～9に記載のベクター。

【請求項11】

請求項1～6のいずれか一項に記載の核酸によりコードされるポリペプチド。

【請求項12】

改変されていることを特徴とする、請求項11に記載のポリペプチド。

【請求項13】

請求項7～10のいずれか一項に記載のベクターを含む細胞（特に単離された細胞）。

【請求項14】

請求項11又は12に記載のポリペプチドに対するものであることを特徴とする抗体。

【請求項15】

請求項1～6のいずれか一項に記載の核酸に対するものであることを特徴とする、請求項14に記載の抗体。

【請求項16】

請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の核酸に対するものであることを特徴とするリボザイム。

【請求項 17】

請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の核酸の少なくとも一部分を含むことを特徴とする、請求項 16 に記載のリボザイム。

【請求項 18】

請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の各種核酸配列の内の一配列と相補的な配列を含むアンチセンス核酸。

【請求項 19】

請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の各種核酸のうちの一核酸と相補的である又はこれと同一である配列を含む RNAi であって、好ましくはこの RNAi が、相補的又は同一である領域の長さが 21 ~ 23 個のヌクレオチドである領域を含む、RNAi。

【請求項 20】

前出の請求項のいずれか一項に記載の核酸の翻訳産物の作用に影響を及ぼす化合物、特に前記作用を阻害する化合物を決定する方法であって、次の各段階、

- ・翻訳産物と化合物を調製する段階と、
- ・翻訳産物の作用を体現する系において、翻訳産物と化合物とを接触させる段階と、
- ・化合物の影響下において翻訳産物の作用に何らかの変化が生じたか否かを決定する段階と

を特徴とする方法。

【請求項 21】

前出の請求項のいずれか一項に記載の核酸の転写産物の作用に影響を及ぼす化合物、特に前記作用を阻害する化合物を決定する方法であって、次の各段階、

- ・転写産物と化合物を調製する段階と、
- ・転写産物の作用を体現する系において、転写産物と化合物とを接触させる段階と、
- ・化合物の影響下において転写産物の作用に何らかの変化が生じたか否かを決定する段階と

を特徴とする方法。

【請求項 22】

系が、細胞発現系、無細胞発現系、化合物と翻訳産物の間の相互作用を測定するアッセイ及び化合物と転写産物の間の相互作用を測定するアッセイからなる群から選択されることを特徴とする、請求項 20 又は 21 に記載の方法。

【請求項 23】

過形成及び腫瘍の形成、特に甲状腺の過形成及び腫瘍の形成を担う遺伝子を決定する方法であって、次の各段階、

- ・過形成及び腫瘍の染色体転座部におけるブレイクポイントを決定する段階と、
- ・ブレイクポイント領域の両側 400 kbp、好ましくは 150 kbp の領域内にある遺伝子を決定する段階と、
- ・過形成細胞又は腫瘍細胞におけるこの遺伝子の翻訳／転写が、過形成でない細胞又は腫瘍でない細胞と比べて変化しているか否かを決定する段階と

を含む方法。

【請求項 24】

請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の核酸及び／又は請求項 16 又は 17 に記載のリボザイム及び／又は請求項 18 に記載のアンチセンス核酸及び／又は請求項 19 に記載の RNAi の、甲状腺機能障害及び／又は甲状腺過形成及び／又は甲状腺腫瘍の診断及び／又は治療のための使用。

【請求項 25】

請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の核酸及び／又は請求項 16 又は 17 に記載のリボザイム及び／又は請求項 18 に記載のアンチセンス核酸及び／又は請求項 19 に記載の RNAi の、医薬を製造するため、特に、甲状腺機能障害及び／又は甲状腺過形成及び／又は

甲状腺腫瘍を治療及び／又は予防するための医薬を製造するための使用。

【請求項 26】

請求項 11～12 のいずれか一項に記載のポリペプチドの、甲状腺機能障害及び／又は甲状腺過形成及び／又は甲状腺腫瘍の診断及び／又は治療のための使用。

【請求項 27】

請求項 11～12 のいずれか一項に記載のポリペプチドの、医薬の製造、特に、甲状腺機能障害及び／又は甲状腺過形成及び／又は甲状腺腫瘍を治療及び／又は予防するための医薬を製造するための使用。

【請求項 28】

請求項 14～15 のいずれか一項に記載の抗体の、甲状腺機能障害及び／又は甲状腺過形成及び／又は甲状腺腫瘍の診断及び／又は治療のための使用。

【請求項 29】

請求項 14～15 のいずれか一項に記載の抗体の、医薬を製造するための使用。

【請求項 30】

甲状腺機能障害及び／又は甲状腺過形成及び／又は甲状腺腫瘍の診断のためのキットであって、該キットが、それぞれ前出の請求項の一項に記載の核酸、ベクター、ポリペプチド、細胞、抗体、アンチセンス核酸、RNAi 及びリボザイムからなる群から選択される少なくとも一種の要素を含むことを特徴とするキット。

【請求項 31】

甲状腺機能障害及び／又は甲状腺過形成及び／又は甲状腺腫瘍を検出するための方法であって、次の各段階、

- ・甲状腺材料を、それぞれ前出の請求項の一項に記載の核酸、ベクター、ポリペプチド、抗体、アンチセンス核酸、RNAi、リボザイム及び細胞からなる群から選択される剤に接触させる段階と、
- ・甲状腺機能障害及び／又は甲状腺過形成及び／又は甲状腺腫瘍が存在するか否かを決定する段階と

を特徴とする方法。

【請求項 32】

甲状腺材料が *ex vivo* に存在することを特徴とする、請求項 31 に記載の方法。

【請求項 33】

請求項 1～6 のいずれか一項に記載の核酸の、プライマー及び／又はプローブとしての使用。

【請求項 34】

請求項 1～6 のいずれか一項に記載の核酸配列の一部分に相補的であることを特徴とする、核酸を提供する及び／又はスクリーニングする及び／又は検出するためのプライマー。

【請求項 35】

プライマーが請求項 1～6 のいずれか一項に記載の核酸配列の一部分に相補的であることを特徴とする、核酸（特に前出の請求項のいずれか一項に記載の核酸）を提供する及び／又はスクリーニングする及び／又は検出するためのプライマーの使用。

【請求項 36】

甲状腺腫瘍又は甲状腺腫において検出され得る配列を含む核酸を提供する方法であって、ブレークポイントを有する転座が染色体バンド 19q13 に存在し、前記配列が染色体バンド 19q13 内にあり、

該方法が次の各段階、

- ・PCRを実施するための請求項 36 に記載のプライマーを調製する段階と、
- ・ヒト染色体 19 のバンド 19q13 から採取した核酸配列又は請求項 1～6 のいずれか一項に記載の核酸を調製する段階と、
- ・核酸配列又は核酸をプライマーと混合する段階と、
- ・PCRを実施する段階と、

を含むことを特徴とする方法。

【請求項 37】

医薬組成物であって、

それぞれ前出の請求項の一項に記載の核酸、ベクター、ポリペプチド、細胞、抗体、アンチセンス核酸、RNAi、リボザイム及びこれらの組み合わせからなる群から選択される少なくとも一種の剤と、

医薬として許容しうる少なくとも一種の担体と

を含むことを特徴とする医薬組成物。

【請求項 38】

腫瘍及び過形成を治療及び／又は予防するための方法であって、前出の請求項のいずれか一項に記載の核酸の発現を変化させる作用を阻害する化合物が患者に投与されることを特徴とする方法。

【請求項 39】

前出の請求項のいずれか一項に記載の核酸の発現を変化させる作用を阻害する化合物の、医薬を製造するための使用。

【請求項 40】

医薬が、腫瘍及び／又は過形成、特に甲状腺の腫瘍及び／又は過形成を治療及び／又は予防するためのものであることを特徴とする、請求項 39 に記載の使用。

【請求項 41】

配列番号 1、2、7、10、11 及び 12 からなる群から選択される配列を有する核酸又はこれらの誘導体、及び／又はこれらにコードされるポリペプチド又はこれらの誘導体の、医薬（特に甲状腺機能障害及び／又は甲状腺過形成及び／又は甲状腺腫瘍を治療するための医薬）を製造するための及び／又は診断手段（特に甲状腺機能障害及び／又は甲状腺過形成及び／又は甲状腺腫瘍の診断のための診断手段）を製造するための使用。

【請求項 42】

ポリペプチドが、配列番号 13 及び／又は配列番号 15 に従ったアミノ酸配列を有することを特徴とする、請求項 41 に記載の使用。

【請求項 43】

核酸が、遺伝子コードの縮重がなければ、配列番号 1、2、7、10、11 及び 12 の配列の一配列に係る核酸とハイブリダイズすることを特徴とする、請求項 41 又は 42 に記載の使用。

【請求項 44】

配列番号 13 及び配列番号 15 からなる群から選択される配列を有する核酸又はこれらの誘導体の、医薬（特に甲状腺機能障害及び／又は甲状腺過形成及び／又は甲状腺腫瘍を治療するための医薬）を製造するための及び／又は診断手段（特に甲状腺機能障害及び／又は甲状腺過形成及び／又は甲状腺腫瘍の診断のための診断手段）を製造するための使用。

【請求項 45】

甲状腺機能障害及び／又は甲状腺過形成及び／又は甲状腺腫瘍を治療するための手段、及び／又は甲状腺機能障害及び／又は甲状腺過形成及び／又は甲状腺腫瘍を診断するための診断手段をスクリーニングするための方法であって、次の各段階、

e) 候補化合物を調製する段階と、

f) 発現系及び／又は活性系を調製する段階と、

g) 候補化合物を発現系及び／又は活性系と接触させる段階と、

h) 候補化合物の影響下において、配列番号 1、2、7、10、11 及び 12 からなる群から選択される配列を有する核酸又はこれらの誘導体、及び／又はこれらにコードされるポリペプチド、及び／又は配列番号 13 又は 15 に従った配列を有するポリペプチド又はこれらの誘導体の発現及び／又は活性が変化しているか否かを決定する段階と

を含む方法。

【請求項 46】

候補化合物が化合物ライブラリーに含まれることを特徴とする、請求項 45 に記載の方法。

【請求項 47】

候補化合物がペプチド、蛋白質、抗体、アンチカリン、機能的核酸及び小分子からなる化合物クラス群から選択されることを特徴とする、請求項 45 又は 46 に記載の方法。

【請求項 48】

機能的核酸が、アプタマー、アプタザイム、リボザイム、スピゲルマー、アンチセンスオリゴヌクレオチド及び RNAi からなる群から選択されることを特徴とする、請求項 47 に記載の方法。

【請求項 49】

配列番号 1、2、7、10、11 及び 12 からなる群から選択される配列を有する核酸又はこれらの誘導体、及び / 又はこれらにコードされるポリペプチド又はこれらの誘導体、及び / 又は配列番号 13 又は 15 に従った配列を有するポリペプチド又はこれらの誘導体、及び / 又は配列番号 1、2、7、10、11 及び 12 からなる群から選択される配列を有する核酸の特に天然相互作用パートナー又はこれらの誘導体、及び / 又はこれらにコードされるポリペプチド又はこれらの誘導体、及び / 又はこれらの核酸、及び / 又は配列番号 13 又は 15 に従った配列を有するポリペプチドの相互作用パートナー又はこれらの誘導体の、甲状腺機能障害及び / 又は甲状腺過形成及び / 又は甲状腺腫瘍を診断するための診断手段を開発及び / 又は製造するためターゲット分子としての、及び / 又は甲状腺機能障害及び / 又は甲状腺過形成及び / 又は甲状腺腫瘍を予防及び / 又は治療するための医薬を開発及び / 又は製造するためのターゲット分子としての使用。

【請求項 50】

医薬又は診断手段が、抗体、ペプチド、アンチカリン、小分子、アンチセンス分子、アプタマー、スピゲルマー及び RNAi 分子からなる群から選択される剤を含むことを特徴とする、請求項 49 に記載の使用。

【請求項 51】

剤が、配列番号 13 又は 15 に従った配列を有するポリペプチド又はこれらの誘導体又はこれらの相互作用パートナーと相互作用することを特徴とする、請求項 50 に記載の使用。

【請求項 52】

剤が、配列番号 1、2、7、10、11 及び 12 からなる群から選択される配列を有する核酸又はこれらの誘導体と相互作用する、及び / 又は特に天然相互作用パートナーをコードする核酸と、特に mRNA、ゲノム核酸又は cDNA と相互作用することを特徴とする、請求項 50 に記載の使用。

【請求項 53】

配列番号 1、2、7、10、11 及び 12 からなる群から選択される配列を有する核酸によりコードされるペプチド又はこれらの誘導体と相互作用する、及び / 又は配列番号 13 又は 15 に従ったポリペプチドと相互に作用する、及び / 又はこれらの特に天然相互作用パートナーと相互に作用するポリペプチドの、甲状腺機能障害及び / 又は甲状腺過形成及び / 又は甲状腺腫瘍を診断するための診断手段を開発又は製造するための、及び / 又は甲状腺機能障害及び / 又は甲状腺過形成及び / 又は甲状腺腫瘍を予防及び / 又は治療するための医薬を開発又は製造するための使用。

【請求項 54】

ポリペプチドが、抗体及び結合ポリペプチドからなる群から選択されることを特徴とする、請求項 53 に記載の使用。

【請求項 55】

配列番号 1、2、7、10、11 及び 12 からなる群から選択される配列を有する核酸によりコードされるポリペプチド又はこれらの誘導体と相互作用する、及び / 又は配列番号 13 又は 15 に従ったポリペプチドと相互作用する、及び / 又はこれらの特に天然相互作用パートナーと相互に作用する核酸の、甲状腺機能障害及び / 又は甲状腺過形成及び / 又は甲状腺腫瘍を診断するための診断手段を開発又は製造するための、及び / 又は甲状腺機能障害及び / 又は甲状腺過形成及び / 又は甲状腺腫瘍を予防及び / 又は治療するための医

薬を開発又は製造するための使用。

【請求項 56】

核酸が、アプタマー及びスピゲルマーからなる群から選択されることを特徴とする、請求項 55 に記載の使用。

【請求項 57】

配列番号 1、2、7、10、11 及び 12 からなる群から選択される配列を有する第二の核酸又はこれらの誘導体と相互作用する、及び / 又は配列番号 13 又は 15 に従った配列を有するポリペプチドの相互作用パートナーをコードする核酸と相互作用する第一の核酸の、甲状腺機能障害及び / 又は甲状腺過形成及び / 又は甲状腺腫瘍を予防及び / 又は治療するための医薬を開発又は製造するための使用。

【請求項 58】

相互作用する第一の核酸が、アンチセンスオリゴヌクレオチド、リボザイム及び / 又は RNA であることを特徴とする、請求項 57 に記載の使用。

【請求項 59】

第二の核酸が cDNA 又は mRNA であることを特徴とする、請求項 57 又は 58 に記載の使用。

【請求項 60】

請求項 49 ~ 59 のいずれか一項に記載の使用に係る群から選択される少なくとも一種の剤と、医薬として許容しうる少なくとも一種の担体とを含む、特に、甲状腺機能障害及び / 又は甲状腺過形成及び / 又は甲状腺腫瘍を予防及び / 又は治療するための医薬組成物。

【請求項 61】

請求項 49 ~ 59 のいずれか一項に記載の使用に係る少なくとも一種の剤を含む、甲状腺の状態を特徴付けるためのキット。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		Int. Application No. PCT/EP 02/04090
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 C07K14/47		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 C07K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	BELGE G ET AL: "Delineation of a 150-kb breakpoint cluster in benign thyroid tumors with 19q13.4 aberrations." CYTOGENETICS AND CELL GENETICS, vol. 93, no. 1-2, 2001, pages 48-51, XP002204613 ISSN: 0301-0171 the whole document	1-17, 20-24, 26-62
X	BELGE GAZANFER ET AL: "Breakpoints of 19q13 translocations of benign thyroid tumors map within a 400 kilobase region." GENES CHROMOSOMES & CANCER, vol. 20, no. 2, 1997, pages 201-203, XP002204604 ISSN: 1045-2257 abstract; figure 1; table 1 --- -/--	1-17, 20-24, 26-62
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another claim or other special reason (as specified) "O" document relating to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "A" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 4 July 2002		Date of mailing of the international search report 10.01.03
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 340-2040, Tx. 31 851 epo nl, Fax: (+31-70) 340-2016		Authorized officer Novak, S

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		In Application No PCT/EP 02/04090
C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	BELGE G ET AL: "FISH analyses of a newly established thyroid tumor cell line showing a t(1;19)(p35 or p36;q13) reveal that the breakpoint lies between 19q13.3-13.4 and 19q13.4." CYTOGENETICS AND CELL GENETICS, vol. 69, no. 3-4, 1995, pages 220-222, XP002204605 ISSN: 0301-0171 the whole document ---	1-17, 20-24, 26-62
X	WO 99 33982 A (CHIRON CORP ;HYSEQ INC (US)) 8 July 1999 (1999-07-08) the whole document ---	1-17, 20-24, 26-62
X	BELGE GAZANFER ET AL: "Cytogenetic investigations of 340 thyroid hyperplasias and adenomas revealing correlations between cytogenetic findings and histology." CANCER GENETICS AND CYTOGENETICS, vol. 101, no. 1, February 1998 (1998-02), pages 42-48, XP002204606 ISSN: 0165-4608 abstract; figures 1-4; table 1 ---	1-17, 20-24, 26-62
X	BELGE G. ET AL.: "Zytogenetische Veränderungen bei benignen Schilddrüsenhyperplasien und Adenomen korrelieren mit der Histologie" VERH. DTSCH. GES. PATH., vol. 81, 1997, pages 151-156, XP002204607 the whole document ---	1-17, 20-24, 26-62
X	CLOSS ELLEN I ET AL: "Human cationic amino acid transporters hCAT-1, hCAT-2A, and hCAT-2B: Three related carriers with distinct transport properties." BIOCHEMISTRY, vol. 36, no. 21, 1997, pages 6462-6468, XP002204608 ISSN: 0006-2960 abstract; figure 1; table 1 ---	1-17, 20-24, 26-62
X	HOSOKAWA HIROSHI ET AL: "Cloning and characterization of a brain-specific cationic amino acid transporter" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, AMERICAN SOCIETY OF BIOLOGICAL CHEMISTS, BALTIMORE, MD, US, vol. 272, no. 13, 1997, pages 8717-8722, XP002193512 ISSN: 0021-9258 abstract; figure 1 ---	1-17, 20-24, 26-62
-/--		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		In at Application No PCT/EP 02/04090
C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WANSCHURA SYLKE ET AL: "Mapping of the translocation breakpoints of primary pleomorphic adenomas and lipomas within a common region of chromosome 12." CANCER GENETICS AND CYTOGENETICS, vol. 86, no. 1, 1996, pages 39-45, XP002204609 ISSN: 0165-4608 abstract; figures 1-5; tables I,II,III ---	1-17, 20-24, 26-62
Y	BICHER ANNETTE ET AL: "Loss of heterozygosity in human ovarian cancer on chromosome 19q." GYNECOLOGIC ONCOLOGY, vol. 66, no. 1, 1997, pages 36-40, XP002204610 ISSN: 0090-8258 abstract; figures 1-3; tables I,II ---	1-17, 20-24, 26-62
Y	GUPTA RAJNISH K ET AL: "The t(14;18) chromosomal translocation and Bcl-2 protein expression in Hodgkin's disease." LEUKEMIA (BASINGSTOKE), vol. 8, no. 8, 1994, pages 1337-1341, XP002204611 ISSN: 0887-6924 the whole document ---	1-17, 20-24, 26-62
A	GEORGE M YOUSEF ET AL: "Prostate/KLK-L1 is a new member of the human kallikrein gene family, is expressed in prostate and breast tissues, and is hormonally regulated" CANCER RESEARCH, AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH, BALTIMORE, MD, US, vol. 59, no. 17, 1 September 1999 (1999-09-01), pages 4252-4256, XP002141958 ISSN: 0008-5472 ---	
A	ANTONINI P ET AL: "CYTOGENETIC ABNORMALITIES IN THYROID ADENOMAS" CANCER GENETICS AND CYTOGENETICS, vol. 52, no. 2, 1991, pages 157-164, XP002204612 ISSN: 0165-4608 -----	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/EP 02/04990
Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)		
This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:		
1.	<input type="checkbox"/>	Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2.	<input checked="" type="checkbox"/>	Claims Nos.: 18, 19, 36 because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically: see supplementary sheet (FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/210)
3.	<input type="checkbox"/>	Claims Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).
Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)		
This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:		
1.	<input type="checkbox"/>	As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2.	<input type="checkbox"/>	As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3.	<input type="checkbox"/>	As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4.	<input checked="" type="checkbox"/>	No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.: 1-17, 20-24, 26-62 (all partially)
Remark on Protest		
	<input type="checkbox"/>	The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
	<input type="checkbox"/>	No protest accompanied the payment of additional search fees.

International application No.

PCT/EP 02/04090

Continuation of Box I.2

Claims: 18, 19, 36

The current Claims 18, 19 and 36 relate to a disproportionately large number of possible compounds. In fact, they encompass so many alternatives, variables, possible permutations and/or restrictions that they appear unclear (and/or too broadly worded) (PCT Article 6) to the extent that it is impossible to conduct a meaningful search.

Therefore, the search was not carried out for these claims.

The current Claims 18 and 19 relate, moreover, to ribozymes characterised respectively by a desirable characteristic or property, namely that they are directed against, or in part comprise, certain nucleic acids.

The claims therefore encompass all products, etc. that have this characteristic or property, but the application provides support by the description (PCT Article 5) for only a limited number of such products, etc. In the present case, the claims lack the proper support and the application lacks the requisite disclosure to such an extent that it appears impossible to carry out a meaningful search covering the entire range of protection sought. Moreover, the claims also lack the requisite clarity (PCT Article 6) since they attempt to define the ribozymes in question by the result that they are intended to achieve. This lack of clarity too is such that it is impossible to carry out a meaningful search covering the entire range of protection sought.

The applicant is advised that claims or parts of claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established normally cannot be the subject of an international preliminary examination (PCT Rule 66.1(e)). In its capacity as International Preliminary Examining Authority the EPO generally will not carry out a preliminary examination for subjects that have not been searched. This also applies to cases where the claims were amended after receipt of the international search report (PCT Article 19) or where the applicant submits new claims in the course of the procedure under PCT Chapter II.

International application No.
PCT/EP 02/04090

The International Searching Authority has determined that this international application contains multiple (groups of) inventions, namely:

1. Ansprüche: 1-17, 20-24, 26-62 (all partially)

Sequences which display modified expression in Hyperplasia and/or tumors, encoding polynucleotides characterized by SEQ. ID.'s No. 1 and 2, polypeptides encoding such nucleotides, vectors, host cells, and kits comprising such molecules, and methods to use said polynucleotides.

2. Ansprüche: 1-17, 20-24, 26-62 (all partially)

Inventions II - XX:

Sequences which display modified expression in Hyperplasia and/or tumors, encoding polynucleotides characterized by SEQ. ID.'s No. 3-18, polypeptides encoding such nucleotides, vectors, host cells, and kits comprising such molecules, and methods to use said polynucleotides.

3. Anspruch : 25

Invention XXI:

A method for detection of genes responsible for the development of hyperplasia and/or tumors.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

information on patent family members

Int. Application No.
PCT/EP 02/04090

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9933982 A	08-07-1999	AU 2095599 A	19-07-1999
		EP 1190058 A	27-03-2002
		JP 2002500010 T	08-01-2002
		AU 4187499 A	29-11-1999
		EP 1053319 A	22-11-2000
		EP 1105474 A	13-06-2001
		JP 2002534055 T	15-10-2002
		JP 2002519000 T	02-07-2002
		WO 9938972 A	05-08-1999
		WO 9958675 A	18-11-1999
		AU 6263999 A	17-04-2000
		EP 1144636 A	17-10-2001
		WO 0018916 A	06-04-2000

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT		In nationales Aktenzeichen PCT/EP 02/04090
A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES IPK 7 C07K14/47		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK		
B. RECHERCHIERTE GEBIETE Recherchierte Mindestprüfstoß (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) IPK 7 C07K		
Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoß gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen		
Während der Internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)		
C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	BELGE G ET AL: "Delineation of a 150-kb breakpoint cluster in benign thyroid tumors with 19q13.4 aberrations." CYTOGENETICS AND CELL GENETICS, Bd. 93, Nr. 1-2, 2001, Seiten 48-51, XP002204613 ISSN: 0301-0171 das ganze Dokument	1-17, 20-24, 26-62
X	BELGE GAZANFER ET AL: "Breakpoints of 19q13 translocations of benign thyroid tumors map within a 400 kilobase region." GENES CHROMOSOMES & CANCER, Bd. 20, Nr. 2, 1997, Seiten 201-203, XP002204604 ISSN: 1045-2257 Zusammenfassung; Abbildung 1; Tabelle 1 -/--	1-17, 20-24, 26-62
<input checked="" type="checkbox"/> Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen <input checked="" type="checkbox"/> Siehe Anhang Patentfamilie		
* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen : "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonderes Bedürfnis anzusehen ist. "E" Älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist. "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt). "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht. "P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist. "T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist. "X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfindungsgemäßer Tätigkeit beruhend betrachtet werden. "Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfindungsgemäßer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist. "Z" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist.		
Datum des Abschlusses der Internationalen Recherche 4. Juli 2002		Abschließdatum des internationalen Recherchenberichts 4. Juli 02
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentkan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-2016		Bevollmächtigter Beauftragter Novak, S

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT		Int. nationales Aktenzeichen PCI/EP 02/04090
C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	BELGE G ET AL: "FISH analyses of a newly established thyroid tumor cell line showing a t(1;19)(p35 or p36;1;q13) reveal that the breakpoint lies between 19q13.3-13.4 and 19q13.4." CYTOGENETICS AND CELL GENETICS, Bd. 69, Nr. 3-4, 1995, Seiten 220-222, XP002204605 ISSN: 0301-0171 das ganze Dokument	1-17, 20-24, 26-62
X	WO 99 33982 A (CHIRON CORP ;HYSEQ INC (US)) 8. Juli 1999 (1999-07-08) das ganze Dokument	1-17, 20-24, 26-62
X	BELGE GAZANFER ET AL: "Cytogenetic investigations of 340 thyroid hyperplasias and adenomas revealing correlations between cytogenetic findings and histology." CANCER GENETICS AND CYTOGENETICS, Bd. 101, Nr. 1, Februar 1998 (1998-02), Seiten 42-48, XP002204606 ISSN: 0165-4608 Zusammenfassung; Abbildungen 1-4; Tabelle I	1-17, 20-24, 26-62
X	BELGE G. ET AL.: "Zytogenetische Veränderungen bei benignen Schilddrüsenhyperplasien und Adenomen korrelieren mit der Histologie" VERH. DTSCH. GES. PATH., Bd. 81, 1997, Seiten 151-156, XP002204607 das ganze Dokument	1-17, 20-24, 26-62
X	CLOSS ELLEN I ET AL: "Human cationic amino acid transporters hCAT-1, hCAT-2A, and hCAT-2B: Three related carriers with distinct transport properties." BIOCHEMISTRY, Bd. 36, Nr. 21, 1997, Seiten 6462-6468, XP002204608 ISSN: 0006-2960 Zusammenfassung; Abbildung 1; Tabelle 1 -/-	1-17, 20-24, 26-62

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT		in nationales Aktenzeichen Pl. I/EP 02/04090
6.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	HOSOKAWA HIROSHI ET AL: "Cloning and characterization of a brain-specific cationic amino acid transporter" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, AMERICAN SOCIETY OF BIOLOGICAL CHEMISTS, BALTIMORE, MD, US, Bd. 272, Nr. 13, 1997, Seiten 8717-8722, XP002193512 ISSN: 0021-9258 Zusammenfassung; Abbildung 1 ---	1-17, 20-24, 26-62
Y	WANSCHURA SYLKE ET AL: "Mapping of the translocation breakpoints of primary pleomorphic adenomas and lipomas within a common region of chromosome 12." CANCER GENETICS AND CYTOGENETICS, Bd. 86, Nr. 1, 1996, Seiten 39-45, XP002204609 ISSN: 0165-4608 Zusammenfassung; Abbildungen 1-5; Tabellen I,II,III ---	1-17, 20-24, 26-62
Y	BICHER ANNETTE ET AL: "Loss of heterozygosity in human ovarian cancer on chromosome 19q." GYNECOLOGIC ONCOLOGY, Bd. 66, Nr. 1, 1997, Seiten 36-40, XP002204610 ISSN: 0090-8258 Zusammenfassung; Abbildungen 1-3; Tabellen I,II ---	1-17, 20-24, 26-62
Y	GUPTA RAJNISH K ET AL: "The t(14:18) chromosomal translocation and Bcl-2 protein expression in Hodgkin's disease." LEUKEMIA (BASINGSTOKE), Bd. 8, Nr. 8, 1994, Seiten 1337-1341, XP002204611 ISSN: 0887-6924 das ganze Dokument ---	1-17, 20-24, 26-62
A	GEORGE M YOUSEF ET AL: "Prostate/CLK-L1 is a new member of the human Kallikrein gene family, is expressed in prostate and breast tissues, and is hormonally regulated" CANCER RESEARCH, AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH, BALTIMORE, MD, US, Bd. 59, Nr. 17, 1. September 1999 (1999-09-01), Seiten 4252-4256, XP002141958 ISSN: 0008-5472 --- -/--	

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT		In <input type="checkbox"/> ee Aktenzeichen PCT/EP 02/04090
6. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	ANTONINI P ET AL: "CYTOGENETIC ABNORMALITIES IN THYROID ADENOMAS" CANCER GENETICS AND CYTOGENETICS, Bd. 52, Nr. 2, 1991, Seiten 157-164, XP002204612 ISSN: 0165-4608	

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT		nationales Aktenzeichen PCT/EP 02/04090
Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)		
Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:		
1.	<input type="checkbox"/> Ansprüche Nr. weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich	
2.	<input checked="" type="checkbox"/> Ansprüche Nr. 18, 19, 36 weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich siehe Zusatzblatt WEITERE ANGABEN PCT/ISA/210	
3.	<input type="checkbox"/> Ansprüche Nr. weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.	
Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)		
Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:		
1.	<input type="checkbox"/> Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.	
2.	<input type="checkbox"/> Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden könnte, der eine zusätzliche Recherchengebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.	
3.	<input type="checkbox"/> Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.	
4.	<input checked="" type="checkbox"/> Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen an- teilst: 1-17, 20-24, 26-62 (all partially)	
Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs		
<input type="checkbox"/> Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.		
<input type="checkbox"/> Die Zahlung zusätzlicher Recherchengebühren erfolgte ohne Widerspruch.		

Internationales Aktenzeichen PCT/EP 02 04090

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Fortsetzung von Feld I.2

Ansprüche Nr.: 18,19,36

Die geltenden Patentansprüche 18,19, und 36 beziehen sich auf eine unverhältnismäßig große Zahl möglicher Verbindungen. In der Tat umfassen sie so viele Wahlmöglichkeiten, Veränderliche, mögliche Permutationen und/oder Einschränkungen, daß sie im Sinne von Art. 6 PCT in einem solchen Maße unklar (und/oder zu weitläufig gefasst) erscheinen, als daß sie eine sinnvolle Recherche ermöglichen.

Daher wurde die Recherche für diese Ansprüche nicht durchgeführt.

Die geltenden Patentansprüche 18, und 19 beziehen sich ausserdem auf Ribozyme, jeweils charakterisiert durch eine erstrebenswerte Eigenheit oder Eigenschaft, nämlich dass sie gegen bestimmte Nukleinsäuren gerichtet sind, bzw. teilweise umfassen.

Die Patentansprüche umfassen daher alle Produkte etc., die diese Eigenheit oder Eigenschaft aufweisen, wohingegen die Patentanmeldung Stütze durch die Beschreibung im Sinne von Art. 5 PCT nur für eine begrenzte Zahl solcher Produkte etc. liefert. Im vorliegenden Fall fehlen den Patentansprüchen die entsprechende Stütze bzw. der Patentanmeldung die nötige Offenbarung in einem solchen Maße, daß eine sinnvolle Recherche über den gesamten erstrebten Schutzbereich unmöglich erscheint. Desungeachtet fehlt den Patentansprüchen auch die in Art. 6 PCT geforderte Klarheit, nachdem in ihnen versucht wird, die besagten Ribozyme über das jeweils erstrebte Ergebnis zu definieren. Auch dieser Mangel an Klarheit ist dergestalt, daß er eine sinnvolle Recherche über den gesamten erstrebten Schutzbereich unmöglich macht.

Der Anmelder wird darauf hingewiesen, daß Patentansprüche, oder Teile von Patentansprüchen, auf Erfindungen, für die kein internationaler Recherchenbericht erstellt wurde, normalerweise nicht Gegenstand einer internationalen vorläufigen Prüfung sein können (Regel 66.1(e) PCT). In seiner Eigenschaft als mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde wird das EPA also in der Regel keine vorläufige Prüfung für Gegenstände durchführen, zu denen keine Recherche vorliegt. Dies gilt auch für den Fall, daß die Patentansprüche nach Erhalt des internationalen Recherchenberichtes geändert wurden (Art. 19 PCT), oder für den Fall, daß der Anmelder im Zuge des Verfahrens gemäß Kapitel II PCT neue Patentansprüche vorlegt.

AUFFORDERUNG ZUR ZAHLUNG ZUSÄTZLICHER GEBÜHREN

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP 02/04090

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere (Gruppen von) Erfindungen enthält, nämlich:

1. Ansprüche: 1-17, 20-24, 26-62 (all partially)

Sequences which display modified expression in Hyperplasia and/or tumors, encoding polynucleotides characterized by SEQ. ID.'s No. 1 and 2, polypeptides encoding such nucleotides, vectors, host cells, and kits comprising such molecules, and methods to use said polynucleotides.

2. Ansprüche: 1-17, 20-24, 26-62 (all partially)

Inventions II - XX:

Sequences which display modified expression in Hyperplasia and/or tumors, encoding polynucleotides characterized by SEQ. ID.'s No. 3-18, polypeptides encoding such nucleotides, vectors, host cells, and kits comprising such molecules, and methods to use said polynucleotides.

3. Anspruch : 25

Invention XXI:

A method for detection of genes responsible for the development of hyperplasia and/or tumors.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 02/04090

Im Recherchenbericht angeführtes Patentedokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9933982 A	08-07-1999	AU 2095599 A	19-07-1999
		EP 1190058 A	27-03-2002
		JP 2002500010 T	08-01-2002
		AU 4187499 A	29-11-1999
		EP 1053319 A	22-11-2000
		EP 1105474 A	13-06-2001
		JP 2002534055 T	15-10-2002
		JP 2002519000 T	02-07-2002
		WO 9938972 A	05-08-1999
		WO 9958675 A	18-11-1999
		AU 6263999 A	17-04-2000
		EP 1144636 A	17-10-2001
		WO 0018916 A	06-04-2000

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 48/00	A 6 1 K 48/00	4 C 0 8 5
A 6 1 P 5/00	A 6 1 P 5/00	4 C 0 8 6
A 6 1 P 5/14	A 6 1 P 5/14	4 H 0 4 5
A 6 1 P 35/00	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 43/00	A 6 1 P 43/00	1 2 1
C 0 7 K 14/47	C 0 7 K 14/47	
C 0 7 K 16/18	C 0 7 K 16/18	
C 0 7 K 16/40	C 0 7 K 16/40	
C 1 2 N 1/15	C 1 2 N 1/15	
C 1 2 N 1/19	C 1 2 N 1/19	
C 1 2 N 1/21	C 1 2 N 1/21	
C 1 2 N 5/10	C 1 2 N 9/00	
C 1 2 N 9/00	C 1 2 N 9/12	
C 1 2 N 9/12	G 0 1 N 33/15	Z
G 0 1 N 33/15	G 0 1 N 33/50	Z
G 0 1 N 33/50	G 0 1 N 33/53	D
G 0 1 N 33/53	G 0 1 N 33/53	M
G 0 1 N 33/566	G 0 1 N 33/566	
	C 1 2 N 5/00	A
	A 6 1 K 37/02	

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT, BE,CH,CY,DE,DK,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN, TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,ES,FI,GB,GD,GE, GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NO,NZ,OM,PH,P L,PT,RO,RU,SD,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VN,YU,ZA,ZM,ZW

Fターム(参考) 4B065 AA93Y AB01 AC14 BA02 CA24 CA25 CA31 CA44 CA46
 4C084 AA02 AA07 AA13 AA17 BA01 BA08 BA22 BA23 DC50 MA02
 NA05 NA14 ZB261 ZB262 ZC061 ZC062 ZC751
 4C085 AA13 AA14
 4C086 AA01 AA02 AA03 EA16 MA01 MA04 NA05 NA14 ZB26 ZC02
 ZC06 ZC75
 4H045 AA10 AA11 BA10 CA40 DA89 EA28 EA51 FA74