

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 1 部門第 1 区分

【発行日】平成 17 年 12 月 22 日 (2005.12.22)

【公表番号】特表 2004-507204 (P2004-507204A)

【公表日】平成 16 年 3 月 11 日 (2004.3.11)

【年通号数】公開・登録公報 2004-010

【出願番号】特願 2001-520864 (P2001-520864)

【国際特許分類第 7 版】

C 1 2 N 15/09
 A 6 1 P 19/02
 A 6 1 P 43/00
 C 0 7 K 14/47
 C 0 7 K 16/18
 C 0 7 K 16/46
 C 0 7 K 19/00
 C 1 2 N 1/19
 C 1 2 N 1/21
 C 1 2 N 5/10
 C 1 2 P 21/02
 C 1 2 Q 1/02
 C 1 2 Q 1/68
 G 0 1 N 33/15
 G 0 1 N 33/50
 G 0 1 N 33/53
 // A 6 1 K 38/00
 C 1 2 P 21/08
 (C 1 2 N 5/10
 C 1 2 R 1:91)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A
 A 6 1 P 19/02
 A 6 1 P 43/00 1 1 1
 C 0 7 K 14/47
 C 0 7 K 16/18
 C 0 7 K 16/46
 C 0 7 K 19/00
 C 1 2 N 1/19
 C 1 2 N 1/21
 C 1 2 P 21/02 C
 C 1 2 Q 1/02
 C 1 2 Q 1/68 A
 G 0 1 N 33/15 Z
 G 0 1 N 33/50 Z
 G 0 1 N 33/53 D
 C 1 2 N 5/00 B
 A 6 1 K 37/02
 C 1 2 P 21/08
 C 1 2 N 5/00 B
 C 1 2 R 1:91

【誤訳訂正書】

【提出日】平成17年2月28日(2005.2.28)

【誤訳訂正1】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】特許請求の範囲

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

以下の(a)又は(b)のヌクレオチド配列を有する単離された核酸：

(a) 配列番号：14に示されているアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列；及び
(b) (a)のヌクレオチドと配列と相補的なヌクレオチド配列からなる核酸とストリン
ジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ正常な皮膚と比べてメラノーマ腫瘍において
過剰発現しているポリペプチドをコードするヌクレオチド配列。

【請求項2】

以下の(a)又は(b)のヌクレオチド配列を有する単離された核酸：

(a) 配列番号：13に示されているヌクレオチド配列；及び
(b) (a)のヌクレオチドと配列と相補的なヌクレオチド配列からなる核酸とストリン
ジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ正常な皮膚と比べてメラノーマ腫瘍において
過剰発現しているポリペプチドをコードするヌクレオチド配列。

【請求項3】

以下の(a)又は(b)のヌクレオチド配列を有する単離された核酸：

(a) 配列番号：13に示されているヌクレオチド配列の完全長コード化配列；及び
(b) (a)のヌクレオチドと配列と相補的なヌクレオチド配列からなる核酸とストリン
ジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ正常な皮膚と比べてメラノーマ腫瘍において
過剰発現しているポリペプチドをコードする完全長コード化配列。

【請求項4】

以下の(a)又は(b)のヌクレオチド配列を有する単離された核酸：

(a) ATCC寄託番号203579で寄託されているDNAの完全長コード化配列；及
び
(b) (a)のヌクレオチドと配列と相補的なヌクレオチド配列からなる核酸とストリン
ジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ正常な皮膚と比べてメラノーマ腫瘍において
過剰発現しているポリペプチドをコードする完全長コード化配列。

【請求項5】

以下の(a)又は(b)のヌクレオチド配列を有する単離された核酸：

(a) 配列番号：14に示されているポリペプチドであって、シグナルペプチドを欠くも
のをコードするヌクレオチド配列；及び
(b) (a)のヌクレオチドと配列と相補的なヌクレオチド配列からなる核酸とストリン
ジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ正常な皮膚と比べてメラノーマ腫瘍において
過剰発現しているポリペプチドコードするヌクレオチド配列。

【請求項6】

以下の(a)又は(b)のヌクレオチド配列を有する単離された核酸：

(a) 配列番号：14に示されているポリペプチドの細胞外ドメインであって、シグナル
ペプチドを有するものをコードするヌクレオチド配列；及び
(b) (a)のヌクレオチドと配列と相補的なヌクレオチド配列からなる核酸とストリン
ジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ正常な皮膚と比べてメラノーマ腫瘍において
過剰発現しているポリペプチドコードするヌクレオチド配列。

【請求項7】

以下の(a)又は(b)のヌクレオチド配列を有する単離された核酸：

(a) 配列番号：14に示されているポリペプチドの細胞外ドメインであって、シグナルペプチドを欠くものをコードするヌクレオチド配列；及び

(b) (a)のヌクレオチドと配列と相補的なヌクレオチド配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ正常な皮膚と比べてメラノーマ腫瘍において過剰発現しているポリペプチドコードするヌクレオチド配列。

【請求項8】

配列番号：14に示されているアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列を含んでなる、請求項1に記載の単離された核酸。

【請求項9】

配列番号：13に示されているヌクレオチド配列を含んでなる、請求項2に記載の単離された核酸。

【請求項10】

配列番号：13に示されているヌクレオチド配列の完全長コード化配列を含んでなる、請求項3に記載の単離された核酸。

【請求項11】

A T C C 寄託番号20357で寄託されているDNAの完全長コード化配列を含んでなる、請求項4に記載の単離された核酸。

【請求項12】

配列番号：14に示されているポリペプチドであって、そのシグナルペプチドを欠くものをコードするヌクレオチド配列を含んでなる、請求項5に記載の単離された核酸。

【請求項13】

配列番号：14に示されているポリペプチドの細胞外ドメインであって、そのシグナルペプチドを有するものをコードするヌクレオチド配列を含んでなる、請求項6に記載の単離された核酸。

【請求項14】

配列番号：14に示されているポリペプチドの細胞外ドメインであって、そのシグナルペプチドを欠くものをコードするヌクレオチド配列を含んでなる、請求項7に記載の単離された核酸。

【請求項15】

請求項1ないし14の何れか1項の核酸を含んでなるベクター。

【請求項16】

請求項15のベクターで形質転換された宿主細胞によって認識されるコントロール配列と、作用可能に連結した請求項15のベクター。

【請求項17】

請求項15のベクターを含んでなる宿主細胞。

【請求項18】

前記細胞がCHO細胞である、請求項17の宿主細胞。

【請求項19】

前記細胞が大腸菌である、請求項17の宿主細胞。

【請求項20】

前記細胞が酵母菌である、請求項17の宿主細胞。

【請求項21】

請求項15のベクターによってコードされているポリペプチドの発現に適した条件下で請求項17の宿主細胞を培養し、該細胞培養より前記ポリペプチドを回収することを含んでなる、前記ポリペプチドを産生させる方法。

【請求項22】

以下の(a)又は(b)のアミノ酸配列を有する単離されたポリペプチド：

(a) 配列番号：14に示されているポリペプチドのアミノ酸配列；及び

(b) (a)のアミノ酸配列において1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列であって、かつ正常な皮膚と比べてメラノーマ腫瘍において過剰発

現しているポリペプチドのアミノ酸配列。

【請求項 23】

以下の (a) 又は (b) のアミノ酸配列を有する単離されたポリペプチド：

(a) ATCC 寄託番号 203579 で寄託された DNA の完全長コード化配列によってコードされているアミノ酸配列；及び

(b) (a) のアミノ酸配列において 1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列であって、かつ正常な皮膚と比べてメラノーマ腫瘍において過剰発現しているポリペプチドのアミノ酸配列。

【請求項 24】

以下の (a) 又は (b) のアミノ酸配列を有する単離されたポリペプチド：

(a) 配列番号：14 に示されているポリペプチドであって、シグナル配列を欠くもののアミノ酸配列；及び

(b) (a) のアミノ酸配列において 1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列であって、かつ正常な皮膚と比べてメラノーマ腫瘍において過剰発現しているポリペプチドのアミノ酸配列。

【請求項 25】

以下の (a) 又は (b) のアミノ酸配列を有する単離されたポリペプチド：

(a) 配列番号：14 に示されているポリペプチドの細胞外ドメインであって、シグナル配列を有するもののアミノ酸配列；及び

(b) (a) のアミノ酸配列において 1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列であって、かつ正常な皮膚と比べてメラノーマ腫瘍において過剰発現しているポリペプチドのアミノ酸配列。

【請求項 26】

以下の (a) 又は (b) のアミノ酸配列を有する単離されたポリペプチド：

(a) 配列番号：14 に示されているポリペプチドの細胞外ドメインであって、シグナル配列を欠くもののアミノ酸配列；及び

(b) (a) のアミノ酸配列において 1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列であって、かつ正常な皮膚と比べてメラノーマ腫瘍において過剰発現しているポリペプチドのアミノ酸配列。

【請求項 27】

配列番号：14 に示されているアミノ酸配列を含んでなる、請求項 22 に記載の単離されたポリペプチド。

【請求項 28】

ATCC 寄託番号 20357 で寄託されている DNA の完全長コード化配列によってコードされているアミノ酸配列を含んでなる、請求項 23 に記載の単離された核酸。

【請求項 29】

配列番号：14 に示されているポリペプチドのアミノ酸配列であって、シグナルペプチドを欠くものを含んでなる、請求項 24 に記載の単離されたポリペプチド。

【請求項 30】

配列番号：14 に示されているポリペプチドの細胞外ドメインのアミノ酸配列であって、シグナルペプチドを有するものを含んでなる、請求項 25 に記載の単離されたポリペプチド。

【請求項 31】

配列番号：14 に示されているポリペプチドの細胞外ドメインのアミノ酸配列であって、シグナルペプチドを欠くものを含んでなる、請求項 26 に記載の単離されたポリペプチド。

【請求項 32】

異種アミノ酸配列と融合した請求項 22 ないし 31 の何れか 1 項に記載のポリペプチドを含んでなる、キメラ分子。

【請求項 33】

前記異種アミノ酸配列がエピトープタグである、請求項 3 2 のキメラ分子。

【請求項 3 4】

前記異種アミノ酸配列が免疫グロブリンの F c 領域である、請求項 3 2 のキメラ分子。

【請求項 3 5】

請求項 2 2 ないし 3 1 の何れか 1 項に記載のポリペプチドと特異的に結合する抗体。

【請求項 3 6】

前記抗体がモノクローナル抗体、ヒト化抗体、又は、一本鎖抗体である、請求項 3 5 の抗体。

【誤訳訂正 2】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0 0 0 4

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0 0 0 4】

(発明の概要)

一実施態様では、本発明は、PROポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含んでなる単離された核酸分子を提供する。

一側面では、単離された核酸分子は、(a)ここに開示された全長アミノ酸配列、ここに開示されたシグナルペプチドを欠くアミノ酸配列、シグナルペプチドを伴うか伴わないここに開示した膜貫通タンパク質の細胞外ドメイン又はここに開示された全長アミノ酸配列の任意の他の特に定められた断片を有するPROポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b)(a)のDNA分子の相補鎖に対して、少なくとも約80%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約81%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約82%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約83%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約84%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約85%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約86%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約87%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約88%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約89%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約90%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約91%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約92%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約93%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約94%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約95%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約96%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約97%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約98%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約99%の核酸配列同一性を有するヌクレオチド配列を含む。

【誤訳訂正 3】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0 0 0 5

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0 0 0 5】

他の側面では、単離された核酸分子は、(a)ここに開示された完全長PROポリペプチドcDNAのコード配列、ここに開示されたシグナルペプチドを欠くPROポリペプチドDNAのコード配列、又はシグナルペプチドを伴うか伴わないここに開示した膜貫通PROポリペプチドの細胞外ドメインのコード配列又はここに開示された全長アミノ酸配列の任意の他の特に定められた断片のコード配列を含むDNA分子、又は(b)(a)のDNA分子の相補鎖に対して、少なくとも約80%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約81%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約82%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約83%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約84%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約85%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約86%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約87%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約88%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約89%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約9

0 %の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約91 %の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約92 %の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約93 %の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約94 %の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約95 %の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約96 %の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約97 %の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約98 %の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約99 %の核酸配列同一性を有しているヌクレオチド配列を含んでなる。

【誤訳訂正4】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0006

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0006】

さらなる側面では、本発明は、(a)ここに開示されたATTCに寄託している任意のヒトタンパク質cDNAによってコードされている同じ成熟ポリペプチドをコードするDNA分子、又は(b)(a)のDNA分子の相補鎖に対して、少なくとも約80 %の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約81 %の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約82 %の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約83 %の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約84 %の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約85 %の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約86 %の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約87 %の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約88 %の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約89 %の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約90 %の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約91 %の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約92 %の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約93 %の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約94 %の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約95 %の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約96 %の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約97 %の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約98 %の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約99 %の核酸配列同一性を有しているヌクレオチド配列を含んでなる単離された核酸分子に関する。

【誤訳訂正5】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0008

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0008】

他の実施態様はPROポリペプチドコード化配列の断片、又はその相補鎖に向けられ、それらは、例えば、場合によっては抗-PRO抗体に対する結合部位を含むポリペプチドをコードするPROポリペプチドのコード化断片のハイブリダイゼーションプローブとして、又はアンチセンスオリゴヌクレオチドプローブとしての用途が見いだされる。このような核酸断片は、通常は少なくとも約20ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約30ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約40ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約50ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約60ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約70ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約80ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約90ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約100ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約110ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約120ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約130ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約140ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約150ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約160ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約170ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約180ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約190ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約200ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約250ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約300ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約350ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約400ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約450ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約500ヌクレオ

チド長、あるいは少なくとも約 600ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 700ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 800ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 900ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 1000ヌクレオチド長であり、ここで「約」という語の内容は参照する長さのプラス又はマイナス 10%のヌクレオチド配列長を指すことを意味する。PROポリペプチドコード化ヌクレオチド配列の新規な断片は、多くの良く知られた配列アラインメントプログラムの任意のものを用いてPROポリペプチドコード化ヌクレオチド配列と他の公知のヌクレオチド配列とを整列させ、いずれのPROポリペプチドコード化ヌクレオチド配列断片が新規であるかを決定することにより、日常的な手法で同定してもよい。このようなPROポリペプチドコード化ヌクレオチド配列は、全てここで考慮される。また、これらのヌクレオチド分子断片、好ましくは抗-PRO抗体に対する結合部位を含むPROポリペプチド断片によってコードされるPROポリペプチド断片も考慮される。

【誤訳訂正 6】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0032

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0032】

他の実施態様では、PRO変異体ポリペプチドヌクレオチドは、活性PROポリペプチドをコードし、好ましくはストリンジェントなハイブリダイゼーション及び洗浄条件下で、ここに開示する全長PROポリペプチドをコードするヌクレオチド配列にハイブリダイゼーションする核酸分子である。PRO変異体ポリペプチドは、PRO変異体ポリヌクレオチドにコードされるものであってもよい。

「単離された」とは、ここで開示された種々のポリペプチドを記述するために使用するときは、その自然環境の成分から同定され分離され及び/又は回収されたポリペプチドを意味する。その自然環境の汚染成分とは、そのポリペプチドの診断又は治療への使用を典型的には妨害する物質であり、酵素、ホルモン、及び他のタンパク質様又は非タンパク質様溶質が含まれる。好ましい実施態様において、ポリペプチドは、(1)スピニングカップシークエネーターを使用することにより、少なくとも15残基のN末端あるいは内部アミノ酸配列を得るのに十分なほど、あるいは、(2)クーマシーブルーあるいは好ましくは銀染色を用いた非還元あるいは還元条件下でのSDS-PAGEによる均一性まで精製される。単離されたポリペプチドには、PROポリペプチドの自然環境の少なくとも1つの成分が存在しないため、組換え細胞内のインサイツのタンパク質が含まれる。しかしながら、通常は、単離されたポリペプチドは少なくとも1つの精製工程により調製される。

【誤訳訂正 7】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0035

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0035】

ハイブリダイゼーション反応の「ストリンジェンシー」は、当業者によって容易に決定され、一般的にプローブ長、洗浄温度、及び塩濃度に依存する経験的な計算である。一般に、プローブが長くなると適切なアニーリングのための温度が高くなり、プローブが短くなると温度は低くなる。ハイブリダイゼーションは、一般的に、相補的鎖がその融点に近いがそれより低い環境に存在する場合における変性DNAの再アニールする能力に依存する。プローブとハイブリダイゼーション可能な配列との間の所望の相同性の程度が高くなると、使用できる相対温度が高くなる。その結果、より高い相対温度は、反応条件をよりストリンジェントにするが、低い温度はストリンジェンシーを低下させる。さらに、ストリンジェンシーは塩濃度に逆比例する。ハイブリダイゼーション反応のストリンジェンシーの更なる詳細及び説明は、Ausubelら、Current Protocols in Molecular Biology, Wil

ey Interscience Publishers, (1995)を参照のこと。

【誤訳訂正 8】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0036

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0036】

ここで定義される「ストリンジェントな条件」又は「高度にストリンジェントな条件」は、(1)洗浄のために低イオン強度及び高温、例えば、50において0.015Mの塩化ナトリウム/0.0015Mのクエン酸ナトリウム/0.1%のドデシル硫酸ナトリウムを用いるもの；(2)ハイブリダイゼーション中にホルムアミド等の変性剤、例えば、42において50%(v/v)ホルムアミドと0.1%ウシ血清アルブミン/0.1%フィコール/0.1%のポリビニルピロリドン/50mMのpH6.5のリン酸ナトリウムバッファー、及び750mMの塩化ナトリウム、75mMクエン酸ナトリウムを用いるもの；(3)42における50%ホルムアミド、5xSSC(0.75MのNaCl、0.075Mのクエン酸ナトリウム)、50mMのリン酸ナトリウム(pH6.8)、0.1%のピロリン酸ナトリウム、5xデンハード液、超音波処理サケ精子DNA(50µg/ml)、0.1%SDS、及び10%のデキストラン硫酸と、42における0.2xSSC(塩化ナトリウム/クエン酸ナトリウム)中の洗浄及び55での50%ホルムアミド、次いで55におけるEDTAを含む0.1xSSCからなる高度にストリンジェントな洗浄を用いるものによって同定される。

【誤訳訂正 9】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0037

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0037】

「中程度にストリンジェントな条件」は、Sambrookら, Molecular Cloning: A Laboratory Manual (New York: Cold Spring Harbor Press, 1989に記載されているように同定され、上記のストリンジェンシーより低い洗浄溶液及びハイブリダイゼーション条件(例えば、温度、イオン強度及び%SDS)の使用を含む。中程度にストリンジェントな条件は、20%ホルムアミド、5xSSC(150mMのNaCl、15mMのクエン酸三ナトリウム)、50mMリン酸ナトリウム(pH7.6)、5xデンハード液、10%デキストラン硫酸、及び20mg/mLの変性切断サケ精子DNAを含む溶液中の37での終夜インキュベーション、次いで1xSSC中37-50でのフィルターの洗浄といった条件である。当業者であれば、プローブ長などの因子に適合させる必要に応じて、どのようにして温度、イオン強度等を調節するかを認識するであろう。

「エピトープタグ」なる用語は、ここで用いられるときは、「タグポリペプチド」に融合したPROポリペプチド、又はそれらのドメイン配列を含んでなるキメラポリペプチドを指す。タグポリペプチドは、その抗体が産生され得るエピトープ、又は幾つかの他の試薬によって同定できるエピトープを提供するに十分な数の残基を有しているが、その長さは対象とするPROポリペプチドの活性を阻害しないよう十分に短い。また、タグポリペプチドは、好ましくは、抗体が他のエピトープと実質的に交差反応をしないようかなり独特である。適切なタグポリペプチドは、一般に、少なくとも6のアミノ酸残基、通常は約8~約50のアミノ酸残基(好ましくは約10~約20の残基)を有する。

【誤訳訂正 10】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0046

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【 0 0 4 6 】

「標識」なる語は、ここで用いられる場合、抗体に直接又は間接的に結合させて「標識」抗体を生成する検出可能な化合物又は組成物を意味する。標識は、それ自身検出可能でもよく（例えば、放射性標識又は蛍光標識）、又は酵素標識の場合、検出可能な基質化合物又は組成物の化学変換を触媒してもよい。

「固相」とは、本発明の抗体がそれに付着することのできる非水性マトリクスを意味する。ここに意図する固相の例は、部分的又は全体的に、ガラス（例えば、孔制御ガラス）、多糖類（例えばアガロース）、ポリアクリルアミド、ポリスチレン、ポリビニルアルコール及びシリコンから形成されたものを含む。或る種の実施態様では、内容に応じて、固相はアッセイプレートのウェルを構成することができ；その他では精製カラム（例えばアフィニティクロマトグラフィーカラム）とすることもできる。また、この用語は、米国特許第 4, 275, 149 号に記載されたような、別個の粒子の不連続な固相も包含する。

「リボソーム」は、種々の型の脂質、リン脂質及び／又は界面活性剤からなる小型の小胞であり、哺乳動物への薬物（PROポリペプチド又はその抗体など）の輸送に有用である。リボソームの成分は、通常は生体膜の脂質配列に類似する二層形式に配列させる。

「小分子」とは、ここで、約 500 ダルトン未満の分子量を持つと定義される。

約 8 ～ 約 50 のアミノ酸残基（好ましくは約 10 ～ 約 20 の残基）を有する。

【 誤訳訂正 1 1 】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0068

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【 0 0 6 8 】

I I . 本発明の組成物と方法

A . 全長 PROポリペプチド

本発明は、本出願で PROポリペプチドと呼ばれるポリペプチドをコードする新規に同定され単離された核酸配列を提供する。特に下記の実施例でさらに詳細に説明するように、種々の PROポリペプチドをコードする cDNA が同定され単離された。別々の発現ラウンドで生成されたタンパク質には異なる PRO番号が与えられるが、UNQ番号は全ての与えられた DNA 及びコード化タンパク質に独特であり、変わることはないことを記しておく。しかしながら、単純化のために、本明細書において、ここに開示した完全長天然核酸分子にコードされるタンパク質並びに上記の PROの定義に含まれるさらなる天然相同体及び変異体は、それらの起源又は調製形式に関わらず、「PRO / 番号」で呼称する。

下記の実施例に開示するように、種々の cDNA クローンが ATCC に寄託されている。これらのクローンの正確なヌクレオチド配列は、この分野で日常的な方法を用いて寄託されたクローンを配列決定することにより容易に決定することができる。予測されるアミノ酸配列は、ヌクレオチド配列から常套的技量を用いて決定できる。ここに記載した PROポリペプチド及びコード化核酸について、本出願人は、現時点で入手可能な配列情報と最も良く一致するリーディングフレームであると考えられるものを同定した。

【 誤訳訂正 1 2 】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0084

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【 0 0 8 4 】

下記の実施例には、cDNA ライブラリのスクリーニング技術を記載している。プローブとして選択されたオリゴヌクレオチド配列は、十分な長さで、疑陽性が最小化されるよう十分に明瞭でなければならない。オリゴヌクレオチドは、スクリーニングされるライブ

ラリ内のDNAとのハイブリダイゼーション時に検出可能であるように標識されていることが好ましい。標識化の方法は当該分野において良く知られており、³²P標識されたATPのような放射線標識、ビオチン化あるいは酵素標識の使用が含まれる。中程度のストリンジェンシー及び高度のストリンジェンシーを含むハイブリダイゼーション条件は、上掲のSambrookら、に示されている。

このようなライブラースクリーニング法において同定された配列は、Genbankら、の公共データベース又は個人の配列データベースに寄託され公衆に利用可能とされている周知の配列と比較及びアラインメントすることができる。分子の決定された領域内又は全長に渡っての(アミノ酸又は核酸レベルのいずれかでの)配列同一性は、当該分野で知られた、及びここに記載した方法を用いて決定することができる。

タンパク質コード化配列を有する核酸は、初めてここで開示された推定アミノ酸配列を使用し、また必要ならば、cDNAに逆転写されていないmRNAの生成中間体及び先駆物質を検出する上掲のSambrookら、に記述されているような従来のプライマー伸展法を使用して選択されたcDNA又はゲノムライブラリをスクリーニングすることによって得られる。

【誤訳訂正 1 3】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0087

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0087】

ここに記載のベクターにDNAをクローニングあるいは発現するために適切な宿主細胞は、原核生物、酵母菌、又は高等真核生物細胞である。適切な原核生物は、限定するものではないが、真正細菌、例えばグラム陰性又はグラム陽性生物体、例えば大腸菌のような腸内細菌科を含む。種々の大腸菌株が公衆に利用可能であり、例えば、大腸菌K12株MM294(ATCC31,446);大腸菌X1776(ATCC31,537);大腸菌株W3110(ATCC27,325)及びK5772(ATCC53,635)である。他の好ましい原核動物宿主細胞は、大腸菌、例えば、*E. coli*、エンテロバクター、エルビニア(*Erwinia*)、クレブシエラ(*Klebsiella*)、プロテウス(*Proteus*)、サルモネラ、例えば、ネズミチフス菌、セラチア、例えば、セラチア・マルセサンス(*Serratia marcescans*)、及び赤痢菌、並びに桿菌、例えばバチルス・ブチリス(*B. subtilis*)及びバチルス・リチェニフォルミス(*B. licheniformis*) (例えば、1989年4月12日発行のDD266,710に記載されたバチルス・リチェニフォルミス41P)、シュードモナス、例えば緑膿菌及びストレプトマイセスなどの腸内細菌科を含む。これらの例は限定ではなく例示である。株W3110は、組換えDNA生産発行のための共通の宿主株であるので一つの特に好ましい宿主又は親宿主である。好ましくは、宿主細胞は最小量のタンパク質分解酵素を分泌する。例えば、株W3110は、細胞に外来のタンパク質をコードする遺伝子における遺伝子変異をするように修飾してもよく、そのような宿主の例としては、完全な遺伝子型tonAを有する大腸菌W3110株1A2;完全な遺伝子型tonA ptr3を有する大腸菌W3110株9E4;完全な遺伝子型tonA prt3 phoA E15 (argF-lac)169 degP ompT kan^rを有する大腸菌W3110株27C7(ATCC 55,244);完全な遺伝子型tonA ptr3 phoA E15 (algF-lac)169 degP ompT rbs7 ilvG kan^rを有する大腸菌W3110株37D6;非カナマイシン耐性degP欠失変異を持つ37D6株である大腸菌W3110株40B4;及び1990年8月7日発行米国特許第4,946,783号に開示された変異周辺質プロテアーゼを有する大腸菌株を含む。あるいは、クローニングのインビトロ法、例えばPCR又は他の核酸ポリメラーゼポリメラーゼ反応が好ましい。

【誤訳訂正 1 4】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】 0 0 8 8

【訂正方法】 変更

【訂正の内容】

【 0 0 8 8 】

原核生物に加えて、糸状菌又は酵母菌のような真核微生物は、P R Oポリペプチドコード化ベクターのための適切なクローニング又は発現宿主である。サッカロミセス・セレヴィシアは、通常用いられる下等真核生物宿主微生物である。他に、シゾサッカロミセス・プロンプ(*Schizosaccharomyces pombe*) (Beach及びNurse, Nature, 290: 140 [1981]; 1985年5月2日発行のE P 139, 383); クルベロミセス(*Kluveromyces*)宿主 (米国特許第4,943,529号; Fleerら, Bio/Technology, 9: 968-975 (1991))、例えばクルベロミセス・ラクチス(*K. lactis*) (MW98-8C, CBS683, CBS4574; Louvencourtら, J. Bacteriol. 154(2): 737-742 [1983])、クルベロミセス・フラギリリス(*K. fragilis*) (A T C C 12, 424)、クルベロミセス・ブルガリクス(*K. bulgaricus*) (A T C C 16, 045)、クルベロミセス・ウィケラミイ(*K. wickerhamii*) (A T C C 24, 178)、クルベロミセス・ワルチイ(*K. waltii*) (A T C C 56, 500)、クルベロミセス・ドロソフィラルム(*K. drosophilum*) (A T C C 36, 906; Van den Bergら, Bio/Technology, 8: 135 (1990))、クルベロミセス・テモトレランス(*K. thermotolerans*)及びクルベロミセス・マルキシアナス(*K. marxianus*); ヤロウィア(*Yarrowia*) (E P 402, 226); ピチア・パストリス(*Pichia pastoris*) (E P 183, 070; Sreekrishnaら, J. Basic Microbiol, 28: 265-278 [1988]); カンジダ; トリコデルマ・レーシア(*Trichoderma reesia*) (E P 244, 234); アカパンカビ (Caseら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 76: 5259-5263 [1979]); シュワニオマイセス(*Schwannomyces*)、例えばシュワニオマイセス・オクシデンタリス(*Schwannomyces occidentalis*) (1990年10月31日発行のE P 394, 538); 及び糸状真菌、例えば、ニューロスボラ、ペニシリウム、トリポクラジウム(*Tolypocladium*) (1991年1月10日発行のW O 91/00357); 及びコウジ菌、例えば偽巢性コウジ菌 (Ballanceら, Biochem. Biophys. Res. Commun., 112: 284-289 [1983]; Tilburnら, Gene, 26: 205-221 [1983]; Yeltonら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81: 1470-1474 [1984]) 及びクロカビ (Kelly及びHynes, EMBO J., 4: 475-479 [1985]) が含まれる。ここで好ましいメチロトロピック(C1化合物資化性、Methylotropic)酵母は、これらに限られないが、ハンセンラ(*Hansenula*)、カンジダ、クロエケラ(*Kloeckera*)、ピチア(*Pichia*)、サッカロミセス、トルロプシス(*Torulopsis*)、及びロドトルラ(*Rhodotorula*)からなる属から選択されるメタノールで成長可能な酵母を含む。この酵母の分類の例示である特定の種のリストは、C. Anthony, The Biochemistry of Methylotrophs, 269 (1982)に記載されている。

【誤訳訂正15】

【訂正対象書類名】 明細書

【訂正対象項目名】 0 0 9 2

【訂正方法】 変更

【訂正の内容】

【 0 0 9 2 】

発現及びクローニングベクターは共に1つ又は複数の選択された宿主細胞においてベクターの複製を可能にする核酸配列を含む。そのような配列は多くの細菌、酵母及びウイルスに対してよく知られている。プラスミドp B R 3 2 2に由来する複製開始点は大部分のグラム陰性細菌に好適であり、2 μ プラスミド開始点は酵母に適しており、様々なウイルス開始点(S V 4 0、ポリオーマ、アデノウイルス、V S V又はB P V)は哺乳動物細胞におけるクローニングベクターに有用である。

発現及びクローニングベクターは、典型的には、選べるマーカーとも称される選択遺伝子を含む。典型的な選択遺伝子は、(a)アンピシリン、ネオマイシン、メトトレキセートあるいはテトラサイクリンのような抗生物質あるいは他の毒素に耐性を与え、(b)栄養要求性欠陥を補い、又は(c)例えばパチルスのためのD-アラニンラセマーゼをコードする遺

伝子のような、複合培地から得られない重要な栄養素を供給するタンパク質をコードする。

【誤訳訂正 16】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0095

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0095】

哺乳動物の宿主細胞におけるベクターからのPROポリペプチド転写は、例えば、ポリオーマウイルス、伝染性上皮腫ウイルス(1989年7月5日公開のUK2, 211, 504)、アデノウイルス(例えばアデノウイルス2)、ウシ乳頭腫ウイルス、トリ肉腫ウイルス、サイトメガロウイルス、レトロウイルス、B型肝炎ウイルス及びサルウイルス40(SV40)のようなウイルスのゲノムから得られるプロモーター、異種性哺乳動物プロモーター、例えばアクチンプロモーター又は免疫グロブリンプロモーター、及び熱衝撃プロモーターから得られるプロモーターによって、このようなプロモーターが宿主細胞系に適合し得る限り制御される。

より高等の真核生物による所望のPROポリペプチドをコードするDNAの転写は、ベクター中にエンハンサー配列を挿入することによって増強され得る。エンハンサーは、通常は約10から300塩基対で、プロモーターに作用してその転写を増強するDNAのシス作動性エレメントである。哺乳動物遺伝子由来の多くのエンハンサー配列が現在知られている(グロビン、エラスターゼ、アルブミン、 α -フェトプロテイン及びインスリン)。しかしながら、典型的には、真核細胞ウイルス由来のエンハンサーが用いられるであろう。例としては、複製起点の後期側のSV40エンハンサー(100-270塩基対)、サイトメガロウイルス初期プロモーターエンハンサー、複製起点の後期側のポリオーマエンハンサー及びアデノウイルスエンハンサーが含まれる。エンハンサーは、PROコード化配列の5'又は3'位でベクター中にスプライシングされ得るが、好ましくはプロモーターから5'位に位置している。

【誤訳訂正 17】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0099

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0099】

E. PROの用途

PROをコードする核酸配列(又はそれらの相補鎖)は、ハイブリダイゼーションプローブとしての使用を含む分子生物学の分野において、染色体及び遺伝子マッピングにおいて、及びアンチセンスRNA及びDNAの生成において種々の用途を有している。また、PRO核酸も、ここに記載される組換え技術によるPROポリペプチドの調製に有用である。

【誤訳訂正 18】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0100

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0100】

完全長天然配列PRO遺伝子又はその一部は、完全長PROcDNAの単離又はここに開示したPRO配列に対して所望の配列同一性を持つ更に他の遺伝子(例えば、PROの天然発生変異体又は他の種からのPROをコードするもの)の単離のためのcDNAライブラリ用のハイブリダイゼーションプローブとして使用できる。場合によっては、プローブの長さは約20~約50塩基である。ハイブリダイゼーションプローブは、少なくとも

部分的に完全長天然ヌクレオチド配列の新規な領域から誘導してもよく、それらの領域は、過度の実験をすることなく、天然配列 P R O のプロモーター、エンハンサー成分及びイントロンを含むゲノム配列から誘導され得る。例えば、スクリーニング法は、P R O ポリペプチド遺伝子のコード化領域を周知の D N A 配列を用いて単離して約 40 塩基の選択されたプローブを合成することを含む。ハイブリダイゼーションプローブは、³²P 又は ³⁵S 等の放射性ヌクレオチド、又はアビディン/ビオチン結合系を介してプローブに結合したアルカリホスファターゼ等の酵素標識を含む種々の標識で標識されうる。本発明の P R O ポリペプチド遺伝子に相補的な配列を有する標識されたプローブは、ヒト c D N A、ゲノム D N A 又は m R N A のライブラリーをスクリーニングし、そのライブラリーの何れのメンバーがプローブにハイブッド形成するかを決定するのに使用できる。ハイブリダイゼーション技術は、以下の実施例において更に詳細に記載する。

【誤訳訂正 19】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0120

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0120】

他の潜在的な P R O ポリペプチドアンタゴニストは、アンチセンス技術を用いて調製されたアンチセンス R N A 又は D N A 作成物であり、例えば、アンチセンス R N A 又は D N A は、標的 m R N A にハイブリダイゼーションしてタンパク質翻訳を妨害することにより m R N A の翻訳を直接阻止するように作用する。アンチセンス技術は、トリプルヘリックス形成又はアンチセンス D N A 又は R N A を通して遺伝子発現を制御するのに使用でき、それらの方法はともに、ポリペプチドヌクレオチドの D N A 又は R N A への結合に基づく。例えば、ここでの成熟 P R O ポリペプチドをコードするポリペプチドヌクレオチド配列の 5'コード化部分は、約 10 から 40 塩基対長のアンチセンス R N A オリゴヌクレオチドの設計に使用される。D N A オリゴヌクレオチドは、転写に含まれる遺伝子の領域に相補的であるように設計され(トリプルヘリックス - Leeら, Nucl. Acid Res., 6: 3073 (1979); Cooneyら, Science, 241: 456 (1988); Dervanら, Science, 251: 1360 (1991)参照)、それにより P R O ポリペプチドの転写及び生成を防止する。アンチセンス R N A オリゴヌクレオチドはインピボで m R N A にハイブリダイゼーションして m R N A 分子の P R O ポリペプチドへの翻訳を阻止する(アンチセンス - Okano, Neurochem., 56: 560 (1991); Oligodeoxynucleotides as Antisense Inhibitors of Gene Expression (SRS Press: Boca Raton, FL, 1988))。上記のオリゴヌクレオチドは、細胞に輸送され、アンチセンス R N A 又は D N A をインピボで発現させて、P R O ポリペプチドの生産を阻害することもできる。アンチセンス D N A が用いられる場合、翻訳開始部位、例えば標的遺伝子ヌクレオチド配列の - 10 から + 10 位置の間から誘導されるオリゴデオキシリボヌクレオチドが好ましい。

【誤訳訂正 20】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0121

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0121】

潜在的アンタゴニストは、P R O ポリペプチドの活性部位、レセプター結合部位、又は成長因子又は他の関連結合部位に結合し、それにより P R O ポリペプチドの正常な生物学的活性を阻止する小分子を含む。小分子の例は、これらに限られないが、小型ペプチド又はペプチド様分子、好ましくは可溶性ペプチド、及び合成非ペプチド有機又は無機化合物を含む。

リボザイムは、R N A の特異的切断を触媒できる酵素的 R N A 分子である。リボザイムは、相補的標的 R N A への配列特異的ハイブリダイゼーション、次いでヌクレオチド鎖切

断的切断により作用する。潜在的RNA標的内の特異的リボザイム切断部位は、既知の技術で同定できる。更なる詳細は、例えば、Rossi, Current Biology 4: 469-471 (1994)及びPCT公報、番号WO 97 / 3 3 5 5 1 (1 9 9 7 年 9 月 1 8 日 公 開) を 参 照。

【誤訳訂正 2 1】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0 1 2 3

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0 1 2 3】

F . 抗 - P R O 抗体

本発明は、さらに抗 - P R O 抗体を提供するものである。抗体の例としては、ポリクローナル、モノクローナル、ヒト化、二重特異性及びヘテロ複合体抗体が含まれる。

【誤訳訂正 2 2】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0 1 2 4

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0 1 2 4】

1 . ポリクローナル抗体

抗 - P R O 抗体はポリクローナル抗体を含む。ポリクローナル抗体の調製方法は当業者に知られている。哺乳動物においてポリクローナル抗体は、例えば免疫化剤、及び所望するのであればアジュバントを、1つ又は複数回注射することで発生させることができる。典型的には、免疫化剤及び/又はアジュバントを複数回皮下又は腹腔内注射により、哺乳動物に注射する。免疫化剤は、P R O ポリペプチド又はその融合タンパク質を含みうる。免疫化剤を免疫化された哺乳動物において免疫原性が知られているタンパク質に結合させるのが有用である。このような免疫原タンパク質の例は、これらに限られないが、キーホールリンペットヘモシアニン、血清アルブミン、ウシサイログロブリン及び大豆トリプシンインヒビターが含まれる。使用され得るアジュバントの例には、フロイント完全アジュバント及びM P L - T D M アジュバント(モノホスホリル脂質A、合成トレハロースジコリノミコラート)が含まれる。免疫化プロトコールは、過度の実験なく当業者により選択されるであろう。

【誤訳訂正 2 3】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0 1 4 0

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0 1 4 0】

5 . ヘテロ複合体抗体

ヘテロ複合抗体もまた本発明の範囲に入る。ヘテロ複合抗体は、2つの共有結合した抗体からなる。このような抗体は、例えば、免疫系細胞を不要な細胞に対してターゲティングさせるため[米国特許第4,676,980号]及びH I V 感染の治療のために[WO 91/00360; WO 92/200373; EP 03089]提案されている。この抗体は、架橋剤に関連したものを含む合成タンパク化学における既知の方法を使用して、インビトロで調製することができると考えられる。例えば、ジスルフィド交換反応を使用するか又はチオエーテル結合を形成することにより、免疫毒素を作成することができる。この目的に対して好適な試薬の例には、イミノチオレート及びメチル-4-メルカプトブチリミデート、及び例えば米国特許第4,6767,980号に開示されたものが含まれる。

【誤訳訂正 2 4】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0 1 4 2

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0142】

7. 免疫複合体

また、本発明は、化学治療薬、毒素（例えば、細菌、真菌、植物又は動物由来の酵素活性毒素、又はその断片）などの細胞毒性薬、あるいは放射性同位体（即ち、放射性複合体）と結合している抗体を含む免疫複合体に関する。

このような免疫複合体の生成に有用な化学治療薬を上に記載した。用いることのできる酵素活性毒素及びその断片には、ジフテリアA鎖、ジフテリア毒素の非結合活性断片、（緑膿菌からの）外毒素A鎖、リシンA鎖、アブリンA鎖、モデクシン(modeccin)A鎖、アルファ-サルシン、アレウリテス・フォーディ(Aleurites fordii)タンパク質、ジアンチン(dianthin)タンパク質、フィトラカ・アメリカーナ(Phytolaca americana)タンパク質（P A P I、P A P I I、及びP A P - S）、モモルディカ・チャランチア(momordica charantia)インヒビター、クルシン(curcun)、クロチン(crotin)、サパオナリア・オフィシナリス(sapaonaria officinalis)インヒビター、ゲロニン(gelonin)、ミトゲリン(mitogel lin)、レストリクトシン(restrictocin)、フェノマイシン(phenomycin)、エノマイシン(enomycin)及びトリコテセン(tricothecene)が含まれる。放射性複合抗体の生成には、様々な放射性ヌクレオチドが利用可能である。例としては、²¹²Bi、¹³¹I、¹³¹In、⁹⁰Y及び¹⁸⁶Reが含まれる。

【誤訳訂正25】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0143

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0143】

抗体及び細胞毒性薬の複合体は、種々の二官能性タンパク質カップリング剤、例えば、N-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオール)プロピオネート(S P D P)、イミノチオラン(I T)、イミドエステルの二官能性誘導体(ジメチルアジピミデートH C L等)、活性エステル(ジスクシンイミジルスベレート等)、アルデヒド(グルタルアルデヒド等)、ビス-アジド化合物(ビス(p-アジドベンゾイル)ヘキサンジアミン等)、ビス-ジアゾニウム誘導体(ビス-(p-ジアゾニウムベンゾイル)-エチレンジアミン等)、ジイソシアネート(トリエン2, 6-ジイソシアネート等)、及びビス-活性フッ素化合物(1, 5-ジフルオロ-2, 4-ジニトロベンゼン等)を用いて作成できる。例えば、リシン免疫毒素は、Vitettaら, Science 238: 1098 (1987)に記載されているように調製することができる。カーボン-14-標識1-イソチオシアナトベンジル-3-メチルジエチレントリアミン五酢酸(M X -D T P A)は、放射性ヌクレオチドの抗体への結合させるのためのキレート剤の例である。W O 9 4 / 1 1 0 2 6 参照。

他の実施態様では、腫瘍の予備標的化で使用するために、抗体は「レセプター」(ストレプトアビジン等)に結合されてもよく、抗体-レセプター複合体は患者に投与され、次いで清澄化剤を用いて未結合複合体を循環から除去し、次に細胞毒性薬(例えば、放射性ヌクレオチド等)に結合させた「リガンド」(アビジン等)を投与する。

【誤訳訂正26】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0144

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0144】

8. 免疫リボソーム

また、ここに開示する抗体は、免疫リボソームとして調製してもよい。抗体を含むリボソームは、Epsteinら, Proc. Natl. acad. Sci. USA, 82: 3688 (1985); Hwangら, Proc.

natl. Acad. Sci. USA, 77: 4030 (1980); 及び米国特許第 4, 485, 045 号及び第 4, 544, 545 号に記載されたような、この分野で知られた方法で調製される。向上した循環時間を持つリボソームは、米国特許第 5, 013, 556 号に開示されている。

特に有用なリボソームは、ホスファチジルコリン、コレステロール及び PEG-誘導ホスファチジルエタノールアミン (PEG-PE) を含む脂質組成物での逆相蒸発法によって生成される。リボソームは、所定サイズのフィルターを通して押し出され、所望の径を有するリボソームが生成される。本発明の抗体の Fab' 断片は、Martinら, J. Biol. Chem. 257: 286-288 (1982)に記載されているように、ジスルフィド交換反応を介してリボソームに抱合され得る。化学治療薬 (ドキソルビシン等) は、場合によってはリボソーム内に包含される。Gabizonら, J. National Cancer Inst. 81(19) 1484 (1989)参照。

【誤訳訂正 27】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0147

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0147】

G. 抗-PRO抗体の用途

本発明の抗-PRO抗体は様々な有用性を有している。例えば、抗-PRO抗体は、PROの診断アッセイ、例えばその特定細胞、組織、又は血清での発現の検出に用いられる。競合的結合アッセイ、直接又は間接サンドウィッチアッセイ及び不均一又は均一相で行われる免疫沈降アッセイ [Zola, Monoclonal Antibodies: A Manual of Techniques, CRC Press, Inc. (1987) pp. 147-158] 等のこの分野で知られた種々の診断アッセイ技術が使用される。診断アッセイで用いられる抗体は、検出可能な部位で標識される。検出可能な部位は、直接又は間接に、検出可能なシグナルを発生しなければならない。例えば、検出可能な部位は、³H、¹⁴C、³²P、³⁵S又は¹²⁵I等の放射性同位体、フルオレセインイソチオシアネート、ローダミン又はルシフェリン等の蛍光又は化学発光化合物、あるいはアルカリホスファターゼ、ベータ-ガラクトシダーゼ又はセイヨウワサビペルオキシダーゼ等の酵素であってよい。抗体に検出可能な部位を結合させるためにこの分野で知られた任意の方法が用いられ、それにはHunterら, Nature 144:945 (1962); Davidら, Biochemistry, 13: 1014 (1974); Painら, J. Immunol. Meth., 40:219 (1981); 及びNygren, J. Histochem. and Cytochem., 30:407 (1982)に記載された方法が含まれる。

【誤訳訂正 28】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0151

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0151】

上記のように得られたコンセンサス配列に基づいて、次いでオリゴヌクレオチドを合成し、PCRにより対象とする配列を含むcDNAライブラリを同定するため、及びPROポリペプチドの完全長コード化配列のクローンを単離するプローブとして用いるために使用した。正方向及び逆方向PCRプライマーは一般的に20から30ヌクレオチドの範囲であり、しばしば約100 - 1000bp長のPCR産物を与えるために設計される。プローブ配列は、典型的に40 - 55bp長である。或る場合には、コンセンサス配列が約1 - 1.5kbpより大きいときに付加的なオリゴヌクレオチドが合成される。完全長クローンについて幾つかのライブラリをスクリーニングするために、ライブラリからのDNAを、Ausubelら, Current Protocols in Molecular Biology, のように、PCRプライマー対でのPCRによりスクリーニングした。ポジティブライブラリを、次いで、プローブオリゴヌクレオチド及びプライマー対の一方を用いて対象とする遺伝子をコードするクローンを単離するのに使用した。

cDNAクローンの単離に用いたcDNAライブラリは、Invitrogen, サンディエゴ,

カリフォルニアなどの市販試薬を用いる標準的な方法によって作成した。cDNAは、N o t I 部位を有するオリゴd Tでプライムし、平滑末端でS a l Iヘミキナーゼアダプターに結合させ、N o t Iで切断してゲル電気泳動で適切なサイズに分類し、そして適合するクローニングベクター（p R K B又はp R K D等；p R K 5 BはS f i I部位を含まないp R K 5 Dの前駆体である；Holmesら，Science，253：1278-1280（1991）参照）の唯一のX h o I及びN o t I部位において、所定の方向でクローニングした。

【誤訳訂正 2 9】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0 1 6 1

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0 1 6 1】

実施例 4：ヒトP R OポリペプチドをコードするcDNAクローンの単離

上記の実施例 1 から 3 に記載されている技術を用いて、ここに開示されているように、多くの完全長cDNAクローンがP R Oポリペプチドをコードしているものと同定された。そして、これらのcDNAは、下記の表 7 示してあるように、ブダペスト条約の条項に従ってアメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション、1 0 8 0 1 ユニバーシティ・ブルバード、マナッサス、バージニア 2 0 1 1 0 - 2 2 0 9 米国(A T C C)へ寄託した。

【誤訳訂正 3 0】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0 1 6 2

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0 1 6 2】

表 7

材料	A T C C 寄託番号	寄託日
DNA26843-1389	203099	1998年8月4日
DNA30867-1335	209807	1998年4月28日
DNA34431-1177	209399	1997年10月17日
DNA38268-1188	209421	1997年10月28日
DNA40621-1440	209922	1998年6月2日
DNA40625-1189	209788	1998年4月21日
DNA45409-2511	203579	1999年1月12日
DNA45495-1550	203156	1998年8月25日
DNA49820-1427	209932	1998年6月2日
DNA56406-1704	203478	1998年11月17日
DNA56410-1414	209923	1998年6月2日
DNA56436-1448	209902	1998年5月27日
DNA56855-1447	203004	1998年6月23日
DNA56860-1510	209952	1998年6月9日
DNA56862-1343	203174	1998年9月1日
DNA56868-1478	203024	1998年6月23日
DNA56869-1545	203161	1998年8月25日
DNA57704-1452	209953	1998年6月9日
DNA58723-1588	203133	1998年8月18日
DNA57827-1493	203045	1998年7月1日
DNA58737-1473	203136	1998年8月18日
DNA58846-1409	209957	1998年6月9日
DNA58850-1495	209956	1998年6月9日

DNA58855-1422	203018	1998年6月23日
DNA59211-1450	209960	1998年6月9日
DNA59212-1627	203245	1998年9月9日
DNA59213-1487	209959	1998年6月9日
DNA59605-1418	203005	1998年6月23日
DNA59609-1470	209963	1998年6月9日
DNA59610-1556	209990	1998年6月16日
DNA59837-2545	203658	1999年2月9日
DNA59844-2542	203650	1999年2月9日
DNA59854-1459	209974	1998年6月16日
DNA60625-1507	209975	1998年6月16日
DNA60629-1481	209979	1998年6月16日
DNA61755-1554	203112	1998年8月11日
DNA62812-1594	203248	1998年9月9日
DNA62815-1576	203247	1998年9月9日
DNA64881-1602	203240	1998年9月9日
DNA64886-1601	203241	1998年9月9日
DNA64902-1667	203317	1998年10月6日
DNA64950-1590	203224	1998年9月15日
DNA65403-1565	203230	1998年9月15日
DNA66308-1537	203159	1998年8月25日
DNA66519-1535	203236	1998年9月15日
DNA66521-1583	203225	1998年9月15日
DNA66658-1584	203229	1998年9月15日
DNA66660-1585	203279	1998年9月22日
DNA66663-1598	203268	1998年9月22日
DNA66674-1599	203281	1998年9月22日
DNA68862-2546	203652	1999年2月9日
DNA68866-1644	203283	1998年9月22日
DNA68871-1638	203280	1998年9月22日
DNA68880-1676	203319	1998年10月6日
DNA68883-1691	203535	1998年12月15日
DNA68885-1678	203311	1998年10月6日
DNA71277-1636	203285	1998年9月22日
DNA73727-1673	203459	1998年11月3日
DNA73734-1680	203363	1998年10月20日
DNA73735-1681	203356	1998年10月20日
DNA76393-1664	203323	1998年10月6日
DNA77301-1708	203407	1998年10月27日
DNA77568-1626	203134	1998年8月18日
DNA77626-1705	203536	1998年12月15日
DNA81754-2532	203542	1998年12月15日
<u>DNA81757-2512</u>	<u>203543</u>	1998年12月15日
DNA82302-2529	203534	1998年12月15日
DNA82340-2530	203547	1998年12月22日
DNA83500-2506	203391	1998年10月29日
DNA84920-2614	203966	1999年4月27日
DNA85066-2534	203588	1998年1月12日
DNA86571-2551	203660	1999年2月9日
DNA87991-2540	203656	1999年2月9日

DNA92238-2539	203602	1999年1月20日
DNA96042-2682	PTA-382	1999年7月20日
DNA96787-2534	203589	1999年1月12日
DNA125185-2806	PTA-1031	1999年12月7日
DNA147531-2821	PTA-1185	2000年1月11日
DNA115291-2681	PTA-202	1999年6月8日
DNA164625-28890	PTA-1535	2000年3月21日
DNA131639-2874	PTA-1784	2000年4月25日
DNA79230-2525	203549	1998年12月22日

【誤訳訂正 3 1】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0 1 6 4

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0 1 6 4】

実施例 5：ハイブリダイゼーションプローブとしての P R O の利用

以下の方法は、P R O をコードする核酸配列のハイブリダイゼーションプローブとしての利用を示している。

ここに開示されている全長又は成熟 P R O をコード化配列を含む D N A は、ヒト組織 c D N A ライブラリ又はヒト組織ゲノムライブラリの同種 D N A (P R O の天然発生変異体をコードするもの等)のスクリーニングのためのプローブとして用いられ得る。

ハイブリダイゼーション及びいずれかのライブラリ D N A を含むフィルターの洗浄を、次の高度にストリンジェントな条件下において実施する。放射標識 P R O 誘導プローブのフィルターへのハイブリダイゼーションを、5 0 %ホルムアミド、5 x S S C、0 . 1 % S D S、0 . 1 %ピロリン酸ナトリウム、5 0 m M リン酸ナトリウム、p H 6 . 8、2 x デンハード液、及び 1 0 %デキストラン硫酸の溶液中において 4 2 °C で 2 0 時間実施する。フィルターの洗浄は、0 . 1 x S S C 及び 0 . 1 % S D S 水溶液中において 4 2 °C で実施する。

次いで、全長天然配列をコードする D N A と所望の配列同一性を有する D N A は、この分野で知られている標準的技術を用いて同定することができる。

【誤訳訂正 3 2】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0 1 9 3

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0 1 9 3】

実施例 1 5：軟骨からのプロテオグリカン放出を刺激する P R O ポリペプチドの能力(アッセイ 9 7)

軟骨組織からのプロテオグリカンの放出を刺激する種々の P R O ポリペプチド能力を以下のようにして試験した。

4 - 6 月齢のブタの手指節関節を無菌で切除し、関節軟骨を下の骨を注意深く避けたフリーハンドスライスによって取り除いた。軟骨を細かく切り刻み、0 . 1 % B S A 及び 1 0 0 U / m l ペニシリン及び 1 0 0 µ g / m l ストレプトマイシンを添加した無血清 (S F) 培地 (D M E / F 1 2 1 : 1) 中で、9 5 % 空気、5 % C O ₂ 湿気においてバルクで 2 4 時間培養した。3 回洗浄した後、約 1 0 0 m g の関節軟骨をマイクロニクス (micronics) 管に分け、上記 S F 培地中でさらに 2 4 時間インキュベートした。次いで、P R O ポリペプチドの 1 % を、単独あるいは公知の軟骨組織からのプロテオグリカン放出刺激剤であるインターロイキン - 1 の 1 8 n g / m l とともに添加した。次いで上清を回収し、1 , 9 -ジメチル-メチレンブルー (D M B) 比色アッセイ (Farndale および Buttle, Biochem. Biophys. Acta 883: 173-177 (1985)) を用いてプロテオグリカンの量を検定した。

このアッセイにおけるポジティブな結果は、例えば、運動関連関節障害である関節軟骨障害、変形性関節症又は慢性関節リウマチの治療において、この試験ポリペプチドが利用できることを示す。

上記のアッセイでPROポリペプチドを試験した場合、このポリペプチドは、根本的にそしてインターロイキン-1 での刺激後並びに処理後24及び72時間の双方の軟骨組織からのプロテオグリカン放出を刺激する顕著な能力を示し、このことは、このようなPROポリペプチドが軟骨組織からのプロテオグリカンの放出を刺激することに有用であることを示している。このように、PROポリペプチドは運動関連関節障害である関節軟骨障害、変形性関節症又は慢性関節リウマチの治療に有用である。このアッセイにおけるポリペプチド試験のポジティブ（陽性）は、以下の通りである：PRO1565、PRO1693、PRO1801及びPRO10096。

【誤訳訂正33】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0197

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0197】

分子	極めて高度に発現した組織：	比較した組織：
DNA26843-1389	正常肺 直腸腫瘍	肺腫瘍 正常直腸
DNA30867-1335	正常腎臓	腎臓腫瘍
DNA40621-1440	正常肺	肺腫瘍
DNA40625-1189	正常肺	肺腫瘍
DNA45409-2511	メラノーマ腫瘍	正常皮膚
DNA56406-1704	腎臓腫瘍 正常皮膚	正常腎臓 メラノーマ腫瘍
DNA56410-1414	正常胃	胃腫瘍
DNA56436-1448	正常皮膚	メラノーマ腫瘍
DNA56855-1447	正常食道 直腸腫瘍	食道腫瘍 正常直腸
DNA56860-1510	正常腎臓 直腸腫瘍	腎臓腫瘍 正常直腸
DNA56862-1343	腎臓腫瘍 正常肺	正常腎臓 肺腫瘍

【誤訳訂正34】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0198

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0198】

分子	極めて高度に発現した組織：	比較した組織：
DNA56868-1478	正常胃 正常肺	胃腫瘍 肺腫瘍
DNA56869-1545	正常食道 正常皮膚	食道腫瘍 メラノーマ腫瘍
DNA57704-1452	正常胃 直腸腫瘍	胃腫瘍 正常直腸
DNA58723-1588	正常胃 腎臓腫瘍 正常皮膚	胃腫瘍 正常腎臓 メラノーマ腫瘍

DNA57827-1493	正常胃	胃腫瘍
	正常皮膚	メラノーマ腫瘍
DNA58737-1473	食道腫瘍	正常食道
	正常胃	胃腫瘍
DNA58846-1409	肺腫瘍	正常肺
DNA58850-1495	食道腫瘍	正常食道
	腎臓腫瘍	正常腎臓
DNA58855-1422	正常胃	胃腫瘍
	直腸腫瘍	正常直腸
DNA59211-1450	正常腎臓	腎臓腫瘍
DNA59212-1627	正常皮膚	メラノーマ腫瘍
DNA59213-1487	正常胃	胃腫瘍
	正常皮膚	メラノーマ腫瘍
DNA59605-1418	メラノーマ腫瘍	正常皮膚
DNA59609-1470	食道腫瘍	正常食道
DNA59610-1556	食道腫瘍	正常食道
	肺腫瘍	正常肺
	正常皮膚	メラノーマ腫瘍
DNA59837-2545	正常皮膚	メラノーマ腫瘍
DNA59844-2542	正常皮膚	メラノーマ腫瘍
	食道腫瘍	正常食道
DNA59854-1459	正常食道	食道腫瘍
	胃腫瘍	正常胃
	正常肺	肺腫瘍
DNA60625-1507	正常肺	肺腫瘍
DNA60629-1481	正常食道	食道腫瘍
	正常直腸	直腸腫瘍

【誤訳訂正 3 5】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0 1 9 9

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0 1 9 9】

分子	極めて高度に発現した組織：	比較した組織：
DNA61755-1554	正常胃	胃腫瘍
	腎臓腫瘍	正常腎臓
DNA62812-1594	正常胃	胃腫瘍
	正常肺	肺腫瘍
	正常直腸	直腸腫瘍
	正常皮膚	メラノーマ腫瘍
DNA62185-1576	食道腫瘍	正常食道
DNA64881-1602	正常胃	胃腫瘍
	正常肺	肺腫瘍
DNA64902-1667	食道腫瘍	正常食道
	腎臓腫瘍	正常腎臓
DNA65403-1565	正常食道	食道腫瘍
DNA66308-1537	正常肺	肺腫瘍
DNA66519-1535	腎臓腫瘍	正常腎臓
DNA66521-1583	正常食道	食道腫瘍
	正常胃	胃腫瘍

	正常肺	肺腫瘍
	正常直腸	直腸腫瘍
	正常皮膚	メラノーマ腫瘍
DNA66658-1584	正常肺	肺腫瘍
	メラノーマ腫瘍	正常皮膚
DNA66660-1585	肺腫瘍	正常肺
DNA66674-1599	腎臓腫瘍	正常腎臓
	正常肺	肺腫瘍
DNA68862-2546	メラノーマ腫瘍	正常皮膚
DNA68866-1644	正常胃	胃腫瘍
DNA68871-1638	肺腫瘍	正常肺
	正常皮膚	メラノーマ腫瘍
DNA68880-1676	正常肺	肺腫瘍
	正常皮膚	メラノーマ腫瘍
DNA68883-1691	食道腫瘍	正常食道
DNA68885-1678	肺腫瘍	正常肺
DNA71277-1636	正常胃	胃腫瘍
DNA73734-1680	正常肺	肺腫瘍

【誤訳訂正 3 6】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0 2 0 0

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0 2 0 0】

分子

DNA73735-1681

極めて高度に発現した組織：

食道腫瘍

正常腎臓

肺腫瘍

正常皮膚

DNA76393-1664

食道腫瘍

胃腫瘍

肺腫瘍

直腸腫瘍

DNA77568-1626

正常胃

肺腫瘍

DNA77626-1705

正常直腸

DNA81754-2532

正常皮膚

DNA81757-2512

食道腫瘍

正常胃

メラノーマ腫瘍

DNA82302-2529

正常胃

正常肺

DNA82340-2530

正常食道

DNA85066-2534

肺腫瘍

正常皮膚

DNA87991-2540

腫瘍食道

DNA92238-2539

正常皮膚

DNA96787-2534

正常腎臓

比較した組織：

正常食道

腎臓腫瘍

正常肺

メラノーマ腫瘍

正常食道

正常胃

正常肺

正常直腸

胃腫瘍

正常肺

直腸腫瘍

メラノーマ腫瘍

正常食道

胃腫瘍

正常皮膚

胃腫瘍

肺腫瘍

食道腫瘍

正常肺

メラノーマ腫瘍

正常食道

メラノーマ腫瘍

腎臓腫瘍