

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4558948号
(P4558948)

(45) 発行日 平成22年10月6日(2010.10.6)

(24) 登録日 平成22年7月30日(2010.7.30)

(51) Int.Cl.

F 1

C 12 N	15/09	(2006.01)	C 12 N	15/00	Z N A A
C 12 N	1/21	(2006.01)	C 12 N	1/21	
C 12 N	5/10	(2006.01)	C 12 N	5/00	1 O 1
C 12 N	15/113	(2010.01)	C 12 N	15/00	G
C 12 N	9/50	(2006.01)	C 12 N	9/50	

請求項の数 10 (全 77 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2000-602268 (P2000-602268)
(86) (22) 出願日	平成12年3月2日(2000.3.2)
(65) 公表番号	特表2002-537791 (P2002-537791A)
(43) 公表日	平成14年11月12日(2002.11.12)
(86) 國際出願番号	PCT/US2000/005612
(87) 國際公開番号	W02000/052044
(87) 國際公開日	平成12年9月8日(2000.9.8)
審査請求日	平成19年2月27日(2007.2.27)
(31) 優先権主張番号	09/261,416
(32) 優先日	平成11年3月3日(1999.3.3)
(33) 優先権主張国	米国(US)

(73) 特許権者	500517271 ザ ボード オブ トラスティーズ オブ ザ ユニヴァーシティー オブ アーカ ンソー システム アメリカ合衆国 アーカンソー州 722 07-3608 リトル ロック ノース ユニヴァーシティー アヴェニュー 2 404
(74) 代理人	100082072 弁理士 清原 義博
(72) 発明者	オブライアン, ティモシー ジェイ アメリカ合衆国 アーカンソー州 722 07 リトル ロック ノース ピアース 2610

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】卵巣癌において過剰発現される膜貫通型セリンプロテアーゼおよびその使用

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

配列番号 2 又は配列番号 4 に示されるアミノ酸配列を含む腫瘍関連差別的発現遺伝子 - 1 2 (T A D G - 1 2) タンパク質をコードする DNA 断片であつて :

(a) 配列番号 1 又は配列番号 3 に示される配列を含む单離 DNA 断片 ;

(b) 前記 (a) の单離 DNA 断片に対してハイブリダイズし、かつ T A D G - 1 2 タンパク質をコードする单離 DNA 断片 ; および

(c) 遺伝暗号の縮重のためコドン配列において前記 (a) および (b) の单離 DNA 断片と異なり、かつ配列番号 2 又は配列番号 4 に示されるアミノ酸配列を含む T A D G - 1 2 タンパク質をコードする单離 DNA 断片 ;

より成る群から選択される DNA 断片。

【請求項 2】

請求項 1 記載の DNA 断片、および細胞における該 DNA 断片の発現に必要な調節要素を含むことを特徴とするベクター。

【請求項 3】

前記 DNA 断片が、配列番号 2 または配列番号 4 に示されるアミノ酸配列を含む T A D G - 1 2 タンパク質をコードすることを特徴とする請求項 2 記載のベクター。

【請求項 4】

請求項 3 記載のベクターで形質転換され、配列番号 2 または配列番号 4 に示されるアミノ酸配列を含む T A D G - 1 2 タンパク質を発現することを特徴とする宿主細胞。

10

20

【請求項 5】

細菌細胞、哺乳類細胞、植物細胞または昆虫細胞であることを特徴とする請求項 4 記載の宿主細胞。

【請求項 6】

前記細菌細胞が大腸菌であることを特徴とする請求項 5 記載の宿主細胞。

【請求項 7】

請求項 1 記載の DNA 断片に対するアンチセンスオリゴヌクレオチド。

【請求項 8】

単離および精製した配列番号 2 又は配列番号 4 に示されるアミノ酸配列を含む腫瘍関連差別的発現遺伝子 - 12 (TADG - 12) タンパク質であって：

10

(a) 配列番号 1 又は配列番号 3 に示される配列を含む単離 DNA 断片；

(b) 前記 (a) の単離 DNA 断片に対してハイブリダイズし、かつ TADG - 12 タンパク質をコードする単離 DNA 断片； および

(c) 遺伝暗号の縮重のためコドン配列において前記 (a) および (b) の単離 DNA 断片と異なり、かつ配列番号 2 又は配列番号 4 に示されるアミノ酸配列に含まれる TADG - 12 タンパク質をコードする単離 DNA 断片；

より成る群から選択される DNA によってコードされることを特徴とする単離および精製 TADG - 12 タンパク質。

【請求項 9】

請求項 8 記載の TADG - 12 タンパク質に対する抗体。

20

【請求項 10】

配列番号 8、35、36、55、56、83、84、97、98、119、120、122、123 または 136 に示される配列を含む TADG - 12 タンパク質の免疫原断片および適切なアジュバントを含むことを特徴とする免疫原組成物。

【発明の詳細な説明】**【0001】****発明の背景****関連出願への相互参照**

本出願は一部継続特許出願であり、1999年3月3日に出願の米国特許出願第09/261,416号に基づき米国特許法第120条による優先権を主張する。

30

【0002】**発明の分野**

本発明は、概して、細胞生物学および新生物性疾患の診断の分野に関連する。より詳細には、本発明は、卵巣癌において過剰発現される、腫瘍関連差別的発現遺伝子 - 12 (Tumor Associated Differentially-Expressed Gene-12) (TADG - 12) と称される膜貫通型セリンプロテアーゼに関するものである。

【0003】**関連技術**

腫瘍細胞は、その原発部位から遊離される一連のプロテアーゼの発現に基づき、さらに離れた部位に移動して致死性をもたらす。その転移性は腫瘍細胞および腫瘍周囲のストロマ細胞によるプロテアーゼの異常発現パターンの結果である [1-3]。転移性となるほとんどの腫瘍において、腫瘍周囲の細胞外マトリックス成分を破壊し、基底膜を破壊して血流またはリンパ系へ接近し、さらに逆向きにその過程を繰り返して第二の宿主部位に定着することが必要である [3-6]。それら過程の全ては、同調プロテアーゼカスケードと現在思われているものに基づく。さらには、腫瘍細胞は、進行的に腫瘍を増殖させる増殖因子および血管新生促進因子を活性化するためにプロテアーゼの力を用いる [1]。従って、腫瘍関連プロテアーゼの同定、および治療手段としてのそれら酵素の阻害を目的とした多数の研究がなされてきた。より重要なこととして、多くのそれらプロテアーゼの分泌性および / 高レベルでの発現は、患者血清における異常レベルでの検出を可能とし、例えば前立腺特異的抗原 (PSA) は前立腺癌の早期診断を可能とする [7]。

40

50

【 0 0 0 4 】

プロテアーゼは、腫瘍増殖、腫瘍細胞の脱落およびターゲット器官の浸潤に直接関連している。各クラスのプロテアーゼは、限定はされないが、(1)最初の腫瘍領域の周囲のストローマの消化、(2)腫瘍細胞の解離をもたらす細胞接着分子の消化、および(3)転移性増殖および腫瘍増殖因子と血管新生促進因子の両方の活性化のための基底膜の浸潤に関連する。

【 0 0 0 5 】

多くの形態の癌において、この10年間に診断および治療が劇的に改善されている。しかしながら、診断前に進んだステージに疾患を進行させるあいまいな兆候のため、卵巣癌の5年生存率は、依然として50%未満である。¹⁰ C A 1 2 5 抗原の利用は卵巣癌の再発をモニターするためのマーカーとして有用であるが、早期診断のための理想的マーカーであることは証明されていない。従って、細胞から分泌または遊離されかつ卵巣癌において高発現される新しいマーカーは、早期診断のためおよび卵巣癌患者における治療的介入のために有用な手段を提供することができる。

【 0 0 0 6 】

先行技術は、癌において過剰発現されるプロテアーゼの完全な同定を欠き、従って、特に卵巣癌のための、早期疾患の指標として有用な腫瘍マーカーを欠いている。詳細には、膜貫通型セリンプロテアーゼであるT A D G - 1 2 は、これまで核酸またはタンパク質の何れも同定されていなかった。本発明は、本技術分野における長年の必要性および要求を満たすものである。²⁰

【 0 0 0 7 】**発明の概要**

本発明は、腫瘍関連差別的発現遺伝子(T A D G)ファミリーの新しいメンバーであるT A D G - 1 2、ならびに切断タンパク質産物をもたらし得るT A D G - 1 2の変異スライシング形態(T A D G - 1 2 V)について開示する。T A D G - 1 2は卵巣癌において過剰発現される膜貫通型セリンプロテアーゼである。T A D G - 1 2の完全なc D N Aが同定されている(配列番号1)。その配列は454アミノ酸から成る推定上のタンパク質(配列番号2)をコードし、そのタンパク質は潜在的な膜貫通領域、L D L受容体様領域、スカベンジャー受容体システインリッチ領域およびセリンプロテアーゼ領域を包含する。それらの特性は、T A D G - 1 2が細胞表面において発現され、さらに治療および診断マーカーの分子ターゲットとして用いられ得ることを暗示する。³⁰

【 0 0 0 8 】

本発明の1つの実施形態において、(a) T A D G - 1 2タンパク質をコードする単離D N A断片；(b)上記(a)の単離D N A断片に対してハイブリダイズし、かつT A D G - 1 2タンパク質をコードする単離D N A断片；(c)遺伝暗号の縮重のためコドン配列において上記(a)および(b)の単離D N A断片と異なり、かつT A D G - 1 2タンパク質をコードする単離D N A断片：より成る群から選択されたT A D G - 1 2タンパク質をコードするD N A断片を提供する。詳細には、そのD N A断片は、配列番号1または配列番号3に示される配列を有する。

【 0 0 0 9 】

本発明の別の実施形態において、本発明のD N Aを発現し得るベクター／宿主細胞を提供する。⁴⁰

【 0 0 1 0 】

本発明のさらに別の実施形態において、(a) T A D G - 1 2タンパク質をコードする単離D N A；(b)上記(a)の単離D N Aに対してハイブリダイズし、かつT A D G - 1 2タンパク質をコードする単離D N A；(c)遺伝暗号の縮重のためコドン配列において(c)上記(a)および(b)の単離D N Aと異なり、かつT A D G - 1 2タンパク質をコードする単離D N A：より成る群から選択されたD N Aによってコードされる単離および精製したT A D G - 1 2タンパク質を提供する。詳細には、そのT A D G - 1 2タンパク質は配列番号2または配列番号4に示されるアミノ酸配列を有する。⁵⁰

【0011】

本発明のさらに別の実施形態において、(a)細胞から採取したmRNAを標識ハイブリダイゼーションプローブと接触させ；さらに(b)そのプローブとmRNAとのハイブリダイゼーションを検出する：工程を含むTADG-12タンパク質の発現を検出する方法を提供する。

【0012】

本発明は、さらに、この中に開示のTADG-12タンパク質またはmRNAを検出することによって癌または他の悪性過形成(malignant hyperplasia)を診断する方法を提供する。

【0013】

本発明のさらに別の実施形態において、細胞内でベクターが発現に必要な要素に作動可能に結合した逆配向のTADG-12のDNA断片を包含するように細胞にベクターを導入することによって細胞中における内因性TADG-12mRNAの発現を阻害する方法を提供する。

【0014】

本発明のさらに別の実施形態において、TADG-12タンパク質またはその断片に対する抗体を導入することによって細胞中におけるTADG-12タンパク質の発現を阻害する方法を提供する。

【0015】

本発明のさらに別の実施形態において、TADG-12タンパク質に特異的なターゲット部分および治療部分を有する化合物を投与することによって、ターゲット治療の方法を提供する。詳細には、TADG-12タンパク質は、配列番号2または配列番号4に示すアミノ酸配列を有する。

【0016】

本発明は、さらに、TADG-12タンパク質またはその断片を個体に接種することによって、個体にTADG-12に対するワクチン接種を行う方法を提供する。詳細には、TADG-12タンパク質は、配列番号2または配列番号4に示すアミノ酸配列を有する。TADG-12断片として、配列番号8に示す配列を有するTADG-12Vの切断形態、およびTADG-12タンパク質の9残基断片から12残基断片までの断片が挙げられる。

【0017】

本発明のさらに別の実施形態において、TADG-12タンパク質の免疫原断片および適切なアジュバントを含む免疫原組成物を提供する。TADG-12断片として、配列番号8に示す配列を有するTADG-12Vペプチドの切断形態、およびTADG-12タンパク質の9残基断片から12残基断片までの断片が挙げられる。

【0018】

本発明の他の態様、特徴および利点は、以下の開示の目的で提供された本発明の現在の好ましい実施形態の記載から明らかであろう。

【0019】

図面の簡単な説明

本発明の上記の特徴、利点および目的、ならびに明らかになるであろう他のことが達成されかつ詳細に理解され得るように、添付図面に例示された本発明のある実施形態を参照することによって上記において簡単に要約された本発明についてのより詳細な説明を行う。それら図面は本明細書の一部を構成する。しかしながら、添付図面は本発明の好ましい実施形態を例示したものであり、本発明の範囲を限定することを意図していないことに注意すべきである。

【0020】

図1Aは、重複セリンプロテアーゼプライマーを用いた約180bpの予測されたPCR産物および約300bpの予測外のPCR産物が、正常卵巣cDNAからは増幅されない(レーン1)が、卵巣腫瘍cDNAから異常に増幅される(レーン2)ことを示す。PC

10

20

30

40

50

R反応のためのプライマー配列を水平の矢印で示唆する。図1Bは、TADG-12が180bpバンドからサブクローン化され、一方、大きな300bpバンドがTADG-12Vを指定することを示す。その配列において、180bp(ヌクレオチド配列が配列番号5、推測アミノ酸配列が配列番号6)が、追加の133塩基の挿入を有する300bp TADG-12V(ヌクレオチド配列が配列番号7、推定アミノ酸配列が配列番号8)と重複することが分かった。その挿入(垂直の矢印)はフレームシフトをもたらし、TADG-12Vの転写を生じさせて変異アミノ酸配列を有するTADG-12の切断形態を潜在的に產生する。

【0021】

図2は、TADG-12のノーザンプロット分析において、2.4、1.6および0.7kbの3つの転写物が顯示されたことを示す。それら転写物は、卵巣腫瘍および癌細胞株において顯著なレベルで認められたが、正常卵巣では低レベルでのみ認められた。

【0022】

図3はTADG-12を詳細に調べたRNAドットプロット(CLONTECH)を示す。最も転写量の多い心臓に代表されるように、50全てのヒト組織において、転写物が検出された(バックグラウンドレベルで)。被殻、扁桃、腎臓、肝臓、小腸、骨格筋および副腎が中間レベルのTADG-12転写物を有することも分かった。

【0023】

図4は、オープンリーディングフレームの予測454アミノ酸(配列番号2)と共に、TADG-12のcDNA配列(配列番号1)を示す。ヌクレオチド配列内において、転写開始のためのコザックのコンセンサス配列およびポリアデニル化シグナルに下線を引いている。タンパク質配列において、潜在的な膜貫通領域を線で囲んでいる。セリンプロテアーゼ領域の触媒三つ組残基を丸で囲み、さらに潜在的なタンパク質分解部位として指定されている触媒領域の先頭に矢印で印をついている。*は転写を終結させる終止コドンを表す。

【0024】

図5Aは、セリンプロテアーゼTMPRSS2(U75329、配列番号14)からの他のLDLR-Aモチーフ、補体サブユニットC8(P07358、配列番号9)、糖タンパク質GP300の2つのLDLR-A領域(P98164、配列番号11-12)およびセリンプロテアーゼのマトリプターゼ(matriptase)(AF118224、配列番号10)と整列させて、TADG-12の35アミノ酸LDLR-A領域(配列番号13)を示す。TADG-12は他のセリンプロテアーゼと最も高い類似性を有し、TMPRSS2に対して54%類似し、マトリプターゼに対して53%類似する。高度に保存されたシステイン残基を太字で示す。図5Bは、ヒトマクロファージスカベンジャー受容体(P21757、配列番号16)、ヒトエンテロキナーゼ(P98073、配列番号19)、ウシエンテロキナーゼ(P21758、配列番号15)およびセリンプロテアーゼTMPRSS2(配列番号18)等の他のドメインファミリーメンバーと整列させて、TADG-12のSRCR領域(配列番号17)を示す。前記と同様にTADG-12はその領域内においてプロテアーゼTMPRSS2に対して最も類似性を示し、43%類似する。図5Cは、プロテアーゼM(U62801、配列番号20)、トリプシノーゲンI(P07477、配列番号21)、血漿カリクレイン(P03952、配列番号22)、ヘプシン(P05981、配列番号25)およびTMPRSS2(配列番号24)等の他のヒトセリンプロテアーゼと整列させて、TADG-12のプロテアーゼ領域(配列番号23)を示す。各配列のコンセンサス配列を示している。

【0025】

図6は、TADG-12(上段パネル)およびTADG-12V(下段パネル)について実施した半定量的PCR分析を示す。内部対照としての-チューブリン産物のPCR増幅と並行して、TADG-12またはTADG-12Vの増幅を実施した。TADG-12転写物は55の癌の内41において過剰発現していることが認められた。TADG-12V転写物は調べた22の癌の内8において過剰発現していることが認められた。上段パ

10

20

30

40

50

ネルの試料は下段パネルの試料と必ずしも同じでないことに注意すべきである。

【0026】

図7は、TADG-12特異的ペプチドに対して作成されたポリクロナルウサギ抗体を用いて実施した正常卵巣および卵巣腫瘍の免疫組織化学染色を示す。正常卵巣(図7A)において顕著な染色は検出されなかった。調べた29の癌の内22において強い陽性染色が観察された。図7Bおよび図7Cは、それぞれ、漿液性癌および粘液性癌を示す。何れも腫瘍細胞の細胞質に亘り広汎な染色を示したが、ストローマ細胞は相対的に染色されずに残った。

【0027】

図8は、細胞内でのTADG-12の経過を示す。正常環境において、TADG-12転写物は適切にスプライシングされて、得られたタンパク質は細胞表面において発現され、そこでプロテアーゼによって活性形態に分解される。残されたリガンド結合領域の役割は特定されていないが、活性化、内在化またはその両方のために他の分子に結合し得ることを想像できる。いくつかの腫瘍において生じるTADG-12Vの転写物は突然変異の結果でありおよび/またはmRNAの弱いプロセシングは機能的プロテアーゼ領域を持たないTADG-12の切断形態を産生し得る。さらには、その切断産物は腫瘍細胞表面における新規なエピトープを提供し得る。

10

【0028】

発明の詳細な説明

卵巣癌において発現されているセリンプロテアーゼを調べるために、それらタンパク質における最も高度に保存されたアミノ酸に対して設計された重複PCRプライマーを利用するPCRに基づく差別的表示技術を用いた[9]。結果として、腫瘍関連差別的発現遺伝子-12(TADG-12)と称される新規な細胞表面のマルチドメイン(multi-domain)セリンプロテアーゼを同定した。TADG-12は多くの卵巣腫瘍において過剰発現すると思われる。TADG-12の細胞外特性は、TADG-12特異的測定法を介した腫瘍の検出を可能とする。さらには、調べた腫瘍の35%において、TADG-12Vと称されるTADG-12のスプライシング変異体が上昇レベルで検出された。TADG-12Vは将来の治療的アプローチのための独特的腫瘍特異的ターゲットとなり得る変化したアミノ酸配列と共に、TADG-12の切断形態をコードする。

20

【0029】

TADG-12cDNAは2413塩基対長(配列番号1)であり、454アミノ酸タンパク質(配列番号2)をコードする。変異形態のTADG-12V(配列番号3)は294アミノ酸タンパク質(配列番号4)をコードする。TADG-12および/またはTADG-12V遺伝子を利用し得ることは、種々の応用につながる多くの研究を可能とする。例えば、卵巣癌、ならびに乳癌、前立腺癌、肺癌および結腸癌等の他の癌における診断的または治療的ターゲットとしてTADG-12および/またはTADG-12V遺伝子を用いることができる。

30

【0030】

本発明に基づき、当業技術内の従来の分子生物、微生物および組換えDNA技術を用いて差し支えない。そのような技術は文献に全て記載されている。例えば、Maniatis, Fritsch & Sambrook, "Molecular Cloning": A Laboratory Manual (1988); "DNA Cloning: A Practical Approach", Volumes I and II (D.N. Glover ed. 1985); "Oligonucleotide Synthesis" (M.J. Gait ed. 1984); "Nucleic Acid Hybridization" [B.D. Hames & S.J. Higgins eds. (1985)]; "Transcription and Translation" [B.D. Hames & S.J. Higgins eds. (1984)]; "Animal Cell Culture" [R.I. Freshney, ed. (1986)]; "Immobilized Cells And Enzymes" [IRL Press, (1986)]; B.Perbal, "A Practical Guide To Molecular Cloning" (1984)を参照。

40

【0031】

従って、この中に出てきた場合に、以下の用語は次に示す定義を有する。

【0032】

50

この中で用いられた「cDNA」の用語は遺伝子のmRNA転写物のDNA複製物を称する。

【0033】

この中で用いられた「誘導アミノ酸配列」の用語は、cDNAにおける3塩基連鎖を読むことによって特定されるアミノ酸配列を意味する。

【0034】

この中で用いられた「ライブラリーをスクリーニングする」の用語は、標識プローブを用いて、適切な条件下においてプローブに対して相補的である配列が特定DNAライブラリ-中に存在するか否かを調べる方法を称する。さらには、「ライブラリーをスクリーニングする」ことは、PCRによって実施しても差し支えない。

10

【0035】

この中で用いられた「PCR」の用語は、米国特許第4,683,195号および第4,683,202号(Mullis)の主題であるポリメラーゼ連鎖反応、ならびに当業界で現在公知である他の改良法を称する。

【0036】

この中に記載のアミノ酸は、好ましくは、「L」異性体である。しかしながら、ポリペプチドによる免疫グロブリン-結合の所望の機能的特性が維持される限り、「D」異性体の残基もLアミノ酸残基を代用し得る。NH₂はポリペプチドのアミノ末端に存在するフリーのアミノ基を称する。COOHはポリペプチドのカルボキシ末端に存在するフリーのカルボキシル基を称する。標準ポリペプチド命名法, J Biol. Chem., 243: 3552-59 (1969)を踏まえて、アミノ酸残基の省略形は当業界で公知である。

20

【0037】

この中で、全てのアミノ酸残基配列は、左から右への方向がアミノ末端からカルボキシ末端への従来の方向で示されていることに注意すべきである。さらには、アミノ残基配列の始めまたは終わりにおけるダッシュ記号は、1つ以上のアミノ酸残基から成る別の配列に対するペプチド結合を指示する。

【0038】

「レプリコン」は、インビオにおいてDNA複製の自律単位として機能する；すなわち、それ自体の制御下において複製し得る任意の遺伝要素(例えば、プラスミド、染色体、ウイルス)である。

30

【0039】

「ベクター」は、例えばプラスミド、ファージまたはコスミドのようなレプリコンであり、それに対して別のDNA断片が結合してその結合した断片の複製をもたらすことができる。

【0040】

「DNA分子」は、一本鎖形態または二本鎖螺旋形態の何れかのデオキシリボヌクレオチド(アデニン、グアニン、チミンまたはシトシン)の重合体を称する。DNA分子の用語は、その分子の1次および2次構造のみを称し、特定の3次構造に限定されない。従って、DNA分子の用語は、特に、直線DNA分子(例えば制限酵素断片)、ウイルス、プラスミドおよび染色体において認められる二本鎖DNAを含む。この中で構造について議論する際に、DNAの転写されない鎖(すなわちmRNAに相同的な配列を有する鎖)に沿って5'から3'方向にある配列のみを与える通常のやり方に従う。

40

【0041】

「複製起点」は、DNA合成を開始するDNA配列を称する。

【0042】

DNA「コード配列」は、適切な調節配列の制御下に置かれた場合に、インビオにおいて、転写されかつポリペプチドに翻訳される二本鎖DNA配列を称する。5'(アミノ)末端における開始コドンおよび3'(カルボキシル)末端における翻訳終止コドンによって、コード配列の境界を特定する。コード配列として、限定はされないが、原核生物の配列、真核生物のmRNA由来のcDNA、真核生物(例えば、哺乳類)のDNA由来のゲノ

50

ムDNA配列および合成DNA配列等が挙げられる。ポリアデニル化シグナルおよび転写終結配列は、通常、コード配列の3'側に位置する。

【0043】

転写および翻訳の制御配列は、宿主細胞においてコード配列の発現をもたらす、例えばプロモーター、エンハンサー、ポリアデニル化シグナル、ターミネーター等のDNA調節配列である。

【0044】

「プロモーター配列」は、細胞においてRNAポリメラーゼに結合しつつ下流(3'側)のコード配列の転写を開始し得るDNA調節領域である。本発明を特定する目的において、プロモーター配列は、その3'末端において転写開始部位に結合し、さらに、バックグラウンドを越える検出可能なレベルで転写を開始するのに必要な最小数の塩基または要素を含むように上流(5'側)に伸長する。プロモーター配列内に、転写開始部位、ならびにRNAポリメラーゼに対する結合を担うタンパク質結合部位(コンセンサス配列)が認められるであろう。真核生物のプロモーターは、必ずではないが、「TATA」ボックスおよび「CAT」ボックスを包含することが多い。原核生物プロモーターは、-10および-35コンセンサス配列に加えて、シャイン・ダルガーノ配列を包含する。

10

【0045】

「発現調節配列」は、別のDNA配列の転写および翻訳を制御および調節するDNA配列である。RNAポリメラーゼがコード配列をmRNAに転写し、さらにその転写物がそのコード配列によってコードされるタンパク質に翻訳される場合、コード配列は転写および翻訳調節配列の「制御下」にある。

20

【0046】

「シグナル配列」はコード配列の近くに包含されていて差し支えない。その配列は、宿主細胞に伝達してそのポリペプチドを細胞表面に方向付けしあるいはそのポリペプチドを媒体中に分泌するようなそのポリペプチドのN末端にあるシグナルペプチドをコードし、そのシグナルペプチドは、そのタンパク質が細胞から遊離する前に宿主細胞によって切り離される。シグナル配列は原核生物および真核生物に天然に存在する種々のタンパク質に関連することが分かるであろう。

【0047】

本発明のプローブについて言及する際にこの中で用いられる「オリゴヌクレオチド」の用語は、2つ以上、好ましくは3つより多くのリボヌクレオチドを包含する分子として定義される。その正確なサイズは、そのオリゴヌクレオチドの最終機能および用途に依存する多くの因子に基づくであろう。

30

【0048】

この中で用いられている「プライマー」の用語は、精製制限酵素消化物の場合のような自然に生じたものあるか、あるいは合成したものであるかにかかわらず、核酸鎖に相補的であるプライマー伸長産物の合成が誘導されるような条件下、すなわち適切な温度およびpHにおいてヌクレオチドおよびDNAポリメラーゼのような誘発剤の存在下に置かれた場合に、合成の開始地点として働き得るオリゴヌクレオチドを称する。プライマーは一本鎖であっても二本鎖であっても差し支えなく、誘発剤の存在下において所望の伸長産物の合成を開始するのに十分な長さである必要がある。プライマーの正確な長さは、温度、プライマーの起源および使用する方法等の多くの因子に依存するであろう。例えば、診断に用いる場合には、ターゲット配列の複雑さに依存し、オリゴヌクレオチドプライマーは通常15-25以上のヌクレオチドを包含するが、それより少ないヌクレオチドを包含するものであっても差し支えない。

40

【0049】

この中のプライマーは、特定ターゲットDNA配列の異なる鎖に対して「実質的に」相補的であるように選択される。このことは、プライマーが各鎖とハイブリダイズするのに十分相補的でなければならないことを意味する。従って、プライマー配列は、鑄型の正確な配列を反映する必要はない。例えば、プライマー配列の残り部分がその鎖に相補的である

50

プライマーの5'末端に、非相補的ヌクレオチド断片が結合していて差し支えない。あるいは、プライマー配列がその鎖に十分な相補性を有したまはその鎖とハイブリダイズして伸長産物の合成のための鋳型を形成することを条件として、非相補的塩基またはより長い配列がプライマー中に散在していて差し支えない。

【0050】

この中で用いられている「制限エンドヌクレアーゼ」および「制限酵素」の用語は、特異的ヌクレオチド配列部分またはその近くで二本鎖DNAを切断する酵素を称する。

【0051】

外因性または異種DNAが細胞内に導入された場合、細胞はそのようなDNAによって「形質転換されている」。形質転換DNAは細胞のゲノム中に（共有結合して）一体化されても一体化されなくても差し支えない。例えば、原核細胞、酵母および哺乳類細胞において、形質転換DNAは、プラスミドのようなエピソーム要素上に保持されていて差し支えない。真核細胞に関して、安定に形質転換された細胞は、形質転換DNAが染色体に一体化されて染色体複製を介して娘細胞に受け継がれるような細胞である。その安定性は、真核細胞が、形質転換DNAを包含する娘細胞の集団から成る細胞株またはクローンを樹立する能力によって説明される。「クローン」は、有糸分裂によって単一の細胞または祖先に由来する細胞集団である。「細胞株」は何世代にも亘りインビトロで安定に増殖し得る初代細胞のクローンである。

10

【0052】

ヌクレオチドの約75%以上（好ましくは約80%以上、さらに最も好ましくは約90%または95%以上）がDNA配列の特定された長さに亘り一致する場合、2つのDNA配列は「実質的に相同である」。配列データバンクにおいて利用可能な標準ソフトウェアを用いて配列を比較することによって、あるいは、例えば、特定の系のために決定された厳しい条件下におけるササンハイブリダイゼーション実験において、実質的に相同である配列を同定することができる。適切なハイブリダイゼーション条件を決定することは、当業技術の範囲内である。例えば、Maniatis et al., supra; DNA Cloning, Vols. I & II, supra; Nucleic Acid Hybridization, supraを参照。

20

【0053】

DNA構築物の「異種」領域は、より大きなDNA分子内の同定可能なDNA断片であって、そのより大きな分子に関連して天然では認められないDNA断片である。従って、その異種領域が哺乳類遺伝子をコードする場合、通常、その遺伝子は、その由来生物のゲノム中ではその哺乳類遺伝子に隣接しないようなDNAに隣接するであろう。別の例において、コード配列は、そのコード配列自体が天然では認められないような構造である（例えば、ゲノムコード配列がインtronまたは天然遺伝子と異なるコドンを有する合成配列を包含するようなcDNA）。対立遺伝子変異または自然に生じる突然変異事象は、この中で定義されたDNAの異種領域を生じさせない。

30

【0054】

そのような研究のために最も一般的に用いられる標識は、放射性元素、酵素、紫外線に暴露された際に蛍光を発する化学物質等である。多くの蛍光物質が公知であり、標識として用いることができる。蛍光物質として、例えば、フルオレセイン、ローダミン、オーラミン、テキサスレッド、AMCAブルーおよび黄燐イエロー(Lucifer Yellow)が挙げられる。特定検出物質は、ヤギにおいて調製しかつイソチオシアネートを介してフルオレセインに結合させた抗ウサギ抗体である。

40

【0055】

また、放射性元素または酵素を用いてタンパク質を標識しても差し支えない。任意の現在利用可能な測定法によって放射能標識を検出することができる。 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{36}Cl 、 ^{51}Cr 、 ^{57}Co 、 ^{58}Co 、 ^{59}Fe 、 ^{90}Y 、 ^{125}I 、 ^{131}I および ^{186}Re から好ましいアイソトープを選択することができる。

【0056】

酵素標識も同様に有用であり、任意の現在利用されている比色、分光測光、蛍光測光、電

50

流滴定またはガス定量技術によって検出することができる。カルボジイミド、ジイソシアネート、グルタールアルデヒド等のような架橋分子を用いた反応によって、選択された粒子に酵素を結合させる。それら方法において用いられる多くの酵素は公知でありかつ利用できる。好ましい酵素は、ペロキシダーゼ、L-D-グルクロニダーゼ、D-L-グルコシダーゼ、D-ガラクトシダーゼ、ウレアーゼ、グルコースオキシダーゼとペロキシダーゼ、およびアルカリホスファターゼである。代用の標識物質および方法の開示を例示する目的で、米国特許第3,654,090号、第3,850,752号および第4,016,043号を参照する。

【0057】

本技術分野において開発されかつ利用される特定測定系は受容体測定法として知られている。受容体測定法において、測定すべき物質を適切に標識し、次に、多くのその標識物質を特定細胞試験コロニーに接種して、その後、標識物質が細胞受容体に結合する割合を特定するために結合試験を行う。その方法において、物質間の親和性の違いを確かめることができる。10

【0058】

本技術分野において有用である測定法は、「シス／トランス」測定法として知られている。詳細には、その測定法は2つの遺伝子構築物を用い、第一の構築物は通常適切な細胞株にトランスフェクトされた場合に特定の関心受容体を連続的に発現するプラスミドであり、第二の構築物は受容体／リガンド複合体の制御下においてルシフェラーゼのような受容体を発現するプラスミドである。従って、例えば、特定受容体に対するリガンドとして化合物を評価するのが望ましい場合、第一のプラスミドは選択された細胞株において受容体の発現をもたらす構築物であり、一方、第二のプラスミドは特定受容体に対する応答要素が挿入されたルシフェラーゼ遺伝子に結合したプロモーターを有するであろう。試験された化合物が受容体のアゴニストである場合、そのリガンドは受容体と複合体を形成し、さらに得られた複合体はその反応要素に結合してルシフェラーゼ遺伝子の転写を開始させるであろう。得られた化学ルミネセンスを光度測定によって測定し、さらに用量反応曲線を作成して公知リガンドのものと比較する。前記プロトコルは米国特許第4,981,784号に詳細に記載されている。20

【0059】

この中で用いられている「宿主」の用語は、原核細胞のみでなく、酵母、植物および動物細胞等の真核細胞も含むことを意味する。本発明のヒトTADG-12タンパク質をコードする組換えDNA分子または遺伝子を用いて、当業者に周知な任意の技術を利用して、宿主を形質転換させて差し支えない。原核生物を形質転換させる目的で、本発明のヒトTADG-12タンパク質をコードする遺伝子のコード配列を包含するベクターを用いることが特に好ましい。原核宿主として、大腸菌、S・ティムフィムリウム(*S. typhimurium*)、セラシア・マルセッセンスおよび枯草菌が挙げられる。真核宿主として、ピッチャ・パストリス(*Pichia pastoris*)のような酵母、哺乳類細胞および昆虫細胞が挙げられる。30

【0060】

通常、宿主との関連において、挿入DNA断片の効率的な転写を促進させるプロモーターを包含する発現ベクターを用いる。発現ベクターは、通常、複製起点、プロモーター、ターミネーター、ならびに形質転換細胞において表現型の選択をもたらし得る特定遺伝子を包含する。当業界で公知の手段に従って形質転換宿主を発酵および培養して、最適な細胞増殖を得ることができる。40

【0061】

本発明は、実質的に純粋なTADG-12タンパク質をコードするDNAを含み、そのDNA鎖は、配列番号1または配列番号3に示す配列の少なくとも15連続ヌクレオチドから成る配列を包含するプローブに対して、非常に厳しい条件下でハイブリダイズするであろう。本発明のDNAによってコードされるタンパク質は、配列番号2または配列番号4に記載されたアミノ酸と80%以上(好ましくは85%以上、さらに最も好ましくは95%以上)の配列の一一致を有するであろう。より好ましくは、そのDNAは、図4のヌクレ50

オチド（配列番号 1）のコード配列、またはそのような配列の縮重変異体を包含する。

【 0 0 6 2 】

本発明の DNA がハイブリダイズするプローブは、図 4 に記載したヌクレオチド（配列番号 1）のコード配列またはその相補体の好ましくは 20 連続ヌクレオチド、より好ましくは 40 ヌクレオチド、よりさらに好ましくは 50 ヌクレオチド、最も好ましくは 100 ヌクレオチド以上（100%まで）の配列から成る。そのようなプローブは、（a）細胞から採取した mRNA を標識ハイブリダイゼーションプローブと接触させ；さらに（b）そのプローブと mRNA とのハイブリダイゼーションを検出する工程を含む方法によってヒト細胞における TADG - 12 の発現を検出するのに有用である。

【 0 0 6 3 】

また、本発明は、配列番号 1 に記載のヌクレオチドの 1 から 2413 までのヌクレオチドの領域または配列番号 3 に記載のヌクレオチドの 1 から 2544 までのヌクレオチドの領域の 15 連続ヌクレオチド以上（好ましくは 20、より好ましくは 30、さらにより好ましくは 50、最も好ましくは全てのヌクレオチド）の配列を包含する実質的に純粋な DNA を含む。また、本発明は、その新規な DNA に対するアンチセンスオリゴヌクレオチドを含む。本発明の技術を考慮して、当業者は本 DNA に対するアンチセンスオリゴヌクレオチドを容易に開発することができる。

10

【 0 0 6 4 】

「非常に厳しい条件」は、例えば約 0.1 × SSC の塩濃度による 65° での洗浄条件のような、高温および低い塩濃度によって特徴付けされる DNA ハイブリダイゼーションおよび洗浄の条件、あるいは機能的にそれに対応するような条件を意味する。例えば、非常に厳しい条件として：50% ホルムアミドの存在下における約 42° でのハイブリダイゼーション；1% SDS を含有する約 2 × SSC による約 65° での 1 回目の洗浄；続く約 0.1 × SSC による約 65° での 2 回目の洗浄：が挙げられる。

20

【 0 0 6 5 】

「実質的に純粋な DNA」は、その環境中のいくつかのまたは全ての分子の分離（部分精製または全精製）によって、あるいは請求 DNA に隣接する配列の変化によって生じた、その DNA が自然に生じた環境の一部ではない DNA を意味する。従って、その用語は、例えば、ベクター、自律複製プラスミドもしくはウィルスに組み込まれたまたは原核生物または真核生物のゲノム DNA に組み込まれた組換え DNA、あるいは他の配列から独立した分離分子（例えば、cDNA、またはポリメラーゼ連鎖反応（PCR）または制限エンドヌクレアーゼ消化によって作成されたゲノムもしくは cDNA 断片）として存在する組換え DNA を含む。また、その用語は、例えば融合タンパク質のような追加のポリペプチド配列をコードするハイブリッド遺伝子の一部である組換え DNA を含む。また、その用語は、TADG - 12 の選択的スプライシング変異体（TADG - 12V）をコードする、配列番号 3 に示すヌクレオチドの一部を包含する組換え DNA を含む。

30

【 0 0 6 6 】

DNA は、配列番号 1 または配列番号 3 に記載のヌクレオチドのコード配列に対して、約 70% 以上、好ましくは 75% 以上（例えば 80% 以上）、最も好ましくは 90% 以上の配列同一性を有する。その 2 つの配列間の同一性はマッチングまたは同一位置の数の一次関数である。例えば 2 つの DNA 分子のそれぞれにおいて所定の位置がアデニンによって占められている場合のように、その 2 つの配列両方におけるサブユニット部位が同じ単量サブユニットで占められている場合に、その位置においてこれら 2 つの配列は同一である。例えば、長さが 10 ヌクレオチドの配列中の 7 つの位置が、第二の 10 ヌクレオチド配列中の対応する位置と同一である場合に、その 2 つの配列は 70% 配列同一性を有する。比較配列の長さは、通常、50 ヌクレオチド以上であり、好ましくは 60 ヌクレオチド以上、より好ましくは 75 ヌクレオチド以上、最も好ましくは 100 ヌクレオチドである。通常、配列分析ソフトウェア（Sequence Analysis Software Package of the Genetics Computer Group, University of Wisconsin Biotechnology Center, 1710 University Avenue, Madison, WI 53705）を用いて、配列同一性を測定する。

40

50

【 0 0 6 7 】

本発明は、ヒト T A D G - 1 2 タンパク質をコードする DNA 配列を包含するベクターを含み、そのベクターは、作動可能に結合した a) 複製起点； b) プロモーター；および c) T A D G - 1 2 タンパク質をコードする DNA 配列：を包含する宿主細胞において複製することができる。好ましくは、本発明のベクターは、配列番号 1 または配列番号 3 に示す DNA 配列の一部を包含する。「ベクター」は、例えばプラスミドまたはウィルス核酸のような複製可能な核酸構築物として定義される。T A D G - 1 2 タンパク質をコードする核酸を増幅および / または発現させるためにベクターを用いることができる。発現ベクターは、細胞においてポリペプチドの発現をもたらし得る適切な制御配列に、ポリペプチドをコードする核酸配列が作動可能に結合した複製可能な構築物である。そのような制御配列の必要性は、選択された細胞および選択された形質転換法に依存して変化するであろう。通常、制御配列は、転写プロモーターおよび / またはエンハンサー、適切な m R N A リボソーム結合部位、ならびに転写および翻訳の終結を制御する配列を含む。適切な転写および調節制御シグナルを包含する発現ベクターを構築するために、当業者に周知の方法を用いることができる。例えば、Sambrook et al., 1989, Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2nd Ed.), Cold Spring Harbor Press, N.Y. に記載の技術を参照のこと。転写制御配列が効率的に遺伝子の転写を制御する場合には、遺伝子およびその転写制御配列が「作動可能に結合している」と定義される。本発明のベクターとして、限定はされないが、プラスミドベクターおよびウィルスベクターが挙げられる。本発明の好ましいウィルスベクターは、レトロウィルス、アデノウィルス、アデノ随伴ウィルス、S V 4 0 ウィルスまたはヘルペスウィルスが挙げられる。10

【 0 0 6 8 】

「実質的に純粋なタンパク質」は、天然において付隨する成分の少なくともいくつかから分離されたタンパク質を意味する。通常、インビオにおいて目的タンパク質と共に自然に生じたタンパク質および天然の他の有機分子を含まないで 6 0 重量 % 以上の純度である場合に、そのタンパク質は実質的に純粋である。好ましくは、調製物の純度は、7 5 重量 % 以上、より好ましくは 9 0 重量 % 以上、さらに最も好ましくは 9 9 重量 % 以上である。例えば、天然供給源からの抽出によって； T A D G - 1 2 ポリペプチドをコードする組換え核酸の発現によって；またはタンパク質の化学合成によって：実質的に純粋な T A D G - 1 2 タンパク質を得ることができる。カラムクロマトグラフィー、T A D G - 1 2 に特異的な抗体を用いたイムノアフィニティクロマトグラフィー、ポリアクリルアミドゲル電気泳動または H P L C 分析のような任意の適切な方法によって純度を測定することができる。天然の状態で目的タンパク質に付隨する不純物の少なくともいくつかから分離された場合には、そのタンパク質は天然において付隨する成分を実質的に含まない。従って、化学的に合成されたまたはそれが天然において由来する細胞と異なる細胞系において産生されたタンパク質は、定義によれば、天然において付隨する成分を実質的に含まない。従つて、実質的に純粋なタンパク質は、大腸菌または他の原核生物において合成された原核生物タンパク質、あるいは自然に生じた任意の他の有機体を含む。30

【 0 0 6 9 】

実質的に完全長のタンパク質に加えて、本発明は T A D G - 1 2 タンパク質の断片（例えば抗原性断片）も含む。この中で用いられたポリペプチドに適用される「断片」は、一般的に 1 0 残基以上、より一般的に 2 0 残基以上、さらに好ましくは 3 0 残基以上（例えば 5 0 残基）の長さであるが、完全な無傷の配列より短い。例えば、天然のまたは組換えの T A D G - 1 2 タンパク質の酵素消化によって、または特定された T A D G - 1 2 の断片をコードする発現ベクターを用いた組換え DNA 技術によって、または化学合成によって、当業者に公知の方法で T A D G - 1 2 タンパク質の断片を作成することができる。この中に記載の方法によって、候補断片が T A D G - 1 2 の特性（例えば T A D G - 1 2 に特異的な抗体に結合する）を示す能力を評価することができる。当業者に公知の標準プロトコルによって、精製 T A D G - 1 2 または T A D G - 1 2 の抗原性断片を用いて新規な抗体を作成したまたは既存の抗体を試験する（例えば、診断的測定における陽性コントロール4050

として)ことができる。免疫原としてTADG-12またはTADG-12の断片を用いることによって例えばウサギにおいて作成されたポリクロナール抗血清も本発明に含まれる。当業者に公知であるモノクロナールおよびポリクロナール抗体作成の標準プロトコルを用いる。組換えTADG-12cDNAクローニングを同定する能力、および公知のcDNAクローニングからTADG-12cDNAクローニングを区別する能力について、本方法によって作成したモノクロナール抗体をスクリーニングすることができる。

【0070】

さらには、例えば選択的mRNAスプライシングまたは選択的タンパク質プロセッシング事象の産物のような配列番号1または配列番号3の一部によって少なくともその一部がコードされているTADG-12タンパク質、あるいはTADG-12の配列の一部分が欠失しているTADG-12タンパク質も本発明に含まれる。例えば標識、リガンドまたは抗原性を高める手段として作用するような別のポリペプチドに、その断片または完全TADG-12ポリペプチドを共有結合させて差し支えない。

【0071】

また、本発明は、TADG-12に特異的に結合するポリクロナールまたはモノクロナール抗体も含む。本発明は、完全なモノクロナール抗体のみならず、例えばFabまたは(Fab)₂断片；人工单鎖Fv分子；または例えばマウス由来の1つの抗体の結合特異性および例えばヒト由来の別の抗体の残りの部分を有する抗体のようなキメラ分子；等の免疫活性抗体断片も含む。

【0072】

1つの実施形態において、抗体またはその断片を毒素、または放射性標識、非放射性同位体標識、蛍光標識、化学ルミネセンス標識、常磁性標識、酵素標識または比色標識等の検出可能な標識に結合させて差し支えない。適切な毒素の例として、ジフテリア毒素、シュードモナス内毒素A、リシンおよびコレラ毒素が挙げられる。適切な酵素標識として、リンゴ酸ヒドロゲナーゼ、ブドウ球菌ヌクレアーゼ、-5-ステロイドイソメラーゼ、アルコール脱水素酵素、-グリセロールリン酸デヒドロゲナーゼ、トリオースリン酸イソメラーゼ、ペロキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、アスパラギナーゼ、グルコースオキシダーゼ、-ガラクトシダーゼ、リボヌクレアーゼ、ウレアーゼ、カタラーゼ、グルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ、グルコアミラーゼ、アセチルコリンエ斯特ラーゼ等が挙げられる。適切な放射性標識として、³H、¹²⁵I、¹³¹I、³²P、³⁵S、¹⁴C等が挙げられる。

【0073】

本発明の方法に基づいて、インビオ診断のために常磁性同位体を用いて差し支えない。磁気共鳴映像法において有用である元素について多くの例がある。インビオでの核磁気共鳴映像法について検討するために、例えば、Schaefer et al., (1989) JACC 14, 472-480; Shreve et al., (1986) Magn. Reson. Med. 3, 336-340; Wolf, G.L., (1984) Physiol. Chem. Phys. Med. NMR 16, 93-95; Wesbey et al., (1984) Physiol. Chem. Phys. Med. NMR 16, 145-155; Runge et al., (1984) Invest. Radiol. 19, 408-415を参照。適切な蛍光標識の例として、イソチオシアネート標識、ローダミン標識、フィコエリスリン標識、フィコシアニン標識、アロフィコシアニン標識、オフタルデヒド(ophthaldehyde)標識、フルオレサン標識等が挙げられる。化学ルミネセンス標識の例として、ルミナル標識、イソルミナル標識、芳香族アクリジニウムエステル標識、イミダゾール標識、アクリジニウム塩標識、シュウ酸エステル標識、ルシフェリン標識、ルシフェラーゼ標識、エクオリン標識等が挙げられる。

【0074】

当業者は、本発明に基づいて用い得る他の適切な標識を知っているであろう。当業者に公知の標準技術を用いて、それら標識を抗体またはその断片に結合させることができる。一般的な技術は、Kennedy et al., (1976) Clin. Chim. Acta 70, 1-31; and Schurs et al., (1977) Clin. Chim. Acta 81, 1-40に記載されている。後者の文献に記載のカップリング技術はグルタールアルデヒド法、過ヨウ素酸法、ジマレイミド法、m-マレイミドベ

10

20

30

40

50

ンジル - N - ヒドロキシ - スクシニミドエステル法である。それら方法の全てが参照によってこの中に組み込まれる。

【 0 0 7 5 】

生物試料中の T A D G - 1 2 タンパク質を検出する方法も本発明の範囲内であり、その方法は、例えば放射性にタグ付けした T A D G - 1 2 特異的抗体のような標識抗体と試料とを接触させ、さらにその抗体が試料中の成分に結合したか否かを特定する工程を含む。

【 0 0 7 6 】

この中に記載のように、本発明は多くの診断的利点および用途を提供する。例えば、本発明において開示された T A D G - 1 2 タンパク質は、そのタンパク質が腫瘍細胞において高度に過剰発現されていることから、様々な組織における癌を診断するのに有用である。

10

T A D G - 1 2 に特異的なエピトープに結合する抗体（またはその抗原結合断片）は癌または新生物の形質転換を診断するための生物試料中の T A D G - 1 2 タンパク質を検出する方法において有用である。その方法は、癌を有することが疑わしい患者から生物試料（例えば細胞、血液、血漿、組織等）を採取し、さらに E L I S A のような標準免疫測定技術を用いて T A D G - 1 2 を検出する工程を含む。生物試料に対する抗体結合は、その試料が T A D G - 1 2 内のエピトープに特異的に結合する成分を含むことを示唆する。

【 0 0 7 7 】

同様に、標準のノーザンプロット法を用いて、当業者に公知の従来のノーザンハイブリダイゼーション技術に基づいて、癌を有することが疑わしい細胞または組織中における T A D G - 1 2 m R N A の相対的量を確かめることができる。そのノーザン法は、例えば、配列番号 1 または配列番号 3 に相補的である配列を有する完全長の一本鎖 D N A 、あるいは 20 以上（好ましくは 30 以上、より好ましくは 50 以上、さらに最も好ましくは 100 以上の連続ヌクレオチドの長さ）の上記 D N A 配列の断片の何れかを包含する放射性標識 T A D G - 1 2 c D N A のようなハイブリダイゼーションプローブを用いる。当業者に周知の任意の多くの異なる方法によってその D N A ハイブリダイゼーションプローブを標識することができる。

20

【 0 0 7 8 】

免疫測定において T A D G - 1 2 タンパク質に対する抗体を用いて、新生物性形質転換の疑いが高い組織における T A D G - 1 2 タンパク質発現レベルの上昇を検出することができる。ノーザンプロット法および分析を用いてそれら同じ用途を達成できる。

30

【 0 0 7 9 】

本発明は、(a) T A D G - 1 2 タンパク質をコードする単離 D N A 断片；(b) 上記(a)の単離 D N A 断片に対してハイブリダイズし、かつ T A D G - 1 2 タンパク質をコードする単離 D N A 断片；(c) 遺伝暗号の縮重のためコドン配列において上記(a)および(b)の単離 D N A 断片と異なり、かつ T A D G - 1 2 タンパク質をコードする単離 D N A 断片：より成る群から選択された T A D G - 1 2 タンパク質をコードする D N A 断片に関する。好ましくは、その D N A は、配列番号 1 または配列番号 3 に示す配列を有する。より好ましくは、その D N A は配列番号 2 または配列番号 4 に示すアミノ酸配列を有する T A D G - 1 2 タンパク質をコードする。

40

【 0 0 8 0 】

また、本発明は、本発明の D N A を発現し得るベクターおよび / または宿主細胞に関する。好ましくは、そのベクターは、配列番号 2 または配列番号 4 に示すアミノ酸配列を有する T A D G - 1 2 タンパク質をコードする D N A を包含する。代表的宿主細胞として、細菌細胞、酵母細胞、哺乳類細胞および昆虫細胞が挙げられる。

【 0 0 8 1 】

また、本発明は(a) T A D G - 1 2 タンパク質をコードする単離 D N A ；(b) 上記(a)の単離 D N A に対してハイブリダイズし、かつ T A D G - 1 2 タンパク質をコードする単離 D N A ；(c) 遺伝暗号の縮重のためコドン配列において上記(a)および(b)の単離 D N A と異なり、かつ T A D G - 1 2 タンパク質をコードする単離 D N A : より成る群から選択された D N A によってコードされる単離および精製した T A D G - 1 2 タン

50

パク質に関する。好ましくは、その単離および精製したTADG-12タンパク質は配列番号2または配列番号4に示すアミノ酸配列を有する。

【0082】

また、本発明は、(a)細胞から採取したmRNAを標識ハイブリダイゼーションプローブと接触させ；さらに(b)そのプローブとmRNAとのハイブリダイゼーションを検出する：工程を含む、この中に記載のTADG-12タンパク質の発現を検出する方法に関する。

【0083】

切断産物TADG-12Vを含む、TADG-12遺伝子および遺伝子産物のための多くの潜在的用途がある。

10

【0084】

本発明の1つの実施形態において、生物試料中のTADG-12タンパク質を検出することによって癌を診断する方法を提供しており、その方法において、TADG-12タンパク質の存在または不在が癌の存在または不在を示唆する。好ましくは、生物試料は、血液、尿、唾液、涙液、間質液、腹水、腫瘍組織生検試料および循環腫瘍細胞である。さらに好ましくは、TADG-12タンパク質の検出は、ノーザンプロット、ウェスタンプロット、ドットプロット、ELISAサンドイッチ法、ラジオイムノアッセイ、DNAアレイチップおよびフローサイトメトリーより成る群から選択される手段によって成される。卵巣癌、乳癌、肺癌、結腸癌、前立腺癌、およびTADG-12が過剰発現する他の癌を検出するためにそのような方法を用いる。

20

【0085】

本発明の別の実施形態において、生物試料中におけるTADG-12タンパク質またはTADG-12mRNAを検出することによって悪性過形成を検出する方法を提供する。さらに、TADG-12タンパク質またはTADG-12mRNAを基準情報と比較することによって、診断または治療を提供することができる。好ましくは、TADG-12mRNAを検出するためにPCR增幅を用い、ここで用いられるプライマーは配列番号28-31より成る群から選択される。さらに好ましくは、TADG-12タンパク質に対する抗体への免疫親和性によって、TADG-12タンパク質の検出を行う。

【0086】

本発明のさらに別の実施形態において、発現に必要な要素に作動可能に結合した逆配向のTADG-12のDNA断片を包含するベクターを導入することによって、細胞中の内因性TADG-12mRNAの発現を阻害する方法を提供する。結果として、そのベクターは細胞中においてTADG-12アンチセンスmRNAを产生し、そのアンチセンスmRNAは内因性TADG-12mRNAにハイブリダイズし、それによって内因性TADG-12mRNAの発現を阻害する。

30

【0087】

本発明のさらに別の実施形態において、TADG-12タンパク質またはその断片に対する抗体を導入することによってTADG-12タンパク質の発現を阻害する方法を提供する。結果として、その抗体がTADG-12タンパク質またはその断片に結合することによって、TADG-12タンパク質の発現を阻害する。

40

【0088】

切断形態を含むTADG-12遺伝子産物をターゲット治療のために用いることができる。詳細には、そのような治療を必要とする個体に、TADG-12タンパク質に特異的なターゲット部分および治療部分を有する化合物を投与する。好ましくは、ターゲット部分は、TADG-12タンパク質に治する抗体およびTADG-12タンパク質に結合するリガンドまたはリガンド結合領域より成る群から選択される。TADG-12タンパク質は、配列番号2および配列番号4に示すアミノ酸配列を有する。好ましくは、治療部分は、放射性同位体、毒素、化学療法剤、免疫促進剤および細胞傷害性物質より成る群から選択される。卵巣癌、肺癌、前立腺癌、結腸癌およびTADG-12が過剰発現する他の癌より成る群から選択される疾患を有する個体を治療するために、そのような方法を用いる

50

ことができる。

【0089】

本発明のさらに別の実施形態において、個体に TADG - 12 タンパク質またはその断片を接種することによって、個体に TADG - 12 に対するワクチン接種を行いまたは免疫反応を生じさせる方法を提供する。詳細には、TADG - 12 タンパク質またはその断片は、TADG - 12 活性を欠き、その接種によって個体中に免疫反応を誘導し、それによつて個体に TADG - 12 に対するワクチン接種を行う。好ましくは、その個体は、癌を有し、癌を有する疑いが高く、あるいは癌になる危険性がある。さらに好ましくは、TADG - 12 タンパク質は、配列番号 2 または配列番号 4 に示すアミノ酸配列を有するが、一方 TADG - 12 断片は配列番号 8 に示す配列を有しまたは 9 残基断片から 20 残基断片までの断片である。9 残基断片の例として、配列番号 35、36、55、56、83、84、97、98、119、120、122、123 および 136 が示されている。
10

【0090】

本発明のさらに別の実施形態において、TADG - 12 タンパク質の免疫原断片および適切なアジュバントを含む免疫原組成物を提供する。好ましくは、TADG - 12 タンパク質の免疫原断片は、配列番号 8 に示す配列を有し、あるいは 9 残基断片から 20 残基断片までの断片である。9 残基断片の例として、配列番号 35、36、55、56、83、84、97、98、119、120、122、123 および 136 が示されている。

【0091】

以下の実施例は、本発明の種々の実施形態を例示する目的で与えられており、何ら本発明を限定することを意図していない。
20

【0092】

実施例 1

組織採取および保存

患者の子宮摘出、両方の卵巣摘出、または新生組織の外科的除去の際に、標本を回収して氷上に置いた。特定組織試料の単離および同定のために、その標本を研修医の病理学者に渡した。最終的に、液体窒素中においてその試料を凍結し、実験記録に記入して、-80 に保存した。時々、ヒト組織ネットワーク協会 (CHTN) から追加の標本を得た。これら試料は CHTN によって調製され、ドライアイスに入れて出荷された。到達すると、これら標本を実験記録に記入して、-80 で保存した。
30

【0093】

実施例 2

mRNA 抽出および cDNA 合成

69 の卵巣腫瘍 (4 の良性腫瘍、10 の低悪性潜在的腫瘍 (low malignant potential tumor)、および 55 の癌)、ならびに 10 の正常卵巣を外科的標本から得て、液体窒素中において凍結した。American Type Culture Collection(Rockville, MD) から、ヒト卵巣癌細胞株 SW626 および Caov3、ヒト乳癌細胞株 MDA-MB-231 および MDA-MB-435S を購入した。10% (v/v) ウシ胎児血清および抗生物質を補足したダルベッコの調製イーグル培地中において、サブコンフルエントになるまで細胞を培養した。
40

【0094】

以前記載された方法 [14 - 16] によって、mRNA の抽出および cDNA 合成を実施した。RiboSep mRNA 単離キット (Becton Dickinson Labware) を用いて mRNA を単離した。その方法において、オリゴ(dT) セルロースを介したアフィニティーコロマトグラフィーを用いて、組織溶解物からポリ A + mRNA を直接単離した。第一鎖 cDNA 合成キット (CLONTECH) を用いたランダムヘキサマー プライミング (random hexamer priming) によって、mRNA (5.0 μg) を用いて cDNA を合成した。

【0095】

実施例 3

重複プライマーを用いた PCR および TADG - 12 cDNA のクローニング

10

20

30

40

50

セリンプロテアーゼのための触媒三つ組残基の周囲のアミノ酸のコンセンサス配列のための重複プライマーとして、前進の 5' - T G G G T I G T I A C I G C I G C I C A (C T) T G - 3' (配列番号 26)、および反対の 5' - A (A G) I A (A G) I G C I A T I T C I T T I C C - 3' (配列番号 27) を用いて、正常および癌の cDNA からの産物を比較した。プロメガ T - ベクタープラスミド中に適切なバンドを連結し、さらに選択培地で増殖する JM109 細胞 (Promega) を形質転換するためにその連結産物を用いた。個々のコロニーを選択した後、それらコロニーを培養し、さらにウィザードミニプレップ DNA 精製システム (Promega) によってプラスミド DNA を単離した。PRISM Ready Reaction Dye Deoxy ターミネーター サイクルシークエンスキット (Applied Biosystems) を用いて、ヌクレオチド配列決定を実施した。直接 cDNA 配列決定のために、Applied Biosystems モデル 373A DNA シークエンスシステムを用いた。

【0096】

初代の TAG-12 サブクローンを無作為に標識して、標準ハイブリダイゼーション技術 [11, 15] によって卵巣腫瘍 cDNA ライブラリーをスクリーニングするためのプローブとして用いた。そのライブラリーは、ステージ III / グレード III の卵巣腺癌患者の癌細胞から単離した mRNA を用いて、ZAP 中において構築された。2315 ヌクレオチドの長さの 3 つの重複するクローンを得た。遺伝子バンク EST データベースにおいて利用可能なクローンとの相同性によって、ポリ A テイルを含むほとんどの 3' 配列をコードする最後の 99 ヌクレオチドを同定した。

【0097】

実施例 4

定量的 PCR

定量的 PCR を用いて、TAG-12 の mRNA 過剰発現を特定した。以前報告された方法 [16] に基づいて、定量的 PCR を実施した。オリゴヌクレオチドプライマーとして：TAG-12 のために、前進の 5' - G A A A C A T G T C C T T G C T C T C G - 3' (配列番号 28)、および反対の 5' - A C T A A C T T C C A C A G C C T C C T - 3' (配列番号 29)；変異 TAG-12 のために、5' - T C C A G G T G G G T C T A G T T C C - 3' (配列番号 30)、反対の 5' - C T C T T T G G C T T G T A C T T G C T - 3' (配列番号 31)； - チューブリンのために、前進の 5' - C G C A T C A A C G T G T A C T A C A A - 3' (配列番号 32)、反対の 5' - T A C G A G C T G G T G G A C T G A G A - 3' (配列番号 33)；を用いた。内部対照として - チューブリンを利用した。PCR 反応混合物は、最終容積 25 μl 中に、反応バッファー (Promega) と共に、mRNA (5.0 ng) から誘導された cDNA、TAG-12 遺伝子および - チューブリン遺伝子のためのセンスおよびアンチセンスプライマー (5 pmol)、dNTPs (200 μmol)、-³²P dCTP (5 μCi)、ならびに Taq DNA ポリメラーゼ (0.25 unit) を含む。 - チューブリン遺伝子と並行させて、ターゲット配列を增幅した。サーマルサイクラー (Thermal Cycler) (Perkin-Elmer Cetus) において、PCR を 30 サイクル実施した。PCR の各サイクルは、94 °C の 30 秒間の変性、60 °C の 30 秒間のアニーリング、および 72 °C の 30 秒間の伸長を含む。2% アガロースゲル上で PCR 産物を分離し、さらに、ホスホイメージヤー (Molecular Dynamics) を用いることによって、各 PCR 産物の放射能を特定した。本研究は、ホスホイメージヤーによって測定した発現比 (TAG-12 / - チューブリン) を用いて遺伝子発現を評価し、さらに、正常卵巣の平均値 + 2SD を、過剰発現を特定するためのカットオフ値として定義した。正常卵巣と腫瘍の平均値を比較するために、student's t test を用いた。

【0098】

実施例 5

TADG-12 / TAG-12 V の配列決定

クローニング部位近くのプラスミド特異的プライマーを利用して、使用説明書に従って、PRISM™ Ready Reaction Dye Deoxy™ ターミネーター (Applied Biosystems cat#401384)

10

20

30

40

40

40

50

を用いて配列決定反応を実施した。Centri-stepTMスピンカラム(Princeton Separation cat.# CS-901)を用いて、完了した配列決定反応から残留染色ターミネーターを除去した。Applied Biosystemsモデル373A DNAシークエンスシステムを利用可能であり、配列分析のために用いた。

【0099】

実施例6

抗体産生

TADG-12カルボキシ末端タンパク質配列であるNH₂-WIHEQMERDLKT-COOH(WIHEQMERDLKT、配列番号34)由来の多価抗原ペプチドにポリリジンを結合させたものでホワイトニュージーランドウサギを免疫することによって、ポリクロナルウサギ抗体を作成した。そのペプチドは、完全長TADG-12中に存在するが、TADG-12Vには存在しない。Rabbitアジュvant中において乳化させたペプチド(約100μg)でウサギを免疫した。続く追加免疫を6週間に3回実施し、さらに最終免疫の10日後に、ウサギの血清を採取した。ドットプロット分析によって血清を試験して、TADG-12特異的ペプチドに対する親和性を特定した。ウサギの免疫前血清を陰性対照として用いた。

【0100】

実施例7

ノーザンプロット分析

1%ホルムアルデヒド-アガロースゲルにmRNA(10μg)を装填し、電気泳動し、さらにHybond-N+ナイロン膜(Amersham)上にプロットした。Prime-a-Gene標識システム(Promega)によって、³²P標識cDNAプローブを作成した。上記と同じプライマーによって増幅したPCR産物をプローブのために用いた。プロットを30分間プレハイブリダイズさせ、さらにExpressHybハイブリダイゼーション溶液(CLONTECH)中の³²P標識cDNAプローブと、68℃で60分間ハイブリダイズさせた。-チューブリンプローブを用いて、相対的ゲル装填量を特定するための対照ハイブリダイゼーションを実施した。

【0101】

同じハイブリダイゼーション法によって、正常なヒト組織；脾臓、胸腺、前立腺、精巣、卵巣、小腸、結腸および末梢血白血球、ならびに正常ヒト胎児組織；脳、肺、肝臓および腎臓を評価した(Human Multiple Tissue Northern Blot; CLONTECH)。

【0102】

実施例8

免疫組織化学

Vectastain Elite ABCキット(Vector)を用いて、免疫組織化学染色を実施した。ホルマリン固定およびパラフィン包埋した標本をいつものように脱パラフィン処理し、さらに、0.01Mクエン酸ナトリウムバッファー(pH6.0)中においてマイクロ波熱処理を用いて処理した。加湿チャンバー中において30分間、正常なヤギ血清と共にその標本をインキュベートした。加湿チャンバー中において1時間、TADG-12ペプチド抗体をその標本と共にインキュベートした。リン酸緩衝生理食塩水で過剰な抗体を洗浄して除いた。ビオチン化抗ウサギIgGと共に30分間インキュベートした後、その標本をABC試薬(Vector)と共に30分間インキュベートした。ABC基質系(DAKO)を用いて最終産物を可視化し、さらに標本にする前にヘマトキシリソで対比染色した。一次抗体の代わりに正常血清を用いることによって、陰性対照を実施した。

【0103】

実施例9

TADG-12およびTADG-12変異体の触媒領域サブクローンの単離

卵巣腫瘍において発現されているセリンプロテアーゼを同定するために、それら酵素の触媒三つ組残基の保存領域に対して設計された重複PCRプライマーを用いた。鋳型としての正常卵巣または卵巣腫瘍の何れかのcDNAと共に、保存ヒスチジンの周囲の領域に対して設計されたセンスプライマー、および保存アスパラギン酸の周囲の領域に対して設計

10

20

30

40

50

されたアンチセンスプライマーを用いた。卵巣腫瘍 c DNA との反応において、約 180 bp の予測されたサイズの強い産物のバンド、ならびにいくつかの卵巣腫瘍 c DNA において強い発現を示した約 300 kb の予測外の PCR 産物が観察された（図 1A）。それら PCR 産物の両方をサブクローニングし、さらに配列決定した。180 bp バンドからのサブクローニングの配列（配列番号 5）は、大きい方のバンドが 133 ヌクレオチドの追加の挿入部分を有することを除いて、その大きい方の予測外のバンドにおいて同定された配列（配列番号 7）に相同であることが見出された（図 1B）。適切なサイズの小さい方の産物は他の公知のプロテアーゼと相同であるタンパク質配列（配列番号 6）をコードするが、一方、挿入部分（配列番号 8）を有する配列はセリンプロテアーゼ触媒領域からのフレームシフト、およびそれに続く未熟な翻訳終止コドンをコードする。また、4つの各腫瘍由来の TADG - 12 変異体をサブクローニングし、さらにその配列を決定した。その配列および挿入部分は一致することが分かった。PCR によってそれら c DNA 派生クローニングのゲノム配列を増幅しつつ調べて、変異転写産物をもたらすであろう潜在的な AG / GT スプライシング部位を包含することがわかった。10

【0104】

実施例 10

TADG - 12 発現のノーザンプロット分析

転写サイズおよび組織分布を調べるために、触媒領域サブクローニングを無作為に標識して、正常卵巣組織、卵巣腫瘍、ならびに癌細胞株 SW626、CAOV3、HeLa、MD-MBA - 435S および MD-MBA - 231 のノーザンプロットを調べるのに用いた（図 2）。2.4、1.6 および 0.7 kb の 3 つの転写物が観察された。正常卵巣および卵巣腫瘍のプロットにおいて、正常卵巣では最も小さい転写サイズの 0.7 kb のバンドの発現が低かったが、一方、漿液性癌では全ての転写物（2.4、1.6 および 0.7 kb）が異常に存在していた。さらには、正常ヒト組織：臍臓、胸腺、前立腺、精巣、卵巣、小腸、結腸および末梢血白血球、ならびに正常ヒト胎児組織：脳、肺、肝臓および腎臓についてノーザンプロットを調べた。同じ 3 つの転写物が全てのそれら組織において弱く発現されていることが分かった（データは示していない）。相対的な試料装填量の対照として、ヒト - チューブリン特異的プローブを利用した。さらには、50 のヒト組織について RNA ドットプロットを調べて、示された全ての組織において、そのクローニングが弱く発現されていることを特定した（図 3）。心臓において最も高いレベルであり、被殻、扁桃、腎臓、肝臓、小腸、骨格筋および副腎において中間レベルであることが分かった。20

【0105】

実施例 11

TADG - 12 の配列決定および特徴付け

プローブとして触媒領域サブクローニングを用い、標準ハイブリダイゼーション技術によって、ZAP 中に構築された卵巣腫瘍 c DNA ライブラリーをスクリーニングした。プローブと重複した 2 つのクローニングを同定し、さらに 2316 ヌクレオチドに相当することが分かった。遺伝子バンクの EST データベースにおいて利用可能なクローニングとの相同性によって、ポリ - アデニル化シグナルおよびポリ (A) テイルを包含するその転写物の 3' 末端の 97 ヌクレオチドを同定した。これによって、転写物の全サイズを 2413 塩基とした（配列番号 1、図 4）。それに続く遺伝子バンクのゲノムデータベースのスクリーニングは、TADG - 12 が 17 染色体からのコスマドに相同であることを示した。そのコスマドは登録番号 AC015555 を有する。30

【0106】

同定された c DNA は、腫瘍関連差別的発現遺伝子 12 (TADG - 12) と称される、454 アミノ酸（配列番号 2）から成る予測タンパク質を产生するであろうオープンリーディングフレームを包含する。その配列を遺伝子バンクデータベースに提出して、登録番号 # AF201380 を与えられた。相同配列プログラムを用いたところ、そのタンパク質は、アミノ末端細胞質領域、潜在的な II 型膜貫通領域およびそれに続く低密度リポタンパク質受容体様クラス A 領域（LDLR - A）、スカベンジャー受容体システインリッチ40

領域 (S R C R) 、および細胞外セリンプロテアーゼ領域等のいくつかの領域を包含する。

【 0 1 0 7 】

T^M P r e d プログラムによって予測したところ、T A D G - 1 2 は潜在的な膜貫通領域として働き得る疎水性の高いアミノ酸領域を包含し、その領域は細胞質内にタンパク質のアミノ末端を残して、リガンド結合領域およびプロテアーゼ領域を細胞外空間に曝している。その一般構造はヘプシン [1 7] および T M P R S S [1 8] 等の他の公知の膜貫通型プロテアーゼと一致し、さらに T A D G - 1 2 は T M P R S S 2 プロテアーゼにその構造が特に類似している。

【 0 1 0 8 】

T A D G - 1 2 の L D L R - A 領域は、アミノ酸 7 4 から 1 0 8 の配列（配列番号 1 3 ）によって表される。L D L R - A 領域は、当初は、L D L 受容体内において、6 不変システイン残基および高度に保存されたアスパラギン酸およびグルタミン酸残基を包含する一連の約 4 0 アミノ酸の反復配列として同定された [1 9] 。その最初の同定以来、その領域に相同なモチーフを包含する多数の他の遺伝子が同定された [2 0] 。マトリプターゼ、T M P R S S 2 およびいくつかの補体成分等の L D L R - A モチーフを包含するいくつかのプロテアーゼが同定された。T A D G - 1 2 と他の公知の L D L R - A 領域との比較を図 5 A に示す。それら配列の類似性は、4 4 % から 5 4 % の類似または同一アミノ酸の範囲である。

【 0 1 0 9 】

L D L R - A 領域に加えて、T A D G - 1 2 は、S R C R ファミリーの A 群に対する相同意を有する別の細胞外リガンド結合領域を包含する。そのタンパク質領域のファミリーは、一般的に、約 1 0 0 アミノ酸から成る配列内の 6 システイン残基の保存によって定義される [2 3] 。T A D G - 1 2 の S R C R 領域は、アミノ酸 1 0 9 から 2 0 6 によってコードされ（配列番号 1 7 ）、その領域を他の S R C R 領域と整列させることによって、3 6 % から 4 3 % の間の類似性を有することが分かった（図 5 B ）。しかしながら、T A D G - 1 2 は 6 つの保存システイン残基の内 4 つしか持たない。このことは、プロテアーゼ T M P R S S 2 において認められる S R C R 領域に類似する。

【 0 1 1 0 】

また、T A D G - 1 2 タンパク質は、プロテアーゼのチロシンファミリーのセリンプロテアーゼ領域を包含する。T A D G - 1 2 の触媒領域を他の公知のプロテアーゼと整列させて図 5 C に示す。それら配列間の類似性は、4 8 % から 5 5 % の範囲であり、T A D G - 1 2 はセリンプロテアーゼ T M P R S S 2 に最も類似しており、T M P R S S 2 も膜貫通領域、L D L E - A 領域および S R C R 領域を包含する。S R C R 領域の下流側に、そのファミリーの多くのセリンプロテアーゼに共通の潜在的な分解 / 活性化部位である保存アミノ酸モチーフ（R I V G G ）がある [2 5] 。このことは、T A D G - 1 2 が細胞表面に運ばれ、そこで、リガンド結合領域が細胞外分子と相互作用することができかつプロテアーゼ領域が潜在的に活性化されることを示唆する。また、T A D G - 1 2 は保存システイン残基（アミノ酸 2 0 8 および 2 4 3 ）を包含しており、その残基は、他のプロテアーゼにおいて、活性化プロテアーゼを他の細胞外領域に結合させ得るジスルフィド結合を形成する。

【 0 1 1 1 】

実施例 1 2

選択的転写産物の定量的 P C R による特徴付け

本来の T A D G - 1 2 サブクローンは、最初の重複プライマー P C R 実験において高発現されているとして同定された。1 3 3 b p の挿入部分を有する T A D G - 1 2 変異体（T A D G - 1 2 V ）もその最初の実験において容易に検出された。その発現の頻度、および正常卵巣と卵巣腫瘍との間でその発現レベルが異なるか否かを特定するために、既に認証されている半定量的 P C R 技術を用いた [1 6] 。P C R 分析において、放射性標識ヌクレオチドの存在下、T A D G - 1 2 または T A D G - 1 2 V の何れかに特異的な産物と共に

10

20

30

40

50

に、 - チューブリンの産物を同時増幅させた。アガロースゲル電気泳動によってその産物を分離し、さらに各 P C R 産物の相対的装填量を定量化するためにホスホイメージヤーを用いた。T A D G - 1 2 および T A D G - 1 2 V の両方におけるそれら増幅産物の例を図 6 に示す。正常卵巣試料中において調べた - チューブリンに対する T A D G - 1 2 (または T A D G - 1 2 V) の平均比 + / - 2 S D として、正常な発現を定義した。その結果を表 1 および表 2 に要約する。T A D G - 1 2 は評価した 5 5 の癌の内 4 1 において過剰発現されているが、一方、変異体は 2 2 の癌の内 8 において異常に高いレベルで存在することが認められた。student ' s t test によって特定したところ、それらの差は統計的に有意であった (p < 0 . 0 5) 。

【 0 1 1 2 】

10

【表 1 】

表1

卵巣癌における T A D G - 1 2 の過剰発現の頻度

組織型	T A D G - 1 2 (%)
正常	0 / 1 6 (0 %)
L M P - 漿液性	3 / 6 (5 0 %)
L M P - 粘液性	0 / 4 (0 %)
漿液性癌	2 3 / 2 9 (7 9 %)
粘液性癌	7 / 1 2 (5 8 %)
子宮内膜癌	8 / 8 (1 0 0 %)
明細胞癌	3 / 6 (5 0 %)
良性腫瘍	3 / 4 (7 5 %)

過剰発現 = 正常卵巣の平均値よりも 2 標準偏差以上大きい

L M P = 低悪性潜在的腫瘍

【表 2 】

表2

20

卵巣癌における T A D G - 1 2 V の過剰発現の頻度

組織型	T A D G - 1 2 V (%)
正常	0 / 1 0 (0 %)
L M P - 漿液性	0 / 5 (0 %)
L M P - 粘液性	0 / 3 (0 %)
漿液性癌	4 / 1 4 (2 9 %)
粘液性癌	3 / 5 (6 0 %)
子宮内膜癌	1 / 3 (3 3 %)
明細胞癌	N / D

30

過剰発現 = 正常卵巣の平均値よりも 2 標準偏差以上大きい

L M P = 低悪性潜在的腫瘍

40

実施例 1 3

卵巣腫瘍細胞における T A D G - 1 2 の免疫組織化学分析

T A D G - 1 2 タンパク質について調べるために、カルボキシ末端のアミノ酸配列中に位置するペプチドに対するポリクロナルウサギ抗血清を開発した。それら抗体を用いて、T A D G - 1 2 タンパク質の発現レベルを調べ、さらに免疫学的局在決定によって正常卵巣および卵巣腫瘍細胞内でのその局在性を調べた。正常卵巣組織では全く染色が観察されなかった (図 7 A) が、一方、試験した 2 9 の腫瘍の内 2 2 において顕著な染色が観察さ

50

れた。図 7 B および 7 C において、代表的腫瘍試料を示している。TADG-12 は細胞質に亘り広汎に認められ、輸送経路中のタンパク質であることが示唆されることに注意すべきである。また、予想通り、それら腫瘍試料において、TADG-12 は細胞表面において認められる。免疫組織化学分析のために開発されかつ用いられた抗体は TADG-12 V 切断タンパク質を検出しないことに注意すべきである。

【 0 1 1 3 】

免疫組織化学染色の結果を表 3 に要約する。29 の卵巣腫瘍の内 22 が TADG-12 の陽性染色を示したが、正常卵巣上皮は TADG-12 抗原の発現を全く示さなかった。10 の漿液性腺癌の内 8 つ、8 の粘液性腺癌の内 8 つ、2 の明細胞癌の内 1 つ、さらに 6 の子宮内膜癌の内 4 つが陽性染色を示した。

【 0 1 1 4 】

【表 3】

表3

事例	ステージ	組織	グレード	L N*	T A D G - 1 2	予後	
1		正常卵巣			0-		
2		正常卵巣			0-		
3		正常卵巣			0-		
4		粘液性B		N D	0-	生存	
5		粘液性B		N D	1+	生存	
6	1 a	漿性L M P	G 1	N D	1+	生存	10
7	1 a	粘液性L M P	G 1	N D	1+	生存	
8	1 a	粘液性C A	G 1	N D	1+	生存	
9	1 a	粘液性C A	G 2	N D	1+	生存	
10	1 a	子宮内膜C A	G 1	N D	0-	生存	
11	1 c	漿液性C A	G 1	N	1+	生存	
12	1 c	粘液性C A	G 1	N	1+	生存	
13	1 c	粘液性C A	G 1	N	2+	生存	
14	1 c	明細胞C A	G 2	N	0-	生存	
15	1 c	明細胞C A	G 2	N	0-	生存	20
16	2 c	漿液性C A	G 3	N	2+	生存	
17	3 a	粘液性C A	G 2	N	2+	生存	
18	3 b	漿液性C A	G 1	N D	1+	生存	
19	3 c	漿液性C A	G 1	N	0-	死亡	
20	3 c	漿液性C A	G 3	P	1+	生存	
21	3 c	漿液性C A	G 2	P	2+	生存	
22	3 c	漿液性C A	G 1	P	2+	不明	
23	3 c	漿液性C A	G 3	N D	2+	生存	
24	3 c	漿液性C A	G 2	N	0-	死亡	30
25	3 c	粘液性C A	G 1	P	2+	死亡	
26	3 c	粘液性C A	G 2	N D	1+	不明	
27	3 c	粘液性C A	G 2	N	1+	生存	
28	3 c	子宮内膜C A	G 1	P	1+	死亡	
29	3 c	子宮内膜C A	G 2	N	0-	生存	
30	3 c	子宮内膜C A	G 2	P	1+	死亡	
31	3 c	子宮内膜C A	G 3	P	1+	生存	
32	3 c	明細胞C A	G 3	P	2+	死亡	

L N* = リンパ節 : B = 良性 ; N = 陰性 ; P = 陽性 ; N D = 未実施

40

実施例 1 4

ペプチドの順位付け

ワクチンまたは免疫刺激のために、それぞれ 9 - マーから 11 - マーの T A D G - 1 2 タンパク質を調べて、一般人口の上位 8 つのハプロタイプに対する各ペプチドの結合を順位付けした [Parker et al., (1994)]。http://www-bimas. dcrt. nih. gov/molbio/hla-bind/において、その分析に用いられるコンピュータープログラムを見つけることができる。表 4 は、各ペプチドの特定 H L A 対立遺伝子に対する結合の予測半減期に基づくペプチドの順位付けを示す。より長い半減期は、そのペプチドと特定 H L A 分子とのより強い結合を示唆する。H L A 対立遺伝子に対して強く結合する T A D G - 1 2 ペプチドは推定

50

上の免疫原であり、かつ個体に T A D G - 1 2 に対するワクチン接種を行うために用いられる。

【 0 1 1 5 】

【表 4】

表4

T A D G - 1 2 ペプチド順位付け

<u>H L A型&順位付け</u>	<u>開始</u>	<u>ペプチド</u>	<u>予測解離半減期</u>	<u>配列番号</u>
HLA A0201				10
1	40	ILSLLPFEV	685.783	35
2	144	AQLGFP SYV	545.316	36
3	225	LLSQWPWQ A	63.342	37
4	252	WIITAAHCV	43.992	38
5	356	VLNHAAVPL	36.316	39
6	176	LLPDDKVTA	34.627	40
7	13	FSFRSLFGL	31.661	41
8	151	YVSSDNLRV	27.995	42
9	436	RVT SFLDWI	21.502	43
10	234	SLQF QGYHL	21.362	44
11	181	KVTALHHHSV	21.300	45
12	183	TALHHHSV YV	19.658	46
13	411	RLWKL VLGAT	18.494	47
14	60	LILALAIGL	18.476	48
15	227	SQWPWQASL	17.977	49
16	301	RLGNDIALM	11.426	50
17	307	ALMKLAGPL	10.275	51
18	262	DLYLPKSWT	9.837	52
19	416	LVGAT SFGI	9.001	53
20	54	SLGI IALIL	8.759	54
HLA A0205				30
1	218	IVGGNMSLL	47.600	55
2	60	LILALAIGL	35.700	48

【表 5】

表4 (続き)

3	35	AVAAQILSL	28.000	56
4	307	ALMKLAGPL	21.000	51
5	271	IQVGLVSSL	19.040	57
6	397	CQGDSGGPL	16.800	58
7	227	SQWPWQASL	16.800	49
8	270	TIQVGLVSL	14.000	59
9	56	GIIALILAL	14.000	60
10	110	RVGGQNAVL	14.000	61
11	181	KVTALHHSV	12.000	45
12	151	YVSSDNLRV	12.000	42
13	356	VLNHAAVPL	11.900	39
14	144	AQLGFPSYV	9.600	36
15	13	FSFRSLFGL	7.560	41
16	54	SLGIIALIL	7.000	54
17	234	SLQFQGYHL	7.000	44
18	217	RIVGGNMSL	7.000	62
19	411	RLWKLVGAT	6.000	47
20	252	WIITAAHCV	6.000	38
HLA A1				
1	130	CSDDWKGHY	37.500	63
2	8	AVEAPFSFR	9.000	64
3	328	NSEENFPDG	2.700	65
4	3	ENDPPAVEA	2.500	66
5	98	DCKDGEDEY	2.500	67
6	346	ATEDGGDAS	2.250	68
7	360	AAVPLISNK	2.000	69

【表6】

表4 (続き)

8	153	SSDNLRVSS	1.500	70	
9	182	VTALHHSVY	1.250	71	
10	143	CAQLGFPSY	1.000	72	
11	259	CVYDLYLPK	1.000	73	
12	369	ICNHRDVYG	1.000	74	10
13	278	LLDNPAPSH	1.000	75	
14	426	CAEVNKPGV	1.000	76	
15	32	DADAVAAQI	1.000	77	
16	406	VCQERRLWK	1.000	78	
17	329	SEENFPDGK	0.900	79	
18	303	GNDIALMKL	0.625	80	20
19	127	KTMCSDDWK	0.500	81	
20	440	FLDWIHEQM	0.500	82	
HLA A24					
1	433	VYTRVTSFL	280.000	83	
2	263	LYLPKSWTI	90.000	84	
3	169	EFVSIDHLL	42.000	85	
4	217	RIVGGNMSL	12.000	62	30
5	296	KYKPKRLGN	12.000	86	
6	16	RSLFGLDDL	12.000	87	
7	267	KSWTIQVGL	11.200	88	
8	81	RSSFKCIEL	8.800	89	
9	375	VYGGIISPS	8.000	90	
10	110	RVGGQNAVL	8.000	91	40
11	189	VYVREGCAS	7.500	92	
12	60	LILALAIGL	7.200	48	

【表7】

表4 (続き)

13	165	QFREEFVSI	7.200	93	
14	271	IQVGLVSLL	7.200	57	
15	56	GIIALILAL	7.200	60	
16	10	EAPFSFRSL	7.200	94	
17	307	ALMKLAGPL	7.200	51	10
18	407	CQERRLWKL	6.600	95	
19	356	VLNHAAVPL	6.000	39	
20	381	SPSMLCAGY	6.000	96	
HLA B7					
1	375	VYGGIISPS	200.000	97	
2	381	SPSMLCAGY	80.000	98	
3	362	VPLISNKIC	80.000	99	20
4	35	AVAAQILSL	60.000	56	
5	373	RDVYGGIIS	40.000	100	
6	307	ALMKLAGPL	36.000	51	
7	283	APSHLVEKI	24.000	101	
8	177	LPDDKVTAL	24.000	102	
9	47	EVFSQSSSL	20.000	103	30
10	110	RVGGQNAVL	20.000	91	
11	218	IVGGNMSLL	20.000	55	
12	36	VAAQILSLL	12.000	104	
13	255	TAAHCVYDL	12.000	105	
14	10	EAPFSFRSL	12.000	94	
15	138	YANVACAQL	12.000	106	40
16	195	CASGHVVTL	12.000	107	
17	215	SSRIVGGNM	10.00	108	
18	298	KPKRLGNDI	8.000	109	

【表8】

表4 (続き)

19	313	GPLTFNEMI	8.000	110	
20	108	CVRVGGQNA	5.000	111	
HLA B8					
1	294	HSKYKPKRL	80.000	112	
2	373	RDVYGGIIS	16.000	100	10
3	177	LPDDKVTAL	4.800	102	
4	265	LPKSWTIQV	2.400	113	
5	88	ELITRCDGV	2.400	114	
6	298	KPKRLGNDI	2.000	109	
7	81	RSSFKCIEL	2.000	89	
8	375	VYGGIISPS	2.000	97	20
9	79	RCRSSFKCI	2.000	115	
10	10	EAPFSFRSL	1.600	94	
11	215	SSRIVGGNM	1.000	108	
12	36	VAAQILSLL	0.800	104	
13	255	TAAHCVYDL	0.800	116	
14	381	SPSMLCAGY	0.800	98	
15	195	CASGHVVTL	0.800	107	30
16	362	VPLISNKIC	0.800	99	
17	138	YANVACAQL	0.800	106	
18	207	ACGHRRGYS	0.400	117	
19	154	SDNLRVSSL	0.400	118	
20	47	EVFSQSSSL	0.400	103	
HLA B2702					
1	300	KRLGNDIAL	180.000	119	40
2	435	TRVTSFLDW	100.000	120	

【表9】

表4 (続き)

3	376	YGGIISPSM	100.000	121
4	410	RRLWKLVGA	60.000	122
5	210	HRRGYSSRI	60.000	123
6	227	SQWPWQASL	30.000	49
7	109	VRVGGQNAV	20.000	124
8	191	VREGCASGH	20.000	125
9	78	YRCRSSFKC	20.000	126
10	113	GQNAVLQVF	20.000	127
11	91	TRCDGVSDC	20.000	128
12	38	AQILSLLPF	20.000	129
13	211	RRGYSSRIV	18.000	130
14	216	SRIVGGNMS	10.000	131
15	118	LQVFTAASW	10.000	132
16	370	CNH RDVYGG	10.000	133
17	393	GV DSC QGDS	10.000	134
18	235	LQFQGYHLC	10.000	135
19	271	IQVGLVSSL	6.000	57
20	408	CQERRLWKL	6.000	95
HLA B4403				
1	427	AEVNKPGVY	90.000	136
2	162	LEGQFREEF	40.000	137
3	9	VEAPFSFRS	24.000	138
4	318	NEMIQPVCL	12.000	139
5	256	AAHCVYDLY	9.000	140
6	98	DCKDGEDEY	9.000	67
7	46	FEVFSQSSS	8.000	141

【表10】

表4 (続き)

8	38	AQILSLLPF	7.500	129	
9	64	LAIGLGIHF	7.500	142	
10	192	REGCASGHV	6.000	143	
11	330	EENFPDGKV	6.000	144	
12	182	VTALHHSVY	6.000	145	10
13	408	QERRLWKLV	6.000	146	
14	206	TACGHRRGY	4.500	147	
15	5	DPPAVEAPPF	4.500	148	
16	261	YDLYLPKSW	4.500	149	
17	33	ADAVAAQIL	4.500	150	
18	168	EEFVSIDHL	4.000	151	
19	304	NDIALMKLA	3.750	152	20
20	104	DEYRCVRVG	3.600	153	

結論

本研究において、PCRに基づく方法によって、セリンプロテアーゼを同定した。ノーザンプロットによって、その遺伝子の最も大きな転写物は約2.4kbであり、その転写物は卵巣腫瘍において高レベルで発現されているが、調べた他の全ての組織では最少レベルでのみ認められることが分かった。新規な細胞表面マルチドメインセリンプロテアーゼをコードする完全長cDNAをクローニングし、TADG-12と命名した。その454アミノ酸タンパク質は、細胞質領域、2型膜貫通領域、LDLR-A領域、SRCR領域およびセリンプロテアーゼ領域を包含する。半定量的PCR分析を用いて、TADG-12が多くの試験した腫瘍において過剰発現していることが分かった。免疫組織化学染色によって、場合によってそのタンパク質が腫瘍細胞の細胞表面に局在することを確認し、このことはTADG-12がいくつかの細胞外タンパク質分解機能を有することを示唆する。興味深いことに、TADG-12は調べた腫瘍の35%において存在する変異スプライシング形態も有する。その変異mRNAは、腫瘍細胞表面上に独特なペプチド配列をもたらす切断タンパク質を生じさせる。

【0116】

そのタンパク質は、そのマルチドメイン分子に対して独特な特性を与える2つの細胞外領域を包含する。プロテアーゼに関連したLDLR-A機能の正確な役割は不確かであるが、その領域がカルシウムおよび他の正電荷を持つリガンドに結合する能力を有することは確かである[21, 22]。このことは、プロテアーゼの調節またはそれに続くその分子の内在化において重要な役割を果たすであろう。SRCR領域は、当初はマクロファージスカベンジャー受容体内において同定され、かつリポタンパク質に結合することが機能的に説明された。SRCR領域はリポタンパク質に結合し得るのみならず、様々なポリヌクレオチド分子にも結合することができる[23]。より最近の研究において、免疫系の成熟に関連する細胞接着分子に対するプロテアーゼと異なる機能を有するタンパク質において、その領域ファミリーのメンバーが同定された。さらには、TMPRSS2と同様にTADG-12は、そのSRCR領域内に、6つの保存シティン領域の内4つしか持たない。その違いによって、独特なリガンド結合特性を与えるそれら領域の異なる構造特性がもたらされる。現時点では、CD6をコードするSRCRのみがよく証明されている。

30

40

50

C D 6 の場合、S R C R 領域は細胞接着分子 A L C A M に結合する [23]。その細胞接着の仲介は、新規に同定された S R C R 領域に基づく新規な研究のための有用な出発点であるが、その領域の複数の機能の可能性を見過ごすことはできない。S R C R 領域が細胞接着型の相互作用をし得ることは確かであるが、他の型のリガンドに結合する能力も考慮すべきである。

【 0 1 1 7 】

現時点では、T A D G - 1 2 の正確な役割は不確かなままである。プロテアーゼ領域に対する基質は同定されておらず、また細胞外 L D L R - A および S E C R 領域のリガンドも同定されていない。図 8 は、本発明において開示された情報と共に、T A D G - 1 2 の作用モデルを表す。T A D G - 1 2 または切断 T A D G - 1 2 V タンパク質の何れかの産生をもたらす 2 つの転写物が産生される。それらタンパク質の何れかが細胞表面に潜在的に標的化される。T A D G - 1 2 は活性化セリンプロテアーゼになることができるが、T A D G - 1 2 V は細胞表面にある場合には腫瘍特異的エピトープを表わすことができる切断タンパク質産物となる。

10

【 0 1 1 8 】

今日における卵巣癌の治療における問題は、依然として初期ステージでの疾患の診断ができないことである。腫瘍細胞増殖に必須であるプロテアーゼのような疾患過程において初期に発現される遺伝子を同定すること [26] は、治療を改善するための重要なステップである。その知識によって、より早期ステージにおいてそのような癌を診断するために、例えばこの中に記載の T A D G - 1 2 プロテアーゼまたは以前記載されたプロテアーゼ等の高発現遺伝子を検出する方法を設計することが可能であろう。また、マーカーのパネルは、予測情報を提供し、さらに個々の患者のための治療計画をもたらすことができる。あるいは、プロテアーゼ等の酵素の阻害は卵巣癌の進行を遅くしかつ患者の生活の質を改善するための効果的な手段と成り得る。T A D G - 1 2 および T A D G - 1 2 V の他の特性も将来の研究に重要であると考えなければならない。細胞外リガンド結合領域は薬剤送達システムのための天然のターゲットである。T A D G - 1 2 V タンパク質に関連する異常なペプチドは、優れたターゲット薬剤の送達または免疫刺激をもたらすことができる。

20

【 0 1 1 9 】

以下の引例がこの中で挙げられている

【 表 1 1 】

30

1. Duffy, M.J., Clin. Exp. Metastasis, 10: 145-155, 1992.
2. Monsky, W.L., et al., Cancer Res., 53: 3159-3164, 1993.
3. Powell, W.C., et al., Cancer Res., 53: 417-422, 1993.
4. Neurath, H. The Diversity of Proteolytic Enzymes. In: R.J. Beynon and J.S. Bond (eds.), pp. 1- 13; Proteolytic enzymes, Oxford: IRL Press, 1989. 10
5. Liotta, L.A., et al., Cell, 64: 327-336, 1991.
6. Tryggvason, K., et al., Biochem. Biophys. Acta., 907: 191-217, 1987.
7. McCormack, R.T., et al., Urology, 45:729-744, 1995.
8. Landis, S.H., et al., CA Cancer J. Clin., 48: 6-29, 1998.
9. Tanimoto, H., et al., Cancer Res., 57: 2884-2887, 1997.
10. Tanimoto, H., et al., Cancer, 86: 2074-2082, 1999. 20
11. Underwood, L.J., et al., Cancer Res., 59:4435-4439, 1999.
12. Tanimoto, et al., Increased Expression of Protease M in Ovarian Tumors. Tumor Biology, In Press, 2000.
13. Tanimoto, H., et al., Proc. Of the Amer. Assoc. for Canc. Research 39:648, 1998.
14. Tanimoto, H., et al., Tumor Biology, 20: 88-98, 1999. 30
15. Maniatis, T., Fritsch, E.F. & Sambrook, J. Molecular Cloning, p. 309-361 Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 1982.
16. Shigemasa, K., et al., J. Soc. Gynecol. Invest., 4:95-102, 1997.
17. Leytus, S.P., et al., Biochemistry, 27: 1067-1074, 1988.
18. Paoloni-Giacobino, A., et al., Genomics, 44: 309-320, 1997.
19. Sudhof, T.C., et al., Science, 228: 815-822, 1985.
20. Daly, N., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92: 6334-6338, 1995. 40

【表12】

21. Mahley, R.W., Science 240: 622-630, 1988.
22. Van Driel, I.R., et al., J. Biol. Chem. 262: 17443-17449, 1987.
23. Freeman, M., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87: 8810-8814, 1990.
24. Aruffo, A., et al., Immunology Today 18(10): 498-504, 1997.
25. Rawlings, N.D., and Barrett, A.J., Methods Enzymology 244: 19-61, 1994. 10
26. Torres-Rosado, A., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90: 7181-7185, 1993.

本明細書に記載の任意の特許または公報は本発明が属する分野の当業者のレベルを示唆する。各公報が参照によって組み込まれることを特異的にかつ個別に指示している場合と同範囲で、それら特許および公報は参照によってこの中に組み込まれる。

【0120】

当業者は、本発明をうまく応用して、その目的を達成しかつ記載のおよび本来の結果ならびに利点を得ることを容易に理解するであろう。この中において方法、手段、処置、分子および特定化合物と共に記載した本実施例は、現在での好ましい実施形態の代表であり、例示であり、本発明の範囲に対する限定として見なされない。当業者はそれらに対する変化および他の用途を考えつき、それらは本請求の範囲によって特定された本発明の精神に含まれる。 20

【図面の簡単な説明】

【図1A】 図1Aは、重複セリンプロテアーゼプライマーを用いた約180bpの予測されたPCR産物および約300bpの予測外のPCR産物が、正常卵巣cDNAからは増幅されない（レーン1）が、卵巣腫瘍cDNAから異常に増幅される（レーン2）ことを示す 30

【図1B】 図1Bは、TADG-12が180bpバンドからサブクローニングされ、一方、大きな300bpバンドがTADG-12Vを指定することを示す

【図2】 図2は、TADG-12のノーザンプロット分析において、2.4、1.6および0.7kbの3つの転写物が顯示されたことを示す

【図3】 図3は、TADG-12を詳細に調べたRNAドットプロット(CLONTECH)を示す

【図4】 図4は、オープンリーディングフレームの予測454アミノ酸（配列番号2）と共に、TADG-12のcDNA配列（配列番号1）を示す

【図5A】 図5Aは、セリンプロテアーゼTMPRSS2(U75329、配列番号14)からの他のLDLR-Aモチーフ、補体サブユニットC8(P07358、配列番号9)、糖タンパク質GP300の2つのLDLR-A領域(P98164、配列番号11および12)およびセリンプロテアーゼのマトリプターゼ(matriptase)(AF118224、配列番号10)と整列させて、TADG-12の35アミノ酸LDLR-A領域（配列番号13）を示す 40

【図5B】 図5Bは、ヒトマクロファージスカベンジャー受容体(P21757、配列番号16)、ヒトエンテロキナーゼ(P98073、配列番号19)、ウシエンテロキナーゼ(P21758、配列番号15)およびセリンプロテアーゼTMPRSS2（配列番号18）等の他のドメインファミリーメンバーと整列させて、TADG-12のSRCR領域（配列番号17）を示す

【図5C】 図5Cは、プロテアーゼM(U62801、配列番号20)、トリプシノー 50

ゲン I (P 0 7 4 7 7 、配列番号 2 1) 、血漿カリクレイン (P 0 3 9 5 2 、配列番号 2 2) 、ヘプシン (P 0 5 9 8 1 、配列番号 2 5) および T M P R S S 2 (配列番号 2 4) 等の他のヒトセリンプロテアーゼと整列させて、 T A D G - 1 2 のプロテアーゼ領域 (配列番号 2 3) を示す

【図 6】 図 6 は、 T A D G - 1 2 (上段パネル) および T A D G - 1 2 V (下段パネル) について実施した半定量的 P C R 分析を示す

【図 7】 図 7 は、 T A D G - 1 2 特異的ペプチドに対して作成されたポリクロナールウサギ抗体を用いて実施した正常卵巣および卵巣腫瘍の免疫組織化学染色を示す

【図 8】 図 8 は、細胞内での T A D G - 1 2 の経過を示す

【配列表】

10

SEQUENCE LISTING

```

<110>      O'Brien, Timothy J.
<111>      Underwood, Lowell J.
<120>      Transmembrane Serine Protease Overexpressed
             in Ovarian Carcinoma and Uses Thereof
             D6192PCT
<141>      2000-03-02
<150>      09/261,416
<151>      1999-03-03
<160>      153

<210>      1
<211>      2413
<212>      DNA
<213>      Homo sapiens
<220>
<221>      CDS
<223>      entire cDNA sequence of TADG-12 gene
<400>      1

```

20

```

cgggaaaggg ctgtgtttat gggaaagccag taacactgtg gcctactatac      50
tcttcgtgg tgccatctac atttttggga ctcggatt atgaggtaga      100
ggtgaggcg gagccggatg tcagaggtcc tgaaatagtc accatggggg      150
aaaatgatcc gcctgtgtt gaagccccct tctcattccg atcgctttt      200
ggccttgtat atttggaaat aagtccgtt gcaccagatg cagatgtgt      250
tgctgcacag atcctgtcac tgctgccatt tgaagtttt tcccaatcat      300
cgtcattggg gatcattgca ttgatattag cactgccat tggctctggc      350
atccacttcg actgctcagg gaagtacaga tgcgcctcat cctttaagtg      400
tatcgagctg ataactcgat gtgacggat ctcggattgc aaagacgggg      450
agacagatg ccgctgtgtc cgggtgggtg gtcagaatgc cgtgcctccag      500
gtgttcacag ctgcttcgtg gaagaccatg tgctccgatg actggaaggg      550
tcactacgca aatgttgcct gtgcccact gggttccca agctatgtga      600
gttcagataa cctcagatgt agctcgctgg agggcagtt ccgggaggag      650
tttgtgtcca tgcataccct cttgccatg gacaaggta ctgcattaca      700
ccactcagta tatgtgaggg agggatgtgc ctctgccac gtggttaccc      750
tgcaagtgcac agcctgtgtt catagaaggg gctacagctc acgcacatcg      800
ggtgaaaca tgccttgcct ctcgcagtgg ccctggcagg ccagcattca      850
gttccaggcc taccacctgt gcgggggctc tgcatacactg cccctgtgga      900
tcatcaactgc tgcacactgt gtttatgact tgtacccccc caagtcatgg      950
accatccagg tgggtctagt ttccctgtt gacaatccag ccccatccca      1000
cttgggtggag aagattgtct accacagcaa gtacaagcca aagaggctgg      1050
gcaatgacat cgccctttagt aagctggccc ggccactcac gttcaatgaa      1100
atgatccagc ctgtgtgcct gcccaactct gaagagaact tccccgatgg      1150
aaaagtgtgc tggacgtcag gatggggggc cacagaggat ggaggtgacg      1200
cctccccctgt cctgaaccac gccggccgtcc ctttgcatttcaacaagatc      1250
tgcaaccaca gggacgtgtt cgggtggcatt atctccccct ccatgctctg      1300
cgccggctac ctgacgggtg gctgtacatg ctggcagggg gacagcgggg      1350
ggcccttggt gtgtcaagag aggaggctgt ggaagttgtt gggagcgacc      1400
agcttggca tggcgtcgcc agaggtaac aagcctgggg tgcacacccg      1450
tgcacacttc ttcctggact ggatccacgca gcagatggag agagacctaa      1500
aaacctgttcaag aggaagggga caagtggcca cctgagttcc tgaggtgtatg      1550
aagacagccc gatccccc tggactcccg tgcacacccg tgcacacccg      1600
cagacacccct tggagctctg agttccggca ccagtagcgg gcccggaaaga      1650
ggcaccccttc catctgatttcc cagcacaacc ttcaagctgc tttttgtttt      1700
ttgtttttt gagggtggagt ctgcgtctgt tgcccaaggct ggagtgacgt      1750

```

30

40

ggcgaaatac	cctgctca	gcagcc	cttccc	tcaagg	1800
ctcttcgc	ctc agttcccc	gtagctgg	ccacagg	ccgcacc	1850
acccaactaa	tttttgtatt	tttagtagag	acagggtt	accatgtt	1900
ccaggcgtct	ctcaaacc	tgaccta	tgatgtgc	gttcagc	1950
cccacagtgc	tgggattaca	ggcatgg	accacgc	gcctcac	2000
cctttctgtat	cttcactaag	aacaaaagaa	gcagcaact	gcaaggcg	2050
cctttccac	tggtccatct	ggttttctct	ccagggtctt	gcaaaattcc	2100
tgacgagata	agcagtat	tgacctc	tgcaaa	ccaa	2150
ctcagaaaaag	acgcacc	ccagaatgc	agaactgc	tca	2200
ttttcatctt	tagggaccag	aaccaa	acccttct	cttccaa	2250
ttatttcac	atgtggggag	gttaatct	gaatgactc	ttaaggc	2300
attttcatga	tttcttgc	gcatttgg	cttgacgt	tattgtc	2350
tgattccaaa	taatatgtt	ccttcc	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	2400
aaaaaaaaaaa	aaa				2413

10

<210> 2
<211> 454
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<220>
<223> complete amino acid sequence of TADG-12
protein
<400> 2

Met	Gly	Glu	Asn	Asp	Pro	Pro	Ala	Val	Glu	Ala	Pro	Phe	Ser	Phe
		5						10						15
Arg	Ser	Leu	Phe	Gly	Leu	Asp	Asp	Leu	Lys	Ile	Ser	Pro	Val	Ala
		20						25						30
Pro	Asp	Ala	Asp	Ala	Val	Ala	Ala	Gln	Ile	Leu	Ser	Leu	Leu	Pro
		35						40						45
Phe	Glu	Val	Phe	Ser	Gln	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Ile	Ile	Ala	Leu
		50						55						60
Ile	Leu	Ala	Leu	Ala	Ile	Gly	Leu	Gly	Ile	His	Phe	Asp	Cys	Ser
		65						70						75
Gly	Lys	Tyr	Arg	Cys	Arg	Ser	Ser	Phe	Lys	Cys	Ile	Glu	Leu	Ile
		80						85						90
Thr	Arg	Cys	Asp	Gly	Val	Ser	Asp	Cys	Lys	Asp	Gly	Glu	Asp	Glu
		95						100						105
Tyr	Arg	Cys	Val	Arg	Val	Gly	Gly	Gln	Asn	Ala	Val	Leu	Gln	Val
		110						115						120
Phe	Thr	Ala	Ala	Ser	Trp	Lys	Thr	Met	Cys	Ser	Asp	Asp	Trp	Lys
		125						130						135
Gly	His	Tyr	Ala	Asn	Val	Ala	Cys	Ala	Gln	Leu	Gly	Phe	Pro	Ser
		140						145						150
Tyr	Val	Ser	Ser	Asp	Asn	Leu	Arg	Val	Ser	Ser	Leu	Glu	Gly	Gln
		155						160						165
Phe	Arg	Glu	Glu	Phe	Val	Ser	Ile	Asp	His	Leu	Leu	Pro	Asp	Asp
		170						175						180
Lys	Val	Thr	Ala	Leu	His	His	Ser	Val	Tyr	Val	Arg	Glu	Gly	Cys
		185						190						195
Ala	Ser	Gly	His	Val	Val	Thr	Leu	Gln	Cys	Thr	Ala	Cys	Gly	Hiss
		200						205						210
Arg	Arg	Gly	Tyr	Ser	Ser	Arg	Ile	Val	Gly	Gly	Asn	Met	Ser	Leu
		215						220						225
Leu	Ser	Gln	Trp	Pro	Trp	Gln	Ala	Ser	Leu	Gln	Phe	Gln	Gly	Tyr
		230						235						240

20

30

His	Leu	Cys	Gly	Gly	Ser	Val	Ile	Thr	Pro	Leu	Trp	Ile	Ile	Thr
245									250					255
Ala	Ala	His	Cys	Val	Tyr	Asp	Leu	Tyr	Leu	Pro	Lys	Ser	Trp	Thr
260									265					270
Ile	Gln	Val	Gly	Leu	Val	Ser	Leu	Leu	Asp	Asn	Pro	Ala	Pro	Ser
275									280					285
His	Leu	Val	Glu	Lys	Ile	Val	Tyr	His	Ser	Lys	Tyr	Lys	Pro	Lys
290									295					300
Arg	Leu	Gly	Asn	Asp	Ile	Ala	Leu	Met	Lys	Leu	Ala	Gly	Pro	Leu
305									310					315
Thr	Phe	Asn	Glu	Met	Ile	Gln	Pro	Val	Cys	Leu	Pro	Asn	Ser	Glu
320									325					330
Glu	Asn	Phe	Pro	Asp	Gly	Lys	Val	Cys	Trp	Thr	Ser	Gly	Trp	Gly
335									340					345
Ala	Thr	Glu	Asp	Gly	Gly	Asp	Ala	Ser	Pro	Val	Leu	Asn	His	Ala
350									355					360
Ala	Val	Pro	Leu	Ile	Ser	Asn	Lys	Ile	Cys	Asn	His	Arg	Asp	Val
365									370					375
Tyr	Gly	Gly	Ile	Ile	Ser	Pro	Ser	Met	Leu	Cys	Ala	Gly	Tyr	Leu
380									385					390
Thr	Gly	Gly	Val	Asp	Ser	Cys	Gln	Gly	Asp	Ser	Gly	Gly	Pro	Leu
395									400					405
Val	Cys	Gln	Glu	Arg	Arg	Leu	Trp	Lys	Leu	Val	Gly	Ala	Thr	Ser
410									415					420
Phe	Gly	Ile	Gly	Cys	Ala	Glu	Val	Asn	Lys	Pro	Gly	Val	Tyr	Thr
425									430					435
Arg	Val	Thr	Ser	Phe	Leu	Asp	Trp	Ile	His	Glu	Gln	Met	Glu	Arg
440									445					450
Asp	Leu	Lys	Thr											20

<210> 3
 <211> 2544
 <212> DNA
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <221> CDS
 <223> entire cDNA sequence of TADG-12 variant gene
 <400> 3

cggaaaaggg	ctgtgttat	gggaagccag	taacactgtg	gcctactatc	50
tcttccgtgg	tgccatctac	atttttggga	ctcggaatt	atgaggtaga	100
ggtggaggcg	gagccggatg	tcaaggttc	tgaaatagtc	accatggggg	150
aaaatgatcc	gcctgtgtt	gaagccccct	tctcattccg	atcgctttt	200
ggccttgtatg	atttggaaat	aagtccctgtt	gcaccagatg	cagatgctgt	250
tgctgcacag	atcctgtcac	tgctgccatt	tgaagttttt	tcccaatcat	300
cgtcattggg	gatcattgca	ttgatattag	cactggccat	tggctgggc	350
atccacttcg	actgctcagg	gaagtacaga	tgtcgctcat	cctttaagtg	400
tatcgagctg	ataaactcgat	gtgacggagt	ctcgattgc	aaagacgggg	450
aggacgagta	ccgctgtgtc	cgggtgggt	gtcagaatgc	cgtgctccag	500
gtgttcacag	ctgcttcgtg	gaagaccatg	tgctccgat	actggaaagg	550
tcaactacgca	aatgttgccct	gtgcccact	gggtttccca	agctatgtaa	600
gttcagataaa	cctcagagtg	agctcgctgg	aggggcagtt	ccgggaggag	650
tttgtgtcca	tcgatcacct	cttgcagat	gacaagggtga	ctgcattaca	700
ccactcagta	tatgtgaggg	agggatgtgc	ctctggccac	gtggttacct	750
tgcagtgac	agcctgtggt	catagaaggg	gctacagtc	acgcacatcg	800

ggtgaaaaca	tgtccttgc	ctcgca	gtgg	ccctggcagg	ccagc	cattca	850	
gtccaggc	taccac	ctgt	gcgggg	gctc	tgtcat	ca	900	
tcatca	tc	tgca	cactgt	gttatgaga	ttgt	atgttgc	950	
gcagac	gagaa	gatc	gttgc	tggagaa	ccacaa	aaat	1000	
gaaaggac	tttccc	atagcta	attt	ccagtggacc	atgtt	tatggc	1050	
agatacaggc	ttgtac	ctcc	cca	aggcat	gaccat	ccag	1100	
tttccctgtt	ggacaat	c	ccccat	cc	actt	gggtgg	1150	
taccacagca	agtaca	aaag	aggctg	ggca	aatgaca	tcgccc	1200	
gaagctggcc	gggc	ca	ctgtca	aatg	atccag	cctgtgt	1250	
tgc	ccaa	ctc	tga	aaaat	gtgt	ctggacgt	1300	
ggatgggggg	ccac	agag	ggta	gggtgac	gcct	ccctg	1350	
cgccggccgtc	cctt	gattt	cca	acaagat	ctg	caaccac	1400	
acgg	ttcc	cccc	tccat	gtct	gcgcgg	cta	1450	
ggcgtggaca	gctg	ccagg	gg	gacagcgg	gggc	ccctgg	1500	
gaggaggctg	tgg	aaagt	tag	tggagc	cag	cttggc	1550	
cagaggtgaa	caag	c	ctgg	tacaccc	gtgt	cac	cttctgg	1600
tgatccac	agc	agat	gga	gagac	aaa	actgt	gaa	1650
acaagtag	ac	ctt	gatgtt	ctg	agg	gtgt	gac	1700
ctggactccc	gtgt	tagga	ac	ctgc	acac	gc	gac	1750
gatcc	acc	gtcg	ggcc	aaaa	agg	ccccc	tt	1800
ccagcaca	ctt	caag	ctg	ctttt	ttt	ttt	tgagg	1850
tctcgct	ttg	ccc	agg	tgg	at	ggc	aaata	1900
tgcagc	ctc	cc	tgg	at	tc	tgc	tac	1950
at	at	gg	gt	cc	tc	tgc	ccc	2000
ttttagt	gac	agg	gtt	acc	at	tgc	aaat	2050
ctgac	ctt	ca	at	gt	ttt	ttt	tgagg	2100
aggc	at	gg	tg	cc	ttt	tct	actaa	2150
gaac	aa	aa	tg	ca	ttt	ccc	ctgg	2200
tgtt	ttt	tct	cc	gg	ttt	ccc	ccatc	2250
gtgac	ctt	ca	gt	ca	act	cag	aaaa	2300
ccc	ca	aa	gt	act	ca	gac	gcacc	2350
gaac	cc	aa	tg	tc	ttt	cat	ttagg	2400
gat	ttt	tct	act	tcc	at	ttt	ca	2450
acat	ttt	gg	gt	ttt	ttt	cat	atgtgg	2500
tc	ttt	cc	cc	ttt	ttt	ttt	ttt	2544

<210> 4
 <211> 294
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <223> complete amino acid sequence of TADG-12
 variant protein
 <400> 4

10

20

30

Met	Gly	Glu	Asn	Asp	Pro	Pro	Ala	Val	Glu	Ala	Pro	Phe	Ser	Phe
5									10					15
Arg	Ser	Leu	Phe	Gly	Leu	Asp	Asp	Leu	Lys	Ile	Ser	Pro	Val	Ala
									20					30
Pro	Asp	Ala	Asp	Ala	Val	Ala	Ala	Gln	Ile	Leu	Ser	Leu	Leu	Pro
									35					45
Phe	Glu	Val	Phe	Ser	Gln	Ser	Ser	Leu	Gly	Ile	Ile	Ala	Leu	
									50					60
Ile	Leu	Ala	Leu	Ala	Ile	Gly	Leu	Gly	Ile	His	Phe	Asp	Cys	Ser
									65					75
Gly	Lys	Tyr	Arg	Cys	Arg	Ser	Ser	Phe	Lys	Cys	Ile	Glu	Leu	Ile

	80	85	90	
Thr Arg Cys Asp Gly Val Ser Asp Cys		Lys Asp Gly Glu Asp Glu		
95	100	105		
Tyr Arg Cys Val Arg Val Gly Gly Gln	Asn Ala Val Leu Gln Val			
110	115	120		
Phe Thr Ala Ala Ser Trp Lys Thr Met	Cys Ser Asp Asp Trp Lys			
125	130	135		
Gly His Tyr Ala Asn Val Ala Cys Ala	Gln Leu Gly Phe Pro Ser			
140	145	150		
Tyr Val Ser Ser Asp Asn Leu Arg Val	Ser Ser Leu Glu Gly Gln			
155	160	165		
Phe Arg Glu Glu Phe Val Ser Ile Asp	His Leu Leu Pro Asp Asp			
170	175	180		
Lys Val Thr Ala Leu His His Ser Val	Tyr Val Arg Glu Gly Cys			10
185	190	195		
Ala Ser Gly His Val Val Thr Leu Gln	Cys Thr Ala Cys Gly His			
200	205	210		
Arg Arg Gly Tyr Ser Ser Arg Ile Val	Gly Gly Asn Met Ser Leu			
215	220	225		
Leu Ser Gln Trp Pro Trp Gln Ala Ser	Leu Gln Phe Gln Gly Tyr			
230	235	240		
His Leu Cys Gly Gly Ser Val Ile Thr	Pro Leu Trp Ile Ile Thr			
245	250	255		
Ala Ala His Cys Val Tyr Glu Ile Val	Ala Pro Arg Glu Arg Ala			
260	265	270		
Asp Arg Arg Gly Arg Lys Leu Leu Cys	Trp Arg Lys Pro Thr Lys			
275	280	285		
Met Lys Gly Pro Arg Pro Ser His Ser				20
	290			

<210> 5
 <211> 174
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220>
 <223> nucleotide sequence of the subclone containing
 the 180 bp band from the PCR product for TADG-12
 <400> 5

tgggtggta	cggcgccgca	ctgtgttat	gacttgtacc	tccccaagtc	50
atggaccattc	cagggtggtc	tagttccct	gttggacaat	ccagccccat	100
cccaacttggt	ggagaagatt	gtctaccaca	gcaagtacaa	gccaaagagg	150
ctgggcaacg	acatcgccct	ccta			174

30

<210> 6
 <211> 58
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 <220>
 <223> deduced amino acid sequence of the 180 bp band
 from the PCR product for TADG-12
 <400> 6

Trp Val Val Thr Ala Ala His Cys Val	Tyr Asp Leu Tyr Leu Pro	
5	10	15
Lys Ser Trp Thr Ile Gln Val Gly Leu Val Ser Leu Leu Asp Asn		

Pro	Ala	Pro	Ser	20	His	Leu	Val	Glu	Lys	Ile	Val	Tyr	His	Ser	30
				35										Lys	45
Tyr	Lys	Pro	Lys	50	Arg	Leu	Gly	Asn	Asp	Ile	Ala	Leu	Leu		55

<210> 7
 <211> 328
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220>
 <223> nucleotide sequence of the subclone containing
 the 300 bp band from the PCR product for
 TADG-12 variant, which contains an additional
 insert of 133 bases
 <400> 7

gggtggtgac	ggcgccgcac	tgtgtttatg	agattgttagc	tccttagagaa	50
aggcgacaca	gaagaggaag	gaagctcctg	tgctggagga	aaccacaaaa	100
aatgaaaaggaa	cctagacatt	ccccatagcta	attccagtgg	accatgttat	150
ggcagataca	ggcttgcacc	tccccaagtc	atggaccatc	caggtgggtc	200
tagttccct	gttggacaat	ccagccccat	cccacttgg	ggagaagatt	250
gtctaccaca	gcaagtacaa	gccaaagagg	ctggcaacg	acatgcct	300
cctaattcact	agtgcggccg	cctgcagg			328

<210> 8
 <211> 42
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 <220>
 <223> deduced amino acid sequence of the 300 bp band
 from the PCR product for TADG-12 variant, which is
 a truncated form of TADG-12
 <400> 8

Val	Val	Thr	Ala	Ala	His	Cys	Val	Tyr	Glu	Ile	Val	Ala	Pro	Arg
									5	10			15	
Glu	Arg	Ala	Asp	Arg	Arg	Gly	Arg	Lys	Leu	Leu	Cys	Trp	Arg	Lys
									20	25			30	
Pro	Thr	Lys	Met	Lys	Gly	Pro	Arg	Pro	Ser	His	Ser			
									35	40				

<210> 9
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <221> DOMAIN
 <223> LDLR-A domain of the complement subunit C8
 (Compc8)
 <400> 9

Cys	Glu	Gly	Phe	Val	Cys	Ala	Gln	Thr	Gly	Arg	Cys	Val	Asn	Arg
									5	10			15	
Arg	Leu	Leu	Cys	Asn	Gly	Asp	Asn	Asp	Cys	Gly	Asp	Gln	Ser	Asp
									20	25			30	

Glu Ala Asn Cys

```

<210>      10
<211>      34
<212>      PRT
<213>      Homo sapiens
<220>
<221>      DOMAIN
<223>      LDLR-A domain of the serine protease
matriptase (Matr)
<400>      10

```

Cys Pro Gly Gln Phe Thr Cys Arg Thr Gly Arg Cys Ile Arg Lys	10	
5	10	15
Glu Leu Arg Cys Asp Gly Trp Ala Asp Cys Thr Asp His Ser Asp	30	
20	25	30
Glu Leu Asn Cys		

```

<210>      11
<211>      37
<212>      PRT
<213>      Homo sapiens
<220>
<221>      DOMAIN
<223>      LDLR-A domain of the glycoprotein GP300
(Gp300-1)
<400>      11

```

Cys Gln Gln Gly Tyr Phe Lys Cys Gln Ser Glu Gly Gln Cys Ile	15	
5	10	15
Pro Ser Ser Trp Val Cys Asp Gln Asp Gln Asp Cys Asp Asp Gly	30	
20	25	30
Ser Asp Glu Arg Gln Asp Cys		
35		

```

<210>      12
<211>      35
<212>      PRT
<213>      Homo sapiens
<220>
<221>      DOMAIN
<223>      LDLR-A domain of the glycoprotein GP300
(Gp300-2)
<400>      12

```

Cys Ser Ser His Gln Ile Thr Cys Ser Asn Gly Gln Cys Ile Pro	15	
5	10	15
Ser Glu Tyr Arg Cys Asp His Val Arg Asp Cys Pro Asp Gly Ala	30	
20	25	30
Asp Glu Asn Asp Cys		
35		

```

<210>      13
<211>      35

```

<212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <221> DOMAIN
 <222> 74...108
 <223> LDLR-A domain of TADG-12
 <400> 13

Cys Ser Gly Lys Tyr Arg Cys Arg Ser Ser Phe Lys Cys Ile Glu
 5 10 15
 Leu Ile Thr Arg Cys Asp Gly Val Ser Asp Cys Lys Asp Gly Glu
 20 25 30
 Asp Glu Tyr Arg Cys
 35

10

<210> 14
 <211> 36
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <221> DOMAIN
 <223> LDLR-A domain of the serine protease TMPRSS2
 Tmprss2
 <400> 14

Cys Ser Asn Ser Gly Ile Glu Cys Asp Ser Ser Gly Thr Cys Ile
 5 10 15
 Asn Pro Ser Asn Trp Cys Asp Gly Val Ser His Cys Pro Gly Gly
 20 25 30
 Glu Asp Glu Asn Arg Cys
 35

20

<210> 15
 <211> 101
 <212> PRT
 <213> *Bos taurus*
 <220>
 <221> DOMAIN
 <223> SRCR domain of bovine enterokinase (BovEntk)
 <400> 15

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

30

<210> 16
 <211> 101
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <221> DOMAIN
 <223> SRCR domain of human macrophage scavenger
 receptor (MacSR)
 <400> 16

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

<210> 17
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens* 20
 <220>
 <221> DOMAIN
 <222> 109...206
 <223> SRCR domain of TADG-12 (TADG12)
 <400> 17

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

<210> 18
 <211> 94
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <221> DOMAIN

<223> SRCR domain of the serine protease TMPRSS2
(Tmprss2)
<400> 18

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

<210> 19
<211> 90
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<220>
<221> DOMAIN
<223> SRCR domain of human enterokinase (HumEntk)
<400> 19

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

<210> 20
<211> 149
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<220>
<221> DOMAIN
<223> protease domain of protease M (ProM)
<400> 20

Leu Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Lys Lys Pro Asn Leu Gln
5 10 15
Val Phe Leu Gly Lys His Asn Leu Arg Gln Arg Glu Ser Ser Gln
20 25 30
Glu Gln Ser Ser Val Val Arg Ala Val Ile His Pro Asp Tyr Asp
35 40 45
Ala Ala Ser His Asp Gln Asp Ile Met Leu Leu Arg Leu Ala Arg

10

20

30

Pro Ala Lys Leu	50	Ser Glu Leu Ile Gln	55	Pro Leu Pro Leu Glu	60
	65		70		75
Asp Cys Ser Ala	Asn Thr Thr Ser Cys	His Ile Leu Gly Trp	Gly		
	80	85	90		
Lys Thr Ala Asp	Gly Asp Phe Pro Asp	Thr Ile Gln Cys Ala	Tyr		
	95	100	105		
Ile His Leu Val	Ser Arg Glu Glu Cys	Glu His Ala Tyr Pro	Gly		
	110	115	120		
Gln Ile Thr Gln	Asn Met Leu Cys Ala	Gly Asp Glu Lys Tyr	Gly		
	125	130	135		
Lys Asp Ser Cys	Gln Gly Asp Ser Gly	Gly Pro Leu Val Cys			
	140	145			

10

<210> 21
 <211> 151
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <221> DOMAIN
 <223> protease domain of trypsinogen I (Try1)
 <400> 21

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

20

<210> 22
 <211> 158
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <221> DOMAIN
 <223> protease domain of plasma kallikrein (Kal)
 <400> 22

Gln Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Phe Asp Gly Leu Pro Leu

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

<210>	23
<211>	157
<212>	PRT
<213>	<i>Homo sapiens</i>
<220>	
<221>	DOMAIN
<223>	protease domain of TADG-12 (TADG12)
<400>	23

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

<210>	24
<211>	159

<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<220>
<221> DOMAIN
<223> protease domain of TMPRSS2 (Tmprss2)
<400> 24

<210> 25
<211> 164
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<220>
<221> DOMAIN
<223> protease domain of Hepsin (Heps)
<400> 25

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

Gln	Ile	Lys	Pro	125		130		135					
		Lys	Met	Phe	Cys	Ala	Gly	Tyr	Pro	Glu	Gly	Gly	
			140				145				150		
Ile	Asp	Ala	Cys	Gln	Gly	Asp	Ser	Gly	Gly	Pro	Phe	Val	Cys
				155				160					

<210> 26
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220>
 <221> primer_bind
 <222> 6, 9, 12, 15, 18
 <223> forward redundant primer for the consensus
 sequences of amino acids surrounding the catalytic
 triad for serine proteases, n = inosine 10
 <400> 26

tgggtngtna cngcngcnca ytg 23

<210> 27
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220>
 <221> primer_bind
 <222> 3, 6, 9, 12, 15, 18
 <223> reverse redundant primer for the consensus
 sequences of amino acids surrounding the catalytic
 triad for serine proteases, n = inosine 20
 <400> 27

arnarngcna tntcnnncc 20

<210> 28
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220>
 <221> primer_bind
 <223> forward oligonucleotide primer for TADG-12
 used for quantitative PCR
 <400> 28 30

gaaacatgtc cttgctctcg 20

<210> 29
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220>
 <221> primer_bind
 <223> reverse oligonucleotide primer for TADG-12
 used for quantitative PCR
 <400> 29

actaacttcc acagcctcct	20	
<210> 30		
<211> 20		
<212> DNA		
<213> Artificial sequence		
<220>		
<221> primer_bind		
<223> forward oligonucleotide primer for TADG-12		
variant (TADG-12V) used for quantitative PCR		
<400> 30		
tccaggtggg tctagttcc	20	10
<210> 31		
<211> 20		
<212> DNA		
<213> Artificial sequence		
<220>		
<221> primer_bind		
<223> reverse oligonucleotide primer for TADG-12		
variant (TADG-12V) used for quantitative PCR		
<400> 31		
ctctttggct tgtacttgct	20	
<210> 32		
<211> 20		
<212> DNA		20
<213> Artificial sequence		
<220>		
<221> primer_bind		
<223> forward oligonucleotide primer for β-tubulin		
used as an internal control for quantitative PCR		
<400> 32		
cgcataaacg tgtactacaa	20	
<210> 33		
<211> 20		
<212> DNA		
<213> Artificial sequence		
<220>		
<221> primer_bind		
<223> reverse oligonucleotide primer for β-tubulin		30
used as an internal control for quantitative PCR		
<400> 33		
tacgagctgg tggactgaga	20	
<210> 34		
<211> 12		
<212> PRT		
<213> Artificial sequence		
<220>		
<223> a poly-lysine linked multiple antigen peptide		

derived from the TADG-12 carboxy-terminal protein sequence, present in full length TADG-12, but not in TADG-12V

<400> 34

Trp Ile His Glu Gln Met Glu Arg Asp Leu Lys Thr
5 10

<210> 35

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<222> 40...48

<223> TADG-12 peptide

<400> 35

10

Ile Leu Ser Leu Leu Pro Phe Glu Val
5

<210> 36

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<222> 144...152

<223> TADG-12 peptide

<400> 36

20

Ala Gln Leu Gly Phe Pro Ser Tyr Val
5

<210> 37

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<222> 225...233

<223> TADG-12 peptide

<400> 37

Leu Leu Ser Gln Trp Pro Trp Gln Ala
5

30

<210> 38

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<222> 252...260

<223> TADG-12 peptide

<400> 38

Trp Ile Ile Thr Ala Ala His Cys Val
5

<210> 39
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 356...364
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 39

Val Leu Asn His Ala Ala Val Pro Leu
5

<210> 40
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 176...184
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 40

10

Leu Leu Pro Asp Asp Lys Val Thr Ala
5

<210> 41
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 13...21
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 41

20

Phe Ser Phe Arg Ser Leu Phe Gly Leu
5

<210> 42
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 151...159
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 42

30

Tyr Val Ser Ser Asp Asn Leu Arg Val
5

<210> 43
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 436...444
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 43

Arg Val Thr Ser Phe Leu Asp Trp Ile
5

<210> 44
<211> 9
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<220>
<222> 234...242
<223> TADG-12 peptide
<400> 44

Ser Leu Gln Phe Gln Gly Tyr His Leu
5

<210> 45
<211> 9
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<220>
<222> 181...189
<223> TADG-12 peptide
<400> 45

Lys Val Thr Ala Leu His His Ser Val
5

<210> 46
<211> 9
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<220>
<222> 183...191
<223> TADG-12 peptide
<400> 46

Thr Ala Leu His His Ser Val Tyr Val
5

<210> 47
<211> 9
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<220>
<222> 411...419
<223> TADG-12 peptide
<400> 47

Arg Leu Trp Lys Leu Val Gly Ala Thr
5

<210> 48
<211> 9
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

10

20

30

<220>
 <222> 60...68
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 48

Leu Ile Leu Ala Leu Ala Ile Gly Leu
 5

<210> 49
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 227...235
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 49

Ser Gln Trp Pro Trp Gln Ala Ser Leu
 5

<210> 50
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 301...309
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 50

Arg Leu Gly Asn Asp Ile Ala Leu Met
 5

<210> 51
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 307...315
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 51

Ala Leu Met Lys Leu Ala Gly Pro Leu
 5

<210> 52
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 262...270
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 52

Asp Leu Tyr Leu Pro Lys Ser Trp Thr
 5

10

20

30

<210> 53
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 416...424
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 53

Leu Val Gly Ala Thr Ser Phe Gly Ile
 5

<210> 54
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 54...62
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 54

10

Ser Leu Gly Ile Ile Ala Leu Ile Leu
 5

<210> 55
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 218...226
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 55

20

Ile Val Gly Gly Asn Met Ser Leu Leu
 5

<210> 56
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 35...43
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 56

30

Ala Val Ala Ala Gln Ile Leu Ser Leu
 5

<210> 57
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 271...279
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 57

Ile Gln Val Gly Leu Val Ser Leu Leu
5

<210> 58
<211> 9
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<220>
<222> 397...405
<223> TADG-12 peptide
<400> 58

Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu
5

<210> 59
<211> 9
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<220>
<222> 270...278
<223> TADG-12 peptide
<400> 59

Thr Ile Gln Val Gly Leu Val Ser Leu
5

<210> 60
<211> 9
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<220>
<222> 56...64
<223> TADG-12 peptide
<400> 60

Gly Ile Ile Ala Leu Ile Leu Ala Leu
5

<210> 61
<211> 9
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<220>
<222> 110...118
<223> TADG-12 peptide
<400> 61

Arg Val Gly Gly Gln Asn Ala Val Leu
5

<210> 62
<211> 9
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

10

20

30

<220>
<222> 217...225
<223> TADG-12 peptide
<400> 62

Arg Ile Val Gly Gly Asn Met Ser Leu
5

<210> 63
<211> 9
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<220>
<222> 130...138
<223> TADG-12 peptide
<400> 63

10

Cys Ser Asp Asp Trp Lys Gly His Tyr
5

<210> 64
<211> 9
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<220>
<222> 8...16
<223> TADG-12 peptide
<400> 64

20

Ala Val Glu Ala Pro Phe Ser Phe Arg
5

<210> 65
<211> 9
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<220>
<222> 328...336
<223> TADG-12 peptide
<400> 65

Asn Ser Glu Glu Asn Phe Pro Asp Gly
5

30

<210> 66
<211> 9
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<220>
<222> 3...11
<223> TADG-12 peptide
<400> 66

Glu Asn Asp Pro Pro Ala Val Glu Ala
5

<210> 67
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 98...106
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 67

Asp Cys Lys Asp Gly Glu Asp Glu Tyr
5

<210> 68
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 346...354
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 68

10

Ala Thr Glu Asp Gly Gly Asp Ala Ser
5

<210> 69
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 360...368
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 69

20

Ala Ala Val Pro Leu Ile Ser Asn Lys
5

<210> 70
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 153...161
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 70

30

Ser Ser Asp Asn Leu Arg Val Ser Ser
5

<210> 71
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 182...190
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 71

Val Thr Ala Leu His His Ser Val Tyr
5

<210> 72
<211> 9
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<220>
<222> 143...151
<223> TADG-12 peptide
<400> 72

Cys Ala Gln Leu Gly Phe Pro Ser Tyr
5

<210> 73
<211> 9
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<220>
<222> 259...267
<223> TADG-12 peptide
<400> 73

Cys Val Tyr Asp Leu Tyr Leu Pro Lys
5

<210> 74
<211> 9
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<220>
<222> 369...377
<223> TADG-12 peptide
<400> 74

Ile Cys Asn His Arg Asp Val Tyr Gly
5

<210> 75
<211> 9
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<220>
<222> 278...286
<223> TADG-12 peptide
<400> 75

Leu Leu Asp Asn Pro Ala Pro Ser His
5

<210> 76
<211> 9
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

10

20

30

<220>
 <222> 426...434
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 76

Cys Ala Glu Val Asn Lys Pro Gly Val
5

<210> 77
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 32...40
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 77

10

Asp Ala Asp Ala Val Ala Ala Gln Ile
5

<210> 78
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 406...414
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 78

20

Val Cys Gln Glu Arg Arg Leu Trp Lys
5

<210> 79
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 329...337
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 79

Ser Glu Glu Asn Phe Pro Asp Gly Lys
5

30

<210> 80
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 303...311
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 80

Gly Asn Asp Ile Ala Leu Met Lys Leu
5

<210> 81
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 127...135
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 81

Lys Thr Met Cys Ser Asp Asp Trp Lys
5

<210> 82
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 440...448
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 82

10

Phe Leu Asp Trp Ile His Glu Gln Met
5

<210> 83
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 433...441
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 83

20

Val Tyr Thr Arg Val Thr Ser Phe Leu
5

<210> 84
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 263...271
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 84

30

Leu Tyr Leu Pro Lys Ser Trp Thr Ile
5

<210> 85
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 169...177
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 85

Glu Phe Val Ser Ile Asp His Leu Leu
5

<210> 86
<211> 9
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<220>
<222> 296...304
<223> TADG-12 peptide
<400> 86

Lys Tyr Lys Pro Lys Arg Leu Gly Asn
5

10

<210> 87
<211> 9
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<220>
<222> 16...24
<223> TADG-12 peptide
<400> 87

Arg Ser Leu Phe Gly Leu Asp Asp Leu
5

20

<210> 88
<211> 9
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<220>
<222> 267...275
<223> TADG-12 peptide
<400> 88

Lys Ser Trp Thr Ile Gln Val Gly Leu
5

30

<210> 89
<211> 9
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<220>
<222> 81...89
<223> TADG-12 peptide
<400> 89

Arg Ser Ser Phe Lys Cys Ile Glu Leu
5

<210> 90
<211> 9
<212> PRT

<213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 375...383
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 90

Val Tyr Gly Gly Ile Ile Ser Pro Ser
5

<210> 91
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 110...118
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 91

10

Arg Val Gly Gly Gln Asn Ala Val Leu
5

<210> 92
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 189...197
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 92

20

Val Tyr Val Arg Glu Gly Cys Ala Ser
5

<210> 93
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 165...173
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 93

Gln Phe Arg Glu Glu Phe Val Ser Ile
5

30

<210> 94
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 10...18
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 94

Glu Ala Pro Phe Ser Phe Arg Ser Leu
5

<210> 95
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 407...415
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 95

Cys Gln Glu Arg Arg Leu Trp Lys Leu
5

<210> 96
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 381...389
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 96

10

Ser Pro Ser Met Leu Cys Ala Gly Tyr
5

<210> 97
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 375...383
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 97

20

Val Tyr Gly Gly Ile Ile Ser Pro Ser
5

<210> 98
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 381...389
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 98

30

Ser Pro Ser Met Leu Cys Ala Gly Tyr
5

<210> 99
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 362...370
 <223> TADG-12 peptide

<400> 99

Val Pro Leu Ile Ser Asn Lys Ile Cys
5

<210> 100
<211> 9
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<220>
<222> 373...381
<223> TADG-12 peptide
<400> 100

Arg Asp Val Tyr Gly Gly Ile Ile Ser
5

<210> 101
<211> 9
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<220>
<222> 283...291
<223> TADG-12 peptide
<400> 101

Ala Pro Ser His Leu Val Glu Lys Ile
5

<210> 102
<211> 9
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<220>
<222> 177...185
<223> TADG-12 peptide
<400> 102

Leu Pro Asp Asp Lys Val Thr Ala Leu
5

<210> 103
<211> 9
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<220>
<222> 47...55
<223> TADG-12 peptide
<400> 103

Glu Val Phe Ser Gln Ser Ser Ser Leu
5

<210> 104
<211> 9
<212> PRT

10

20

30

<213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 36...44
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 104

Val Ala Ala Gln Ile Leu Ser Leu Leu
5

<210> 105
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 255...263
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 105

Thr Ala Ala His Cys Val Tyr Asp Leu
5

<210> 106
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 138...146
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 106

Tyr Ala Asn Val Ala Cys Ala Gln Leu
5

<210> 107
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 195...203
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 107

Cys Ala Ser Gly His Val Val Thr Leu
5

<210> 108
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 215...223
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 108

Ser Ser Arg Ile Val Gly Gly Asn Met
5

10

20

30

<210> 109
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 298...306
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 109

Lys Pro Lys Arg Leu Gly Asn Asp Ile
5

<210> 110
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 313...321
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 110

10

Gly Pro Leu Thr Phe Asn Glu Met Ile
5

<210> 111
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 108...116
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 111

20

Cys Val Arg Val Gly Gly Gln Asn Ala
5

<210> 112
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 294...302
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 112

30

His Ser Lys Tyr Lys Pro Lys Arg Leu
5

<210> 113
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 265...273
 <223> TADG-12 peptide

<400> 113

Leu Pro Lys Ser Trp Thr Ile Gln Val
5

<210> 114
<211> 9
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<220>
<222> 88...96
<223> TADG-12 peptide
<400> 114

Glu Leu Ile Thr Arg Cys Asp Gly Val
5

<210> 115
<211> 9
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<220>
<222> 79...87
<223> TADG-12 peptide
<400> 115

Arg Cys Arg Ser Ser Phe Lys Cys Ile
5

<210> 116
<211> 9
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<220>
<222> 255...263
<223> TADG-12 peptide
<400> 116

Thr Ala Ala His Cys Val Tyr Asp Leu
5

<210> 117
<211> 9
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<220>
<222> 207...215
<223> TADG-12 peptide
<400> 117

Ala Cys Gly His Arg Arg Gly Tyr Ser
5

<210> 118
<211> 9
<212> PRT

10

20

30

<213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 154...162
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 118

Ser Asp Asn Leu Arg Val Ser Ser Leu
 5

<210> 119
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 300...308
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 119

10

Lys Arg Leu Gly Asn Asp Ile Ala Leu
 5

<210> 120
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 435...443
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 120

20

Thr Arg Val Thr Ser Phe Leu Asp Trp
 5

<210> 121
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 376...384
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 121

Tyr Gly Gly Ile Ile Ser Pro Ser Met
 5

30

<210> 122
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 410...418
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 122

Arg Arg Leu Trp Lys Leu Val Gly Ala
 5

<210> 123
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 210...218
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 123

His Arg Arg Gly Tyr Ser Ser Arg Ile
 5

<210> 124
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 109...117
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 124

10

Val Arg Val Gly Gly Gln Asn Ala Val
 5

<210> 125
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 191...199
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 125

20

Val Arg Glu Gly Cys Ala Ser Gly His
 5

<210> 126
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 78...86
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 126

30

Tyr Arg Cys Arg Ser Ser Phe Lys Cys
 5

<210> 127
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 113...121
 <223> TADG-12 peptide

<400> 127

Gly Gln Asn Ala Val Leu Gln Val Phe
5

<210> 128
<211> 9
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<220>
<222> 91...99
<223> TADG-12 peptide
<400> 128

Thr Arg Cys Asp Gly Val Ser Asp Cys
5

<210> 129
<211> 9
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<220>
<222> 38...46
<223> TADG-12 peptide
<400> 129

Ala Gln Ile Leu Ser Leu Leu Pro Phe
5

<210> 130
<211> 9
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<220>
<222> 211...219
<223> TADG-12 peptide
<400> 130

Arg Arg Gly Tyr Ser Ser Arg Ile Val
5

<210> 131
<211> 9
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<220>
<222> 216...224
<223> TADG-12 peptide
<400> 131

Ser Arg Ile Val Gly Gly Asn Met Ser
5

<210> 132
<211> 9
<212> PRT

10

20

30

<213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 118...126
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 132

Leu Gln Val Phe Thr Ala Ala Ser Trp
 5

<210> 133
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 370...378
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 133

10

Cys Asn His Arg Asp Val Tyr Gly Gly
 5

<210> 134
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 393...401
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 134

20

Gly Val Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser
 5

<210> 135
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 235...243
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 135

Leu Gln Phe Gln Gly Tyr His Leu Cys
 5

30

<210> 136
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 427...435
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 136

Ala Glu Val Asn Lys Pro Gly Val Tyr
 5

<210> 137
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 162...170
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 137

Leu Glu Gly Gln Phe Arg Glu Glu Phe
5

<210> 138
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 9...17
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 138

10

Val Glu Ala Pro Phe Ser Phe Arg Ser
5

<210> 139
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 318...326
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 139

20

Asn Glu Met Ile Gln Pro Val Cys Leu
5

<210> 140
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 256...264
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 140

30

Ala Ala His Cys Val Tyr Asp Leu Tyr
5

<210> 141
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 46...54
 <223> TADG-12 peptide

<400> 141

Phe Glu Val Phe Ser Gln Ser Ser Ser
 5

<210> 142
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 64...72
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 142

Leu Ala Ile Gly Leu Gly Ile His Phe
 5

<210> 143
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 192...200
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 143

Arg Glu Gly Cys Ala Ser Gly His Val
 5

<210> 144
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 330...338
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 144

Glu Glu Asn Phe Pro Asp Gly Lys Val
 5

<210> 145
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 182...190
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 145

Val Thr Ala Leu His His Ser Val Tyr
 5

<210> 146
 <211> 9
 <212> PRT

10

20

30

<213> *Homo sapiens*
<220>
<222> 408...416
<223> TADG-12 peptide
<400> 146

Gln Glu Arg Arg Leu Trp Lys Leu Val
5

<210> 147
<211> 9
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<220>
<222> 206...214
<223> TADG-12 peptide
<400> 147

10

Thr Ala Cys Gly His Arg Arg Gly Tyr
5

<210> 148
<211> 9
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<220>
<222> 5...13
<223> TADG-12 peptide
<400> 148

20

Asp Pro Pro Ala Val Glu Ala Pro Phe
5

<210> 149
<211> 9
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<220>
<222> 261...269
<223> TADG-12 peptide
<400> 149

Tyr Asp Leu Tyr Leu Pro Lys Ser Trp
5

30

<210> 150
<211> 9
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<220>
<222> 33...41
<223> TADG-12 peptide
<400> 150

Ala Asp Ala Val Ala Ala Gln Ile Leu
5

<210> 151
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 168...176
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 151

Glu Glu Phe Val Ser Ile Asp His Leu
5

<210> 152
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 304...312
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 152

10

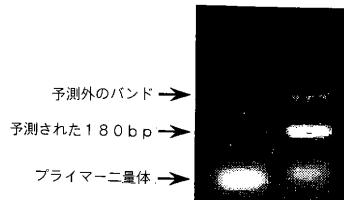
Asn Asp Ile Ala Leu Met Lys Leu Ala
5

<210> 153
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 104...112
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 153

20

Asp Glu Tyr Arg Cys Val Arg Val Gly
5

【図1A】



【図1B】

TADG12 ↓

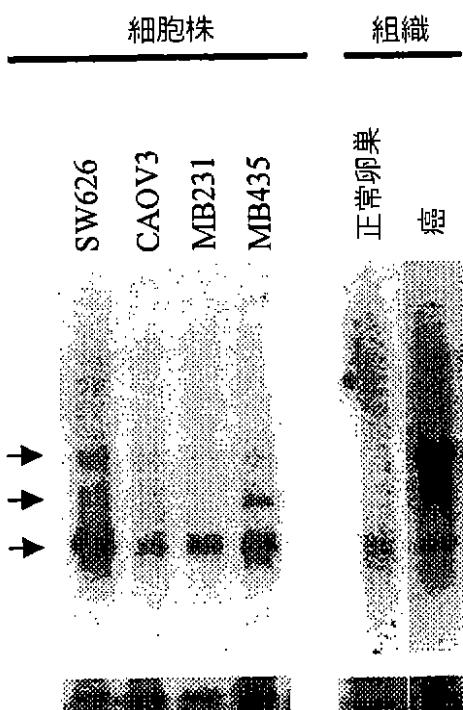
1 TGGGTGGTGACGGCGGCCACTGTGTTTATGACTTGTACCTCCCCAAGTCATGGACCATC
 W V V T A A H C V Y D L Y L P K S W T I
 (配列番号 5)
 61 CAGCTGGGTCTAGTTCCCTGTGGACAATCCAGCCCCATCCCACTTGGTGGAGAAAGATT
 Q V G L V S L L D N P A P S H L V E K I
 (配列番号 5)
 121 GTCTACCACAGCAAGTACAAGCCAAGAGGCTGGGCAACGACATGCCCTCTTA
 V Y H S K Y K P K R L G N D I A L L
 (配列番号 6)

TADG12-V ↓

1 GGGTGGTGACGGCGGCCACTGTGTTTATGAGATTGTAGCTCTAGAGAAAAGGGCAGACA
 V V T A A H C V Y E I V A P R E R A D R
 61 GAAGAGGAAGGAAGCTCTGTGCTGGAGGAACCCACAAAAATGAAAGGACCTAGACCTT
 R G R K L L C W R K P T K M K G P R P S
 (配列番号 8)
 121 CCCATAGCTAATTCCAGTGGACCATGTTATGGCAGATACTGGCTTGTACCTCCCCAAGTC
 H S * (配列番号 8)

181 ATGGACCCATCCAGGTGGGTCTAGTTCCCTGTGGACAATCCAGCCCCATCCCACCTTGGT
 241 GGAAAGATTGTCTAACACAGCAAAGTACAAGCCAAGGGCTGGGCAACGACATGCCCT
 301 CCTAATCACTAGTGCAGGCCCTGCAGG (配列番号 7)

【図2】



【図3】

Figure 1: Electrophoresis gel showing RNA bands across various brain regions and tissues. Lanes are numbered 1 through 8 at the top. Rows are labeled A through H on the left.

	1	2	3	4	5	6	7	8
A	-	•	*	-	-	-	-	-
B	-	•	•	-	-	-	-	-
C	•	-	•	-	-	-	-	-
D	-	-	-	-	-	•	-	-
E	-	•	-	-	-	-	-	-
F	-	-	-	-	-	-	-	-
G	-	-	-	-	-	-	-	-
H	-	-	-	-	-	-	-	-
A	全脳	扁桃	尾状核	小脳	大脳皮質	前頭葉	海馬	延髄
B	後頭葉	被殼	黒質	側頭葉	視床	視床下核	脊髓	-
C	心臓	大動脈	骨格筋	結腸	膀胱	子宮	前立腺	胃
D	精巢	卵巢	脾臓	下垂体	副腎	甲状腺	唾液腺	乳腺
E	腎臓	肝臓	小腸	脾臓	胸腺	末梢白血球	リンパ節	骨髄
F	盲腸	肺	気管	胎盤	-	-	-	-
G	胎児脳	胎児心臓	胎児腎臓	胎児肝臓	胎児脾臓	胎児胸腺	胎児肺	-
H	酵母 全RNA 100ng	酵母 tRNA 100ng	大腸菌 rRNA 100ng	大腸菌 DNA 100ng	ボリ r(A)	ヒト C _t 1 DNA 100ng	ヒト DNA 100ng	ヒト DNA 500ng

【図4】

【図 5 A】

```

Comp8c CEG .EFC AQTGRCVNRR LLNCNGDNDCG PQSDELN.C (配列番号 9)
Matr CPG .QFTC .RTGRCVTC LRCDDGWADCT DHSEDLN.C (配列番号 10)
Gp300-1 CGQGYTCA QSEQGCQIPSS WVCBDQGQDQCD GDSRQDER.C (配列番号 11)
Gp300-2 CSQHXYTC .SNQGCQIPSS YRCDBHVRCP DGADE, NDC (配列番号 12)
TAG12G CSGK .YTC RSFSKFCIELI TRCGDVGSDCK GEDEYCR.C (配列番号 13)
Tmrp22 CSNSGTEC DSSGTGCIINPS NWCDGVHSCH GGEDEYCR.C (配列番号 14)

```

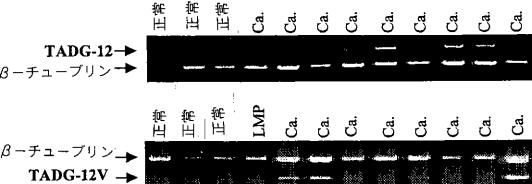
【図 5 B】

BovEntk	VRLVGGSPH EGRVEI.FHE	GQNGTCVCDR	WELRGGLVVC	RSLGKYKGVS
MacSR	VRLVGGSPH EGRVEI.LHS	GQNGTCICDR	WEVRVGQVVC	RSLGYPGVQA
TADG12	VRVGG... AN QLVQFPTA...	ASWKTMCSDD	WKGHYANVAC	AQLGFPF. SYV
Tmrprss2	YRLY... PN FLQMYSSQR	KSHWHPVCODD	WNENYNGRAAC	RDMGYKNNNS...
HumEntk	VRFFNGTTNN NGLVRFRFIQ.	SIWHTACAEN	WTIQISNDVC	QLLGLGS..
Cons	VR	W	C	W
				C
BovEntk	VHKRAYFGKG	TGPIWLNEVF	CFGK... .ESSI	ECCRIRQWGV R.ACSSHEDA
MacSR	VHKHAHQFGKG	TGPIWLNEVF	CFG... .ESSI	ECCRIRQWGT R.ACSSHEDA
TADG12	SSDNLVRVSSL	ECQFREEPS	I.DHLLPDOK	VTALHHVSVY REGCAGSHHV
Tmrprss2	SSQGIVDDSG	STSFMKLN TA.GNV... .DI	YKKLYHS...	DACSSKAVV
HumEntk	NSSKPIFSTD	GGPFVKLN TA.PDHGLILTPS	QQ.....	...CLQDSLI
Cons				C
BovEntk	GVCTC	(配列番号 1 5)		
MacCSR	GVCTC	(配列番号 1 6)		
TADG12	TLCQT	(配列番号 1 7)		
Tmrprss2	SLRCL	(配列番号 1 8)		
HumEntk	RLQCQ	(配列番号 1 9)		
Cons	C			

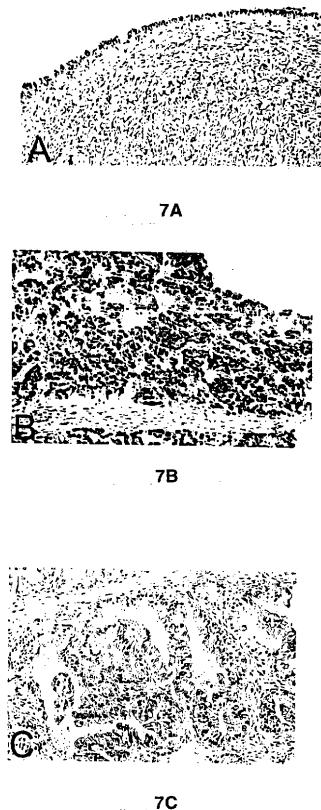
【 図 5 C 】

ProM	LWVLTAACCK	KPNL	QVFLGKHNLL	QRESSQQEQQSS	VVRVAVIHPDY
Try1	QWVVSAGCHY	KSR1	QVRGLERHNNIE	VLEGNEQFVIN	AAKIIHRHPQY
Kal	QWVLTAAHCDF	PLQLQDW	RIYSGILNL	DITKTFDSQ	IKEIVVIIHNSK
TADG12	LWIIITAACCV	YDLYLPKSW	TIQGLVLN	SL LDNPAFSLH	VEKIVVIIHNSK
Impress2	EWIVITAACHV	EKPFLNPWHW	TAFAFGRLRQG	FMFYGAQY	GQYKVASHPNP
Heps	DWVLTAAHCDF	PERNRVLSKCF	TPRFGAVAGAQA	SFHQLCGQ..	VQAVVSHYHGQY
Cons	W	A	HC		G	H Y
ProM	DAAS	HDQDIMALRL	ARPAKLSLEI	QPLPLERDCS	ANT .. TSCHI
Try1	DRKT	LNNDIMILKL	SSRAVINARV	STISLSPATT	ATG .. TKCLL
Kal	VKSE	GNHDIALIILK	QAPLNLTYTEQF	KFICLPSKGDD	TSTIYVHNGCWT
TADG12	KPKR	LGNDIALMKL	AGPLFTNEMI	QVCPULPNSEE	NNFDGKVCWGT
Impress2	DSK1	KNNDIALMKL	QKPLFTNDLV	FKVCPULPNPGM	MLQPEQCLWQ
Heps	LFFRDPNSEE	NSNDIALMKL	SSPLPLTTEYYI	QVCPULPAACQ	ALVGDGKICTV	
Cons	DI	L	L		L	
ProM	LGWGKTAD ..	GDFPDTIQCA	YIHLVSRREEC	EHA .. YPGKI	TQNMLLCAGDE	
Try1	SGWGMNTASSG	ADYDPELQL	DAPVLQSKC	EAS .. YPGKI	TSNMFCVGEL	
Kal	TGWGSKCEK	QEIQNLQK	NIPLVPLTNEEC	KQR .. YDQYKI	TORMWCAGY	
TADG12	SGWGMAT	EDG	GDASPVLNHA	APEVLISKIC	NHRDVYGGII	SFSMPMCAGYL
Impress2	SGWGMAT	EEK	GKTSEVILNA	KVILLIZTORG	NSRIVIDNL1	TPAMICAGY
Heps	TGWGNT .. QYY	GQQGAVLQE	NSRIVIDNVC	NGADFVYGNQI	KPRMFCAGY	
Cons	GWG			C	I	M C G
ProM	KYGKDSQCGD	SGGPGLVC	(配列番号 2 0)			
Try1	EGGKDSQCGD	SGGPVVVC	(配列番号 2 1)			
Kal	EGGKDACKGD	SGGPGLVC	(配列番号 2 2)			
TADG12	TGGVDSQCGD	SGGPGLVC	(配列番号 2 3)			
Impress2	QGNWDSQCGD	SGGPGLVT	(配列番号 2 4)			
Heps	EECCDTCGCG	SGGPGLVC	(配列番号 2 5)			

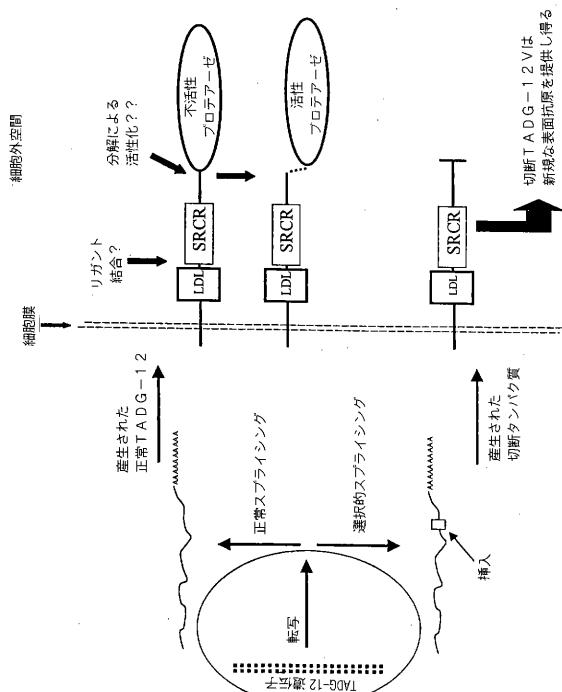
【図 6】



【図7】



【図8】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I
C 07 K 16/40 (2006.01)	C 07 K 16/40
A 61 K 39/00 (2006.01)	A 61 K 39/00
A 61 K 39/39 (2006.01)	A 61 K 39/39
A 61 P 35/00 (2006.01)	A 61 P 35/00

(72)発明者 アンダーウッド, ローウェル ジェイ
アメリカ合衆国 アーカンソー州 72205 リトル ロック エヌ ジャクソン ストリート
121 アパートメント ケー

審査官 小金井 悟

(56)参考文献 Cancer. Res., 1997年 7月15日, Vol.57, No.14, pp.2884-2887
Proc. Am. Assoc. Cancer Res., 1998年, Vol.39, p.648

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C12N 15/00 -15/90
C12N 9/50
CA/BIOSIS/MEDLINE/WPIDS(STN)
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII)
GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq
UniProt/GeneSeq
PubMed
REGISTRY(STN)