

(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 I

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 1 2 N 5/00 1 O 1

C 1 2 N 15/113 (2010.01)

C 1 2 N 15/00 G

C 1 2 N 9/50 (2006.01)

C 1 2 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) 国際出願番号 PCT/US2000/005612
 (87) 国際公開番号 W02000/052044
 (87) 国際公開日 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 断片であって:

(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 T A D G - 1 2 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を含む T A D G - 1 2 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 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。

【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：

(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。

【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。

【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ー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]。

【 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 1 0 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、卵巢癌の 5 年生存率は、依然として 5 0 % 未満である。C A 1 2 5 抗原の利用は卵巢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巢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巢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。

10

【 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、特に卵巢癌のための、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す得る T A D G - 1 2 の変異スプライシング形態(T A D G - 1 2 V)について開示する。T A D G - 1 2 は卵巢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 4 5 4 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。

40

【 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。

【 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

【 0 0 1 1 】

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。

【 0 0 1 2 】

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。

【 0 0 1 3 】

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。

【 0 0 1 4 】

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。

【 0 0 1 5 】

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。

【 0 0 1 6 】

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。

【 0 0 1 7 】

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。

【 0 0 1 8 】

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。

【 0 0 1 9 】

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。

【 0 0 2 0 】

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 1 B は、T A D G - 1 2 が 1 8 0 b p バンドからサブクローン化され、一方、大きな 3 0 0 b p バンドが T A D G - 1 2 V を指定することを示す。その配列において、1 8 0 b p (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 1 3 3 塩基の挿入を有する 3 0 0 b p T A D G - 1 2 V (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、T A D G - 1 2 V の転写を生じさせて変異アミノ酸配列を有する T A D G - 1 2 の切断形態を潜在的に産生する。

【 0 0 2 1 】

図 2 は、T A D G - 1 2 のノーザンブロット分析において、2 . 4、1 . 6 および 0 . 7 k b の 3 つの転写物が顕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顕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。

【 0 0 2 2 】

図 3 は T A D G - 1 2 を詳細に調べた R N A ドットブロット (C L O N T E C H) を示す。最も転写量の多い心臓に代表されるように、5 0 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 T A D G - 1 2 転写物を有することも分かった。

【 0 0 2 3 】

図 4 は、オープンリーディングフレームの予測 4 5 4 アミノ酸 (配列番号 2) と共に、T A D G - 1 2 の c D N A 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けている。* は転写を終結させる終止コドンを表す。

【 0 0 2 4 】

図 5 A は、セリンプロテアーゼ T M P R S S 2 (U 7 5 3 2 9、配列番号 1 4) からの他の L D L R - A モチーフ、補体サブユニット C 8 (P 0 7 3 5 8、配列番号 9)、糖タンパク質 G P 3 0 0 の 2 つの L D L R - A 領域 (P 9 8 1 6 4、配列番号 1 1 - 1 2) およびセリンプロテアーゼのマトリプターゼ (matritptase) (A F 1 1 8 2 2 4、配列番号 1 0) と整列させて、T A D G - 1 2 の 3 5 アミノ酸 L D L R - A 領域 (配列番号 1 3) を示す。T A D G - 1 2 は他のセリンプロテアーゼと最も高い類似性を有し、T M P R S S 2 に対して 5 4 % 類似し、マトリプターゼに対して 5 3 % 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 5 B は、ヒトマクロファージスカベンジャー受容体 (P 2 1 7 5 7、配列番号 1 6)、ヒトエンテロキナーゼ (P 9 8 0 7 3、配列番号 1 9)、ウシエンテロキナーゼ (P 2 1 7 5 8、配列番号 1 5) およびセリンプロテアーゼ T M P R S S 2 (配列番号 1 8) 等の他のドメインファミリーメンバーと整列させて、T A D G - 1 2 の S R C R 領域 (配列番号 1 7) を示す。前記と同様に T A D G - 1 2 はその領域内においてプロテアーゼ T M P R S S 2 に対して最も類似性を示し、4 3 % 類似する。図 5 C は、プロテアーゼ M (U 6 2 8 0 1、配列番号 2 0)、トリプシノーゲン 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。各配列のコンセンサス配列を示している。

【 0 0 2 5 】

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。内部対照としての β -チューブリン産物の P C R 増幅と並行して、T A D G - 1 2 または T A D G - 1 2 V の増幅を実施した。T A D G - 1 2 転写物は 5 5 の癌の内 4 1 において過剰発現していることが認められた。T A D G - 1 2 V 転写物は調べた 2 2 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。

【 0 0 2 6 】

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。正常卵巣（図 7 A）において顕著な染色は検出されなかった。調べた 2 9 の癌の内 2 2 において強い陽性染色が観察された。図 7 B および図 7 C 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 - マ細胞は相対的に染色されずに残った。

【 0 0 2 7 】

図 8 は、細胞内での T A D G - 1 2 の経過を示す。正常環境において、T A D G - 1 2 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。残されたり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 T A D G - 1 2 V の転写物は突然変異の結果でありおよび / または m R N A の弱いプロセッシングは機能的プロテアーゼ領域を持たない T A D G - 1 2 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питープを提供し得る。

【 0 0 2 8 】

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、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 P C R プライマーを利用する P C R 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 - 1 2 (T A D G - 1 2) 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。T A D G - 1 2 は多くの卵巣腫瘍において過剰発現すると思われる。T A D G - 1 2 の細胞外特性は、T A D G - 1 2 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 3 5 % において、T A D G - 1 2 V と称される T A D G - 1 2 のスプライシング変異体が上昇レベルで検出された。T A D G - 1 2 V は将来の治療的アプローチのための独特な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、T A D G - 1 2 の切断形態をコードする。

【 0 0 2 9 】

T A D G - 1 2 c D N A は 2 4 1 3 塩基対長（配列番号 1）であり、4 5 4 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 T A D G - 1 2 V（配列番号 3）は 2 9 4 アミノ酸タンパク質（配列番号 4）をコードする。T A D G - 1 2 よび / または T A D G - 1 2 V 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 T A D G - 1 2 および / または T A D G - 1 2 V 遺伝子を用いることができる。

【 0 0 3 0 】

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 D N A 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。

【 0 0 3 1 】

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。

【 0 0 3 2 】

10

20

30

40

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ライブラリー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、インピボにおいて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、ウィルス）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）、ウィルス、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、インピボにおいて、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かつ下流(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。

【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。

【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】

本発明のプロープ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。

【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があるか、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。

【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、鋳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

10

20

30

40

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た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ド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。

【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」。配列データベース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ザ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。

【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トロンまたは天然遺伝子と異なるコドンを含む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。

【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。

【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

10

20

30

40

50

流測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、 α -グルクロニダーゼ、 β -D-グルコシダーゼ、 β -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、ピッチア・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す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。

【００６２】

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。

【００６３】

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。

【００６４】

「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。

【００６５】

「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。

【００６６】

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、その位置においてそれら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。

10

20

30

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 D N A 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 D N A 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 D N A 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

20

【 0 0 6 8 】

「実質的に純粋なタンパク質」は、天然において付随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、インビボ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ー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。天然の状態での目的タンパク質に付随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随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、天然において付随する成分を実質的に含まない。従って、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 D N A 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

40

50

として) ことができる。免疫原として T A D G - 1 2 または T A D G - 1 2 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 T A D G - 1 2 c D N A クローンと同定する能力、および公知の c D N A クローンから T A D G - 1 2 c D N A クローン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。

【 0 0 7 0 】

さらには、例えば選択的 m R N A 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 T A D G - 1 2 タンパク質、あるいは T A D G - 1 2 の配列の一部が欠失している T A D G - 1 2 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 T A D G - 1 2 ポリペプチドを共有結合させて差し支えない。

10

【 0 0 7 1 】

また、本発明は、T A D G - 1 2 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 F a b または (F a b)₂ 断片；人工単鎖 F v 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。

【 0 0 7 2 】

20

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、 α - 5 - ステロイドイソメラーゼ、アルコール脱水素酵素、 α - 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、 α - 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、アセチルコリンエステラーゼ等が挙げられる。適切な放射性標識として、³ H、^{1 2 5} I、^{1 3 1} I、^{3 2} P、^{3 5} S、^{1 4} C 等が挙げられる。

30

【 0 0 7 3 】

本発明の方法に基づいて、インビボ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。インビボ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、フルオレサミ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。

40

【 0 0 7 4 】

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

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。 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、標準のノーザンブロット法を用いて、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 2 0 以上（好ましくは 3 0 以上、より好ましくは 5 0 以上、さらに最も好ましくは 1 0 0 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。

【 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。ノーザンブ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。

【 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。

【 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

パク質に関する。好ましくは、その単離および精製した 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 に示すアミノ酸配列を有する。

【 0 0 8 2 】

また、本発明は、(a) 細胞から採取した m R N A 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 m R N A 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 T A D G - 1 2 タンパク質の発現を検出する方法に関する。

【 0 0 8 3 】

切断産物 T A D G - 1 2 V を含む、T A D G - 1 2 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

【 0 0 8 4 】

本発明の 1 つの実施形態において、生物試料中の T A D G - 1 2 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、T A D G - 1 2 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、T A D G - 1 2 タンパク質の検出は、ノーザンブロット、ウェスタンブロット、ドットブロット、E L I S A サンドイッチ法、ラジオイムノアッセイ、D N A 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 T A D G - 1 2 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

【 0 0 8 5 】

本発明の別の実施形態において、生物試料中における T A D G - 1 2 タンパク質または T A D G - 1 2 m R N A 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、T A D G - 1 2 タンパク質または T A D G - 1 2 m R N A 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、T A D G - 1 2 m R N A を検出するために P C R 増幅を用い、ここで用いられるプライマーは配列番号 2 8 - 3 1 より成る群から選択される。さらに好ましくは、T A D G - 1 2 タンパク質に対する抗体への免疫親和性によって、T A D G - 1 2 タンパク質の検出を行う。

【 0 0 8 6 】

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 T A D G - 1 2 の D N A 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 T A D G - 1 2 m R N A 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 T A D G - 1 2 アンチセンス m R N A を産生し、そのアンチセンス m R N A は内因性 T A D G - 1 2 m R N A にハイブリダイズし、それによって内因性 T A D G - 1 2 m R N A の発現を阻害する。

30

【 0 0 8 7 】

本発明のさらに別の実施形態において、T A D G - 1 2 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 T A D G - 1 2 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 T A D G - 1 2 タンパク質またはその断片に結合することによって、T A D G - 1 2 タンパク質の発現を阻害する。

40

【 0 0 8 8 】

切断形態を含む T A D G - 1 2 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、T A D G - 1 2 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、T A D G - 1 2 タンパク質に治する抗体および T A D G - 1 2 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。T A D G - 1 2 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 T A D G - 1 2 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、それによって個体に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。それら試料は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、そ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ク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

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、さらに選択培地中で増殖する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。

10

【0096】

初代のTADG-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。

20

【0097】

実施例4

定量的PCR

定量的PCRを用いて、TADG-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：TADG-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TADG-12のために、5' - T C C A G G T G G G T C T A G T 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25μl中に、反応バッファー(Promega)と共に、mRNA(50ng)から誘導されたcDNA、TADG-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(5pmol)、dNTPs(200μmol)、³²PdCTP(5μCi)、ならびにTaq DNAポリメラーゼ(0.25unit)を含む。-チューブリン遺伝子と並行させて、ターゲット配列を増幅した。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℃での30秒間の変性、60℃での30秒間のアニーリング、および72℃での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、ホスホイメージャー(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、ホスホイメージャーによって測定した発現比(TADG-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。

30

40

【0098】

実施例5

TADG-12/TADG-12V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)

50

を用いて配列決定反応を実施した。Centri-step™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シーケン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ルランドウサギを免疫することによって、ポリクロナー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。RiBiアジュバント中において乳化させたペプチド(約100 µg)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(10 µg)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、精巢、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ンで対比染色した。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 cDNA 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 cDNA 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ン化し、さらに配列決定した。180 bp バンドからのサブクローンの配列 (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にコードする。また、4 つの各腫瘍由来の TADG - 12 変異体をサブクローン化し、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 cDNA 派生クローンのゲノム配列を増幅しかつ調べて、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。

【0104】

実施例 10

TADG - 12 発現のノーザンブロット分析

転写サイズおよび組織分布を調べるため、触媒領域サブクローン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 - 435 および MD-MBA - 231 のノーザンブ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ブロットにおいて、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：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、肝臓および腎臓についてノーザンブロットを調べた。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 ドットブロットを調べて、示された全ての組織において、そのクローン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。

【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ンを用い、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 cDNA 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 つのクローンを同定し、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ン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 染色体からのコスミドに相同であることを示した。そのコスミドは登録番号 AC015555 を有する。

【0106】

同定された cDNA 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産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

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 群に対する相同性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

10

20

30

40

50

に、 α -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PCR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ャーを用いた。TADG-12およびTADG-12V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 α -チューブリンに対するTADG-12（またはTADG-12V）の平均比 \pm 2SD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。TADG-12は評価した55の癌の内41において過剰発現されているが、一方、変異体は22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（ $p < 0.05$ ）。

【0112】

10

【表1】

表1

卵巣癌におけるTADG-12の過剰発現の頻度

組織型	TADG-12 (%)
正常	0/16 (0%)
LMP-漿液性	3/6 (50%)
LMP-粘液性	0/4 (0%)
漿液性癌	23/29 (79%)
粘液性癌	7/12 (58%)
子宮内膜癌	8/8 (100%)
明細胞癌	3/6 (50%)
良性腫瘍	3/4 (75%)

20

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

LMP=低悪性潜在的腫瘍

【表2】

表2

卵巣癌におけるTADG-12Vの過剰発現の頻度

組織型	TADG-12V (%)
正常	0/10 (0%)
LMP-漿液性	0/5 (0%)
LMP-粘液性	0/3 (0%)
漿液性癌	4/14 (29%)
粘液性癌	3/5 (60%)
子宮内膜癌	1/3 (33%)
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

LMP=低悪性潜在的腫瘍

40

実施例13

卵巣腫瘍細胞におけるTADG-12の免疫組織化学分析

TADG-12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ーナルウサギ抗血清を開発した。それら抗体を用いて、TADG-12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7A）が、一方、試験した29の腫瘍の内22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。T A D G - 1 2 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、T A D G - 1 2 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 T A D G - 1 2 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。2 9 の卵巢腫瘍の内 2 2 が T A D G - 1 2 の陽性染色を示したが、正常卵巢上皮は T A D G - 1 2 抗原の発現を全く示さなかった。1 0 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。

10

【 0 1 1 4 】

【表 3】

表3

事例	ステージ	組織	グレード	LN*	TADG-12	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		ND	0-	生存
5		粘液性B		ND	1+	生存
6	1a	漿性LMP	G1	ND	1+	生存
7	1a	粘液性LMP	G1	ND	1+	生存
8	1a	粘液性CA	G1	ND	1+	生存
9	1a	粘液性CA	G2	ND	1+	生存
10	1a	子宮内膜CA	G1	ND	0-	生存
11	1c	漿液性CA	G1	N	1+	生存
12	1c	粘液性CA	G1	N	1+	生存
13	1c	粘液性CA	G1	N	2+	生存
14	1c	明細胞CA	G2	N	0-	生存
15	1c	明細胞CA	G2	N	0-	生存
16	2c	漿液性CA	G3	N	2+	生存
17	3a	粘液性CA	G2	N	2+	生存
18	3b	漿液性CA	G1	ND	1+	生存
19	3c	漿液性CA	G1	N	0-	死亡
20	3c	漿液性CA	G3	P	1+	生存
21	3c	漿液性CA	G2	P	2+	生存
22	3c	漿液性CA	G1	P	2+	不明
23	3c	漿液性CA	G3	ND	2+	生存
24	3c	漿液性CA	G2	N	0-	死亡
25	3c	粘液性CA	G1	P	2+	死亡
26	3c	粘液性CA	G2	ND	1+	不明
27	3c	粘液性CA	G2	N	1+	生存
28	3c	子宮内膜CA	G1	P	1+	死亡
29	3c	子宮内膜CA	G2	N	0-	生存
30	3c	子宮内膜CA	G2	P	1+	死亡
31	3c	子宮内膜CA	G3	P	1+	生存
32	3c	明細胞CA	G3	P	2+	死亡

LN*=リンパ節: B=良性; N=陰性; P=陽性; ND=未実施

実施例 14

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TADG-12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HLA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HLA分子とのより強い結合を示唆する。HLA対立遺伝子に対して強く結合するTADG-12ペプチドは推定

10

20

30

40

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

HLA型&順位付け 開始 ペプチド 予測解離半減期 配列番号

HLA A0201

1	40	ILSLLPFEV	685.783	35
2	144	AQLGFPSYV	545.316	36
3	225	LLSQWPWQA	63.342	37
4	252	WIITAACV	43.992	38
5	356	VLNHAAPVPL	36.316	39
6	176	LLPDDKVT	34.627	40
7	13	FSFRSLFGL	31.661	41
8	151	YVSSDNLRV	27.995	42
9	436	RVTSLDWI	21.502	43
10	234	SLQFQGYHL	21.362	44
11	181	KVTALHHSV	21.300	45
12	183	TALHHSVYV	19.658	46
13	411	RLWKLVGAT	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	LVGATSFGE	9.001	53
20	54	SLGIIALIL	8.759	54

HLA A0205

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	IQVGLVSL	19.040	57	
6	397	CQGDSGGPL	16.800	58	
7	227	SQWPWQASL	16.800	49	10
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	VLNHAAPVPL	11.900	39	20
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	30
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	40
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	CAEVNKPVG	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	EFVSIHLL	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	IQVGLVSL	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	VLNHAAPVPL	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	LPDDKV TAL	4.800	102	
4	265	LPKSWTIQV	2.400	113	
5	88	ELITRCDGV	2.400	114	
6	298	KPKRLGNDI	2.000	109	
7	81	RSSF KCI EL	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	RRLWKLPGA	60.000	122	
5	210	HRRGYSSRI	60.000	123	
6	227	SQWPWQASL	30.000	49	
7	109	VRVGGQNAV	20.000	124	10
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	20
14	216	SRIVGGNMS	10.000	131	
15	118	LQVFTAASW	10.000	132	
16	370	CNHRDVYGG	10.000	133	
17	393	GVDSCQGDS	10.000	134	
18	235	LQFQGYHLC	10.000	135	
19	271	IQVGLVSL	6.000	57	30
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	40
6	98	DCKDGEDEY	9.000	67	
7	46	FEVFSQSSS	8.000	141	

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
13	408	QERRLWKLV	6.000	146
14	206	TACGHRRGY	4.500	147
15	5	DPPAVEAPF	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	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。ノーザンブロットによって、その遺伝子の最も大きな転写物は約2.4 kb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をクローン化し、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得る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つの保存システイン領域の内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。

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 [2 3]。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し 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の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 [2 6] 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しすることができる。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しすることができる。

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 1 2】

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.
26. Torres-Rosado, A., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90: 7181-7185, 1993.

10

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。

【 0 1 2 0 】

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 1 A】 図 1 A は、重複セリンプロテアーゼプライマーを用いた約 180 bp の予測された PCR 産物および約 300 bp の予測外の PCR 産物が、正常卵巣 cDNA から増幅されない（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 1 B】 図 1 B は、TADG - 12 が 180 bp バンドからサブクローン化され、一方、大きな 300 bp バンドが TADG - 12 V を指定することを示す

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

【図 3】 図 3 は、TADG - 12 を詳細に調べた RNA ドットブロット（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 5 A】 図 5 A 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（matrilysin）（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 5 B】 図 5 B 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 5 C】 図 5 C 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】

SEQUENCE LISTING

<110>	O'Brien, Timothy J.				
<120>	Underwood, Lowell J.				
	Transmembrane Serine Protease Overexpressed				
	in Ovarian Carcinoma and Uses Thereof				
<130>	D6192PCT				
<141>	2000-03-02				
<150>	09/261,416				
<151>	1999-03-03				
<160>	153				
<210>	1				
<211>	2413				
<212>	DNA				20
<213>	<i>Homo sapiens</i>				
<220>					
<221>	CDS				
<223>	entire cDNA sequence of TADG-12 gene				
<400>	1				
cgggaaaggg	ctgtgtttat	gggaagccag	taacactgtg	gcctactatc	50
tcttccgtgg	tgccatctac	atttttggga	ctcgggaatt	atgaggtaga	100
ggtggaggcg	gagccggatg	tcagagggtcc	tgaaatagtc	accatggggg	150
aaaatgatcc	gcctgctgtt	gaagccccct	tctcattccg	atcgcttttt	200
ggccttgatg	atttggaaaat	aagtcctgtt	gcaccagatg	cagatgctgt	250
tgctgcacag	atcctgtcac	tgctgccatt	tgaagttttt	tcccaatcat	300
cgtcattggg	gatcattgca	ttgatattag	cactggccat	tggctctgggc	350
atccacttcg	actgctcagg	gaagtacaga	tgctcgctcat	cctttaagtg	400
tatcgagctg	ataactcgat	gtgacggagt	ctcggattgc	aaagacgggg	450
aggacgagta	ccgctgtgtc	cgggtgggtg	gtcagaatgc	cgtgctccag	500
gtgttcacag	ctgcttcgtg	gaagaccatg	tgctccgatg	actggaaggg	550
gttcacagca	aatgttgcct	gtgcccaact	gggtttccca	agctatgtga	600
gttcagataa	cctcagagtg	agctcgctgg	aggggcagtt	ccgggaggag	650
tttgtgtcca	togatcacct	cttgccagat	gacaagggtga	ctgcattaca	700
ccactcagta	tatgtgaggg	agggatgtgc	ctctggccac	gtggttacct	750
tgcagtgcac	agcctgtggt	catagaaggg	gctacagctc	acgcctcgtg	800
ggtggaacaa	tgtccttgct	ctcgcagtgg	ccctggcagg	ccagccttca	850
gttccagggc	taccactgtt	gcggggggtc	tgatcatcac	cccctgtgga	900
tcatactctg	tgacactgtt	gtttatgact	tgtacctccc	caagtcattg	950
accatccagg	tgggtctagt	ttccctgttg	gacaatccag	ccccatccca	1000
cttggtggag	aagattgtct	accacagcaa	gtacaagcca	aagaggctgg	1050
gcaatgacat	cgcccttatg	aagctggccg	ggccactcac	gttcaatgaa	1100
atgatccagc	ctgtgtgcct	gcccactctt	gaagagaact	tccccgatgg	1150
aaaagtgtgc	tggacgtcag	gatggggggc	cacagaggat	ggaggtgacg	1200
cctccccctgt	cctgaaccac	gcggccgtcc	ctttgatattc	caacaagatc	1250
tgcaaccaca	gggacgtgta	cgtggccatc	atctccccct	ccatgctctg	1300
cgcgggctac	ctgacgggtg	gcgtgaacag	ctgccagggg	gacagcgggg	1350
ggccccctgg	gtgtcaagag	aggaggtgtg	ggaagttagt	gggagcgacc	1400
agcttttgga	tcggctgcgc	agaggtgaac	aagcctgggg	tgtacaccgc	1450
tgatcacctcc	ttcctggact	ggatccacga	gcagatggag	agagacctaa	1500
aaacctgaag	aggaagggga	caagtagcca	cctgagttcc	tgaggtgatg	1550
aagacagccc	gatcctcccc	tggactcccc	tgtaggaacc	tgacacacag	1600
cagacaccct	tggagctctg	agttccggca	ccagtagcgg	gcccgaagaa	1650
ggcacccttc	catctgattc	cagcacaacc	ttcaagctgc	tttttgtttt	1700
ttgttttttt	gaggtggagt	ctcgctctgt	tgcccagggt	ggagtgcagt	1750

10

20

30

40

```

ggcgaaatac cctgctcact gcagcctccg cttccctggt tcaagcgatt 1800
ctcttgccctc agcttccccca gtagctggga ccacaggtgc ccgccaccac 1850
acccaactaa tttttgtatt tttagtagag acagggtttc accatgttgg 1900
ccaggctgct ctcaaaccoc tgacctcaaa tgatgtgect gcttcagcct 1950
cccacagtgc tgggattaca ggcattgggcc accacgccta gcctcacgct 2000
cctttctgat cttcactaag aacaaaagaa gcagcaactt gcaagggcgg 2050
cctttcccac tgggtccatct ggttttctct ccagggtctt gcaaaattcc 2100
tgacgagata agcagttatg tgacctcacg tgcaaagcca ccaacagcca 2150
ctcagaaaag acgcaccagc ccagaagtgc agaactgcag tcaactgcacg 2200
ttttcatctt tagggaccag aaccaaaacc accctttcta cttccaagac 2250
ttattttcac atgtggggag gttaattctag gaatgactcg tttaaggcct 2300
attttcatga tttctttgta gcatttggtg cttgacgtat tattgtcctt 2350
tgattccaaa taatatgttt cttccctca aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2400
aaaaaaaaaa 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
Arg Ser Leu Phe Gly Leu Asp Asp Leu Lys Ile Ser Pro Val Ala
      20      25
Pro Asp Ala Asp Ala Val Ala Ala Gln Ile Leu Ser Leu Leu Pro
      35      40
Phe Glu Val Phe Ser Gln Ser Ser Ser Leu Gly Ile Ile Ala Leu
      50      55
Ile Leu Ala Leu Ala Ile Gly Leu Gly Ile His Phe Asp Cys Ser
      65      70
Gly Lys Tyr Arg Cys Arg Ser Ser Phe Lys Cys Ile Glu Leu Ile
      80      85
Thr Arg Cys Asp Gly Val Ser Asp Cys Lys Asp Gly Glu Asp Glu
      95     100
Tyr Arg Cys Val Arg Val Gly Gly Gln Asn Ala Val Leu Gln Val
     110     115
Phe Thr Ala Ala Ser Trp Lys Thr Met Cys Ser Asp Asp Trp Lys
     125     130
Gly His Tyr Ala Asn Val Ala Cys Ala Gln Leu Gly Phe Pro Ser
     140     145
Tyr Val Ser Ser Asp Asn Leu Arg Val Ser Ser Leu Glu Gly Gln
     155     160
Phe Arg Glu Glu Phe Val Ser Ile Asp His Leu Leu Pro Asp Asp
     170     175
Lys Val Thr Ala Leu His His Ser Val Tyr Val Arg Glu Gly Cys
     185     190
Ala Ser Gly His Val Val Thr Leu Gln Cys Thr Ala Cys Gly His
     200     205
Arg Arg Gly Tyr Ser Ser Arg Ile Val Gly Gly Asn Met Ser Leu
     215     220
Leu Ser Gln Trp Pro Trp Gln Ala Ser Leu Gln Phe Gln Gly Tyr
     230     235

```

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

10

20

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

cgggaaaggg ctgtgtttat gggaagccag taacactgtg gctactatc 50
 tcttcctgtg tgccatctac atttttggga ctcggaatt atgaggtaga 100
 ggtggaggcg gagccgatg tcagaggtcc tgaaatagtc accatggggg 150
 aaaatgatcc gcctgtgtgt gaagccccct tctcattccg atcgcttttt 200
 ggcttctgatg atttgaaaat aagtcctgtt gcaccagatg cagatgctgt 250
 tgctgcacag atcctgtcac tgctgccatt tgaagttttt tcccaatcat 300
 cgtcattggg gatcattgca ttgatattag cactggccat tggctctggg 350
 atccacttcg actgctcagg gaagtacaga tgctgctcat cctttaagt 400
 tatcgagctg ataactcgat gtgacggagt ctcgatttgc aaagacgggg 450
 aggacgagta ccgctgtgtc cgggtgggtg gtcagaatgc cgtgctccag 500
 gtgttcacag ctgcttctgt gaagaccatg tgctccgatg actggaagg 550
 tcaactacgca aatgttgccg gtgccaact gggtttccca agctatgtaa 600
 gttcagataa cctcagagt agctcgctgg aggggcagtt ccgggaggag 650
 tttgtgtcca tcgatcacct cttgccagat gacaagggtga ctgcattaca 700
 ccactcagta tatgtgagg agggatgtgc ctctggccac gtggttacct 750
 tgcagtgcac agcctgtggt catagaagg gctacagctc acgcatcgtg 800

30

```

ggtggaaaca tgtccttgc ctgcagtg cctggcagg ccagccttca 850
gttccagggc taccacctgt gcgggggctc tgtcatcac cccctgtgga 900
tcatcactgc tgcacactgt gtttatgaga ttgtagctcc tagagaaagg 950
gcagacagaa gaggaaggaa gtcctgtgc tggaggaaac ccacaaaaat 1000
gaaaggacct agaccttccc atagctaatt ccagtggacc atgttatggc 1050
agatacaggc ttgtacctcc ccaagtcatg gaccatccag gtgggtctag 1100
tttccctgtt ggacaatcca gccccatccc acttggtgga gaagattgtc 1150
taccacagca agtacaagcc aaagaggctg ggcaatgaca tcgcccttat 1200
gaagctggcc gggccactca cgttcaatga aatgatccag cctgtgtgcc 1250
tgcccaactc tgaagagaac ttccccgatg gaaaagtgtg ctggacgtca 1300
ggatgggggg ccacagagga tggaggtgac gcctcccctg tcctgaacca 1350
cgcgcccgtc cctttgattt ccaacaagat ctgcaaccac agggacgtgt 1400
acggtggcat catctcccc tccatgctct gcgcgggcta cctgacgggt 1450
ggcgtggaca gctgccaggg ggacagcggg gggccccctg tgtgtcaaga 1500
gaggaggctg tggaagttag tgggagcgac cagctttggc atcggctgcg 1550
cagaggtgaa caagcctggg gtgtacaccc gtgtcacctc cttcctggac 1600
tggatccacg agcagatgga gagagacctt aaaacctgaa gaggaagggg 1650
acaagtagcc acctgagttc ctgaggtgat gaagacagcc cgatcctccc 1700
ctggactccc gtgtaggaac ctgcacacga gcagacaccc ttggagctct 1750
gagttccggc accagtagcg ggcccgaag aggcaccctt ccacttgatt 1800
ccagcacaac cttcaagctg ctttttggtt ttgtttttt tgaggtggag 1850
tctcgctctg ttgccaggc tggagtgcag tggcgaaata ccctgctcac 1900
tgcagcctcc gcttccctgg ttcaagcgat tctcttgctt cagcttcccc 1950
agtagctggg accacagggt cccgccacca caccacta atttttgtat 2000
ttttagtaga gacagggttt caccatgttg gccaggctgc tctcaaacc 2050
ctgacctcaa atgatgtgcc tgcctcagcc tcccacagt ctgggattac 2100
aggcatgggc caccacgctt agcctcacgc tctttctga tcttactaa 2150
gaacaaaaga agcagcaact tgcaaggcg gcctttccca ctggtccatc 2200
tggttttctc tccagggtct tgcaaaattc ctgacgagat aagcagttat 2250
gtgacctcac gtgcaaagcc accaacagcc actcagaaaa gacgcaccag 2300
cccagaagtg cagaactgca gtcactgcac gttttcatct ttagggacca 2350
gaaccaaacc caccctttct acttccaaga cttattttca catgtgggga 2400
ggttaattcta ggaatgactc gtttaaggcc tattttcatg atttctttgt 2450
agcatttggt gcttgacgta ttattgtcct ttgattccaa ataatatgtt 2500
tccttcctc aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaa 2544

```

```

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

```

```

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

```

10

20

30

	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 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					
	290				

10

20

<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

tggtgtggtga	cggtgtgtgca	ctgtgtttat	gacttgtacc	tccccaagtc	50
atggaccatc	caggtgggtc	tagtttcct	gttgacaat	ccagcccat	100
cccacttggt	ggagaagatt	gtctaccaca	gcaagtacaa	gccaaagagg	150
ctgggcaacg	acatgcct	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					

20 25 30
 Pro Ala Pro Ser His Leu Val Glu Lys Ile Val Tyr His Ser Lys
 35 40 45
 Tyr Lys Pro Lys Arg Leu Gly Asn Asp Ile Ala Leu Leu
 50 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

10

ggggtggtgac ggcggcgac tgtgtttatg agattgtagc tcctagagaa 50
 agggcagaca gaagaggaag gaagctcctg tgctggagga aaccacaaa 100
 aatgaaagga cctagacctt cccatagcta attccagtgg accatgttat 150
 ggcagataca ggcttgtagc tcccaagtc atggaccatc caggtgggtc 200
 tagtttcct gttggacaat ccagcccat cccacttggt ggagaagatt 250
 gtctaccaca gcaagtacaa gccaaagagg ctgggcaacg acatcgccct 300
 cctaatact 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

20

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

30

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
 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
 5 10 15
 Pro Ser Ser Trp Val Cys Asp Gln Asp Gln Asp Cys Asp Asp Gly
 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
 5 10 15
 Ser Glu Tyr Arg Cys Asp His Val Arg Asp Cys Pro Asp Gly Ala
 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

<210>      14
<211>      36
<212>      PRT
<213>      Homo sapiens
<220>
<221>      DOMAIN
<222>      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

<210>      15
<211>      101
<212>      PRT
<213>      Bos taurus
<220>
<221>      DOMAIN
<222>      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

```

10

20

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
 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*
 <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
 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

30

Pro	Ala	Lys	Leu	Ser	Glu	Leu	Ile	Gln	Pro	Leu	Pro	Leu	Glu	Arg
				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					

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

10

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

30

<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

	5		10		15
Gln Asp Val Trp	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				

10

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

20

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				

30

<210> 24
 <211> 159

20

30

	125		130		135
Gln Ile Lys Pro	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
 <400> 26

10

tggtgtngtna 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
 <400> 27

20

arnarngcna tntcnttncc 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 tctagtttcc	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	
ctcttttggt tgtacttgct	20	
<210>	32	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	Artificial sequence	20
<220>		
<221>	primer_bind	
<223>	forward oligonucleotide primer for β -tubulin used as an internal control for quantitative PCR	
<400>	32	
cgcatacaacg tgtactacaa	20	
<210>	33	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	Artificial sequence	
<220>		
<221>	primer_bind	30
<223>	reverse oligonucleotide primer for β -tubulin 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 10
<223> TADG-12 peptide
<400> 35

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>	<i>Homo sapiens</i>	
<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	10
<213>	<i>Homo sapiens</i>	
<220>		
<222>	176...184	
<223>	TADG-12 peptide	
<400>	40	
Leu Leu Pro Asp Asp Lys Val Thr Ala		
	5	
<210>	41	
<211>	9	
<212>	PRT	
<213>	<i>Homo sapiens</i>	
<220>		20
<222>	13...21	
<223>	TADG-12 peptide	
<400>	41	
Phe Ser Phe Arg Ser Leu Phe Gly Leu		
	5	
<210>	42	
<211>	9	
<212>	PRT	
<213>	<i>Homo sapiens</i>	
<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>	<i>Homo sapiens</i>	
<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

10

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

20

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

30

Arg Leu Trp Lys Leu Val Gly Ala Thr
5

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

<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

10

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

20

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

30

Asp Leu Tyr Leu Pro Lys Ser Trp Thr
 5

<210>	53	
<211>	9	
<212>	PRT	
<213>	<i>Homo sapiens</i>	
<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	10
<213>	<i>Homo sapiens</i>	
<220>		
<222>	54...62	
<223>	TADG-12 peptide	
<400>	54	
Ser Leu Gly Ile Ile Ala Leu Ile Leu		
	5	
<210>	55	
<211>	9	
<212>	PRT	
<213>	<i>Homo sapiens</i>	
<220>		20
<222>	218...226	
<223>	TADG-12 peptide	
<400>	55	
Ile Val Gly Gly Asn Met Ser Leu Leu		
	5	
<210>	56	
<211>	9	
<212>	PRT	
<213>	<i>Homo sapiens</i>	
<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>	<i>Homo sapiens</i>	
<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

10

<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

20

<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

30

<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*

<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

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

30

Glu Asn Asp Pro Pro Ala Val Glu Ala
 5

<210>	67	
<211>	9	
<212>	PRT	
<213>	<i>Homo sapiens</i>	
<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	10
<213>	<i>Homo sapiens</i>	
<220>		
<222>	346...354	
<223>	TADG-12 peptide	
<400>	68	
Ala Thr Glu Asp Gly Gly Asp Ala Ser		
	5	
<210>	69	
<211>	9	
<212>	PRT	
<213>	<i>Homo sapiens</i>	
<220>		20
<222>	360...368	
<223>	TADG-12 peptide	
<400>	69	
Ala Ala Val Pro Leu Ile Ser Asn Lys		
	5	
<210>	70	
<211>	9	
<212>	PRT	
<213>	<i>Homo sapiens</i>	
<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>	<i>Homo sapiens</i>	
<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

10

<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

20

<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

30

<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*

<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

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

30

Gly Asn Asp Ile Ala Leu Met Lys Leu
 5

<210>	81	
<211>	9	
<212>	PRT	
<213>	<i>Homo sapiens</i>	
<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	10
<213>	<i>Homo sapiens</i>	
<220>		
<222>	440...448	
<223>	TADG-12 peptide	
<400>	82	
Phe Leu Asp Trp Ile His Glu Gln Met		
	5	
<210>	83	
<211>	9	
<212>	PRT	
<213>	<i>Homo sapiens</i>	
<220>		20
<222>	433...441	
<223>	TADG-12 peptide	
<400>	83	
Val Tyr Thr Arg Val Thr Ser Phe Leu		
	5	
<210>	84	
<211>	9	
<212>	PRT	
<213>	<i>Homo sapiens</i>	
<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>	<i>Homo sapiens</i>	
<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

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

10

Arg Ser Leu Phe Gly Leu Asp Asp Leu
5

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

20

Lys Ser Trp Thr Ile Gln Val Gly Leu
5

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

30

Arg Ser Ser Phe Lys Cys Ile Glu Leu
5

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

<213>	<i>Homo sapiens</i>	
<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>	<i>Homo sapiens</i>	
<220>		10
<222>	110...118	
<223>	TADG-12 peptide	
<400>	91	
Arg Val Gly Gly Gln Asn Ala Val Leu		
	5	
<210>	92	
<211>	9	
<212>	PRT	
<213>	<i>Homo sapiens</i>	
<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>	<i>Homo sapiens</i>	
<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>	<i>Homo sapiens</i>	
<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>	<i>Homo sapiens</i>	
<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>	<i>Homo sapiens</i>	
<220>		10
<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>	<i>Homo sapiens</i>	
<220>		
<222>	138...146	
<223>	TADG-12 peptide	
<400>	106	20
Tyr Ala Asn Val Ala Cys Ala Gln Leu		
	5	
<210>	107	
<211>	9	
<212>	PRT	
<213>	<i>Homo sapiens</i>	
<220>		
<222>	195...203	
<223>	TADG-12 peptide	
<400>	107	
Cys Ala Ser Gly His Val Val Thr Leu		
	5	30
<210>	108	
<211>	9	
<212>	PRT	
<213>	<i>Homo sapiens</i>	
<220>		
<222>	215...223	
<223>	TADG-12 peptide	
<400>	108	
Ser Ser Arg Ile Val Gly Gly Asn Met		
	5	

<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>	<i>Homo sapiens</i>	
<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>	<i>Homo sapiens</i>	
<220>		10
<222>	300...308	
<223>	TADG-12 peptide	
<400>	119	
Lys Arg Leu Gly Asn Asp Ile Ala Leu		
	5	
<210>	120	
<211>	9	
<212>	PRT	
<213>	<i>Homo sapiens</i>	
<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>	<i>Homo sapiens</i>	
<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>	<i>Homo sapiens</i>	
<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>	<i>Homo sapiens</i>	
<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>	<i>Homo sapiens</i>	
<220>		10
<222>	370...378	
<223>	TADG-12 peptide	
<400>	133	
Cys Asn His Arg Asp Val Tyr Gly Gly	5	
<210>	134	
<211>	9	
<212>	PRT	
<213>	<i>Homo sapiens</i>	
<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>	<i>Homo sapiens</i>	
<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>	<i>Homo sapiens</i>	
<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>	<i>Homo sapiens</i>	
<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	10
<213>	<i>Homo sapiens</i>	
<220>		
<222>	9...17	
<223>	TADG-12 peptide	
<400>	138	
Val Glu Ala Pro Phe Ser Phe Arg Ser		
	5	
<210>	139	
<211>	9	
<212>	PRT	
<213>	<i>Homo sapiens</i>	
<220>		20
<222>	318...326	
<223>	TADG-12 peptide	
<400>	139	
Asn Glu Met Ile Gln Pro Val Cys Leu		
	5	
<210>	140	
<211>	9	
<212>	PRT	
<213>	<i>Homo sapiens</i>	
<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>	<i>Homo sapiens</i>	
<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

10

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

20

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

30

Val Thr Ala Leu His His Ser Val Tyr
 5
 <210> 146
 <211> 9
 <212> PRT

<213>	<i>Homo sapiens</i>	
<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>	<i>Homo sapiens</i>	
<220>		10
<222>	206...214	
<223>	TADG-12 peptide	
<400>	147	
Thr Ala Cys Gly His Arg Arg Gly Tyr	5	
<210>	148	
<211>	9	
<212>	PRT	
<213>	<i>Homo sapiens</i>	
<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>	<i>Homo sapiens</i>	
<220>		
<222>	261...269	
<223>	TADG-12 peptide	
<400>	149	
Tyr Asp Leu Tyr Leu Pro Lys Ser Trp	5	
<210>	150	
<211>	9	
<212>	PRT	
<213>	<i>Homo sapiens</i>	
<220>		
<222>	33...41	
<223>	TADG-12 peptide	
<400>	150	30
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

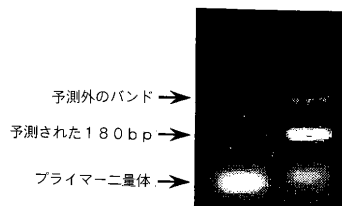
<210> 152
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 304...312
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 152

Asn Asp Ile Ala Leu Met Lys Leu Ala
 5

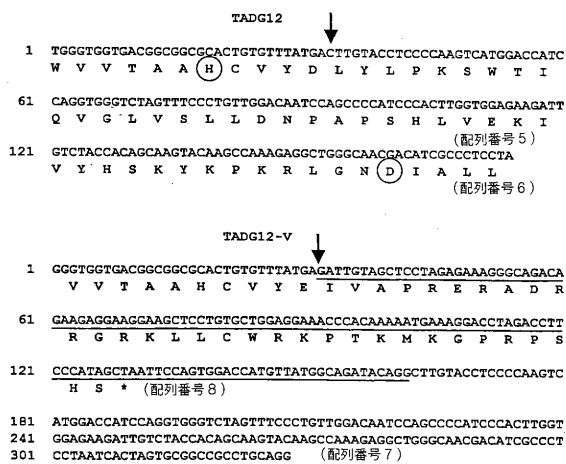
<210> 153
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <222> 104...112
 <223> TADG-12 peptide
 <400> 153

Asp Glu Tyr Arg Cys Val Arg Val Gly
 5

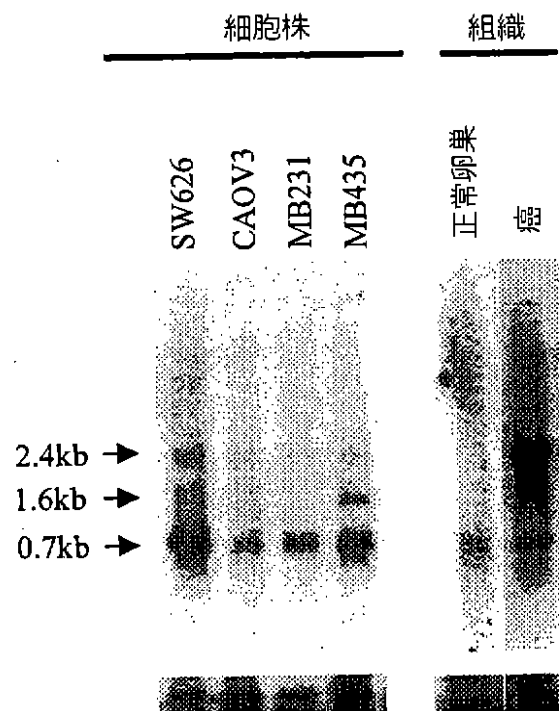
【図1A】



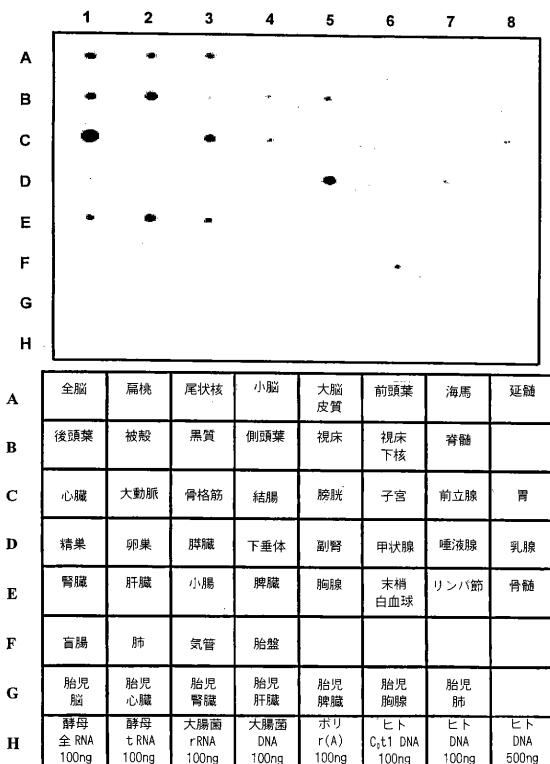
【図1B】



【図2】



【 図 3 】



【圖 4】

[illegible]

【 図 5 A 】

CompC8	CEG..FVC	AQTGRCVNRR	LLCNDGNDGC	DQSDENR.C	(配列番号 9)
Matr	CPG.QTC	RTGRCIRCI	QCDGQWADCT	DSHDEIN.C	(配列番号 10)
Gp300-1	CGGQYFKC	QSEGCPIPS	WVCDQGDQDC	DGSDERQDC	(配列番号 11)
Gp300-2	CSHQHITC	SNQGCIPISE	YRCDHVSRDC	DGADG.MDC	(配列番号 12)
Tad212	CSGK.YRC	RSQYFKCIELI	YRCDHVSRDC	DGEDEYR.C	(配列番号 13)
Tmpss22	CSNSGIEC	DSSTGCIIPS	NWCDGVSHPC	DGEDENR.C	(配列番号 14)
Cons	C	C	C	C	DE

【 図 5 C 】

ProM	LWVLTAACHKKPNL	QVFLGKNHLR	QRESSQEQQS	VVRVAVHPFY
Kal	QWVVSAGCHYKSRI	QVRLGHNHTV	VLEGNQEFNS	AAKIIHPQY
Try1	KQVLWLTAAHCF	D.GLPIQDVR	RIYSGILNLS	DITKDQTFQS	IKKIIHQNY
TadG12	LMWITAAHCV	YDLXLPKSW	TIQVGLV..S	LLDNPAFSLH	VEKIVVHSKY
Trmrs2	EWIVTAACHV	EKPLNPFHW	TFAPAGILRS	FMFYGA.GYQ	VQKVISHPNY
Heps	DWVLTAACHV	PERNRVLSRW	RVFAGAVAAQ	SPHGQLGL..	VQAVVYHGQ
Cons	W A H C		G		H Y
ProMDAAS	HQQDIMLRLR	ARPAKLSLEI	QPLPLERDCS	ANT..TSCHI
Try1DKRT	LNNDIMLRLI	SSRAVINARV	STISLPFAPD	ARG..TKCLI
KalKYVE	GNNHIDLALKI	PLNPLNTFQ	KPICLPKSPG	TSITIYNCHV
TadG12KPKR	LKNDIMLRLI	AGPLTFNEMI	QFVCLPNSFE	NFFQGCWKCT
Trmrs2DSKT	KNNIDLALKI	KPLTFLDNED	KPVCCLPNPM	MGPEQLXCH
Heps	LFFFRDPNSEE	NSNDIALVHL	SSPLPLTEYI	QFVCLPAAQ	ALVDGKICTV
Cons		DI L L		L	C
ProM	LWGKLTAD..	GDFPDITQCA	YIHLVSREEC	EHA..YPGKI	TQNMLCAGE
Kal	SGWGNATSSG	ADYDPDELQI	DAPVLSQAKC	EAS..YPGKI	TSMFVCVGL
Try1	KGWGSKEK.	GEIQNLQCL	NLPVLTNKE	KRQ.YDQKI	TQNMVCAGYK
TadG12	SGWGAT.EDG	GAESPVLNHA	AVPLISKTRC	NHRDYVGGII	SPSMLCAGYL
Trmrs2	SGWGAT.EEK	GKTSVFLNKA	KVLLIETORC	NSRYDYVGGI	TPAMICAGYL
Heps	TGWGNT.QYY	GQAAGVLQEA	RVPIISNDVC	NGADFYGNQI	KPMFCAGYP
Cons	GWG			C	I M C G
ProM	KYGDSCSQGD	SGGPLVC	(配列番号 2 0)		
Try1	EGGKDCSQGD	SGGPVVC	(配列番号 2 1)		
Kal	EGGKDACQGD	SGGPLVC	(配列番号 2 2)		
TadG12	TQGVDCSQGD	SGGPLVC	(配列番号 2 3)		
Trmrs2	QGNVDCSQGD	SGGPLVT	(配列番号 2 4)		
Heps	EGGIDCAGQD	SGGFFVC	(配列番号 2 5)		
Cons	D C DG	SGG V			

【 5 B】

```

BovEntk      VRLVGGSSPH  EGRVEI. FHE  GQWGTVCDDR  WELRGGLVVC  RSLGKPGVQS
MacSR        VRLVGGSSPH  EGRVEI. LHS  GQWGTVCDDR  WEVRGCVQVA  RSLGKPGVQA
TAGD12       VRVVGG...QN  FVLQVFTTA... ASWKMTCSDD  WNGHYANVAC  AOLQGF. STV
Tmprs2       VRLYG...PN  FVLQMYFQTS  KSWHEVDCDD  KXENYVGRAC  RDQMGXKNFY
HumEntk      VRFVGTNTNN  NGLVRFRIQ.  SIWHTACAS  WTQTISNDVC  QLLGLGSG..

  Cons      VR          W          C          W          C

BovEntk      VHKRAYFGKG  TGPINLNEVF  CFGK. ESSI  EECRIRQWGT  R.ACSDHEDA
MacSR        VVKAAHFGGG  TGPINLNEVF  CFGR. ESSI  EECRIRQWGT  R.ACSDHEDA
TAGD12       SSNLRVSVSL  EGQFREFEVS  I.DHLLPDK  VTALKHVVSV  REGCASHGVV
Tmprs2       SSQGVVDSSG  STSFMKLNTS  A.GNV...DI  YKKLTHS...  .DACSSKAVV
HumEntk      NSSKPIFSTD  GGFVFKLNTA  PDGHILTPS  QQ.....  ...CLQDSL I

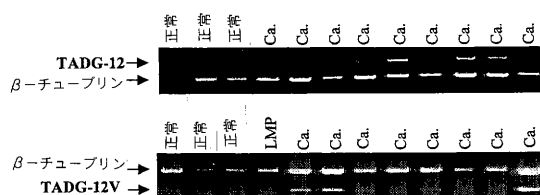
  Cons      C

BovEntk      GVTC2   (配列番号 15)
MacSR        GVTC2   (配列番号 16)
TAGD12       TLQCT   (配列番号 17)
Tmprs2       SLRCL   (配列番号 18)
HumEntk      RLQC.   (配列番号 19)

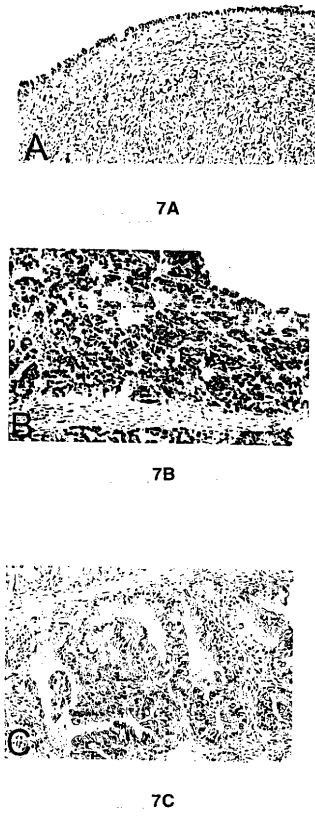
  Cons      C

```

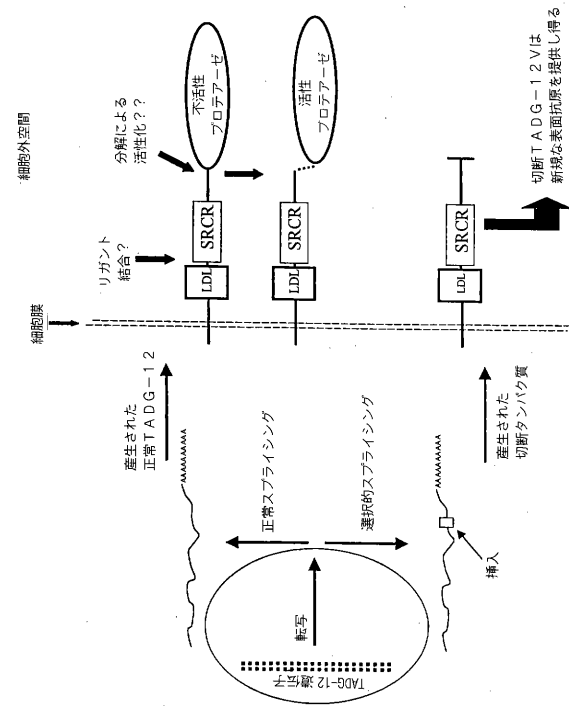
【 叉 6 】



【図 7】



【図 8】



 フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	
C 0 7 K 16/40 (2006.01)		C 0 7 K 16/40	
A 6 1 K 39/00 (2006.01)		A 6 1 K 39/00	H
A 6 1 K 39/39 (2006.01)		A 6 1 K 39/39	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)		A 6 1 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 7 2 2 0 5 リトル ロック エヌ ジャクソン ストリート
 1 2 1 アpartment ケー

審査官 小金井 悟

(56)参考文献 Cancer. Res., 1 9 9 7年 7月15日, Vol.57, No.14, pp.2884-2887
 Proc. Am. Assoc. Cancer Res., 1 9 9 8年, Vol.39, p.648

(58)調査した分野(Int.Cl., D B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)