

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4908723号
(P4908723)

(45) 発行日 平成24年4月4日(2012.4.4)

(24) 登録日 平成24年1月20日(2012.1.20)

(51) Int.Cl. F I
A 6 1 K 38/00 (2006.01) A 6 1 K 37/02 Z N A
A 6 1 P 29/00 (2006.01) A 6 1 P 29/00

請求項の数 6 (全 64 頁)

(21) 出願番号	特願2002-526403 (P2002-526403)	(73) 特許権者	505222646
(86) (22) 出願日	平成13年9月13日 (2001.9.13)		ザイモジェネティクス, インコーポレイテッド
(65) 公表番号	特表2004-525074 (P2004-525074A)		アメリカ合衆国 ワシントン州 シアトル
(43) 公表日	平成16年8月19日 (2004.8.19)		イーストレイク アベニュー イースト
(86) 国際出願番号	PCT/US2001/028557		1 2 0 1
(87) 国際公開番号	W02002/022153	(74) 代理人	100102978
(87) 国際公開日	平成14年3月21日 (2002.3.21)		弁理士 清水 初志
審査請求日	平成20年9月3日 (2008.9.3)	(74) 代理人	100128048
(31) 優先権主張番号	60/233, 305		弁理士 新見 浩一
(32) 優先日	平成12年9月15日 (2000.9.15)	(72) 発明者	チャンドラセッカー, ヤスミン エー.
(33) 優先権主張国	米国 (US)		アメリカ合衆国, ワシントン 98040 マースー アイランド, エイティーサー ド プレイス サウスイースト 5912

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 炎症を治療するための方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

IL-20RAの細胞外ドメインを含むポリペプチドおよびIL-20RBの細胞外ドメインを含むポリペプチドを含む可溶性受容体を含む、IL-19を下方調節するために用いられる医薬組成物であって、該IL-20RAの細胞外ドメインを含むポリペプチドが、配列番号：39、または配列番号：40から選択される配列を含み、該IL-20RBの細胞外ドメインを含むポリペプチドが、配列番号：41、または配列番号：42から選択される配列を含む、医薬組成物。

【請求項 2】

該IL-20RAの細胞外ドメインを含むポリペプチドが配列番号：39の配列を含み、該IL-20RBの細胞外ドメインを含むポリペプチドが配列番号：41の配列を含む、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 3】

該IL-20RAの細胞外ドメインを含むポリペプチドが配列番号：40の配列を含み、該IL-20RBの細胞外ドメインを含むポリペプチドが配列番号：42の配列を含む、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 4】

IL-19を下方調節するための薬剤の製造における、IL-20RAの細胞外ドメインを含むポリペプチドおよびIL-20RBの細胞外ドメインを含むポリペプチドを含む可溶性受容体の使用であって、該IL-20RAの細胞外ドメインを含むポリペプチドが配列番号：39、または配列番号：40から選択される配列を含み、該IL-20RBの細胞外ドメインを含むポリペプチドが

10

20

配列番号：41、または配列番号：42から選択される配列を含む、使用。

【請求項5】

該IL-20RAの細胞外ドメインを含むポリペプチドが配列番号：39の配列を含み、該IL-20RBの細胞外ドメインを含むポリペプチドが配列番号：41の配列を含む、請求項4に記載の使用。

【請求項6】

該IL-20RAの細胞外ドメインを含むポリペプチドが配列番号：40の配列を含み、該IL-20RBの細胞外ドメインを含むポリペプチドが配列番号：42の配列を含む、請求項4に記載の使用。

【発明の詳細な説明】

10

【0001】

発明の背景

炎症は通常、有害な作用物質および傷ついた組織を破壊したり、希釈したり、または囲んだりする、外傷または微生物の侵入に対する局所的な防御反応である。それは、痛み、発熱、発赤、腫れ、および機能の喪失による急性型で特徴付けられる。微細には炎症は、増加した透過性および血流、血漿タンパク質を含む体液の滲出、および炎症域への白血球の移動を伴う、細動脈、毛細血管および細静脈の拡張を含む複雑な一連の出来事を含む。

【0002】

炎症により特徴付けられる疾患は、人間の罹患および死亡の重大原因である。一般に炎症は、異物ことに微生物の侵入に対する宿主の防御反応として起こる。機械的外傷、毒素、および新生物に対する反応もまた、炎症反応をもたらすだろう。白血球の蓄積および引き続く活性化は、大抵の炎症型の病因における中心的な出来事である。炎症の欠如は、宿主を傷つける。異物として宿主組織に異常と認識され引き起こされた過剰な炎症、または長引いた炎症過程は、糖尿病、アテローム性動脈硬化症、白内障、再灌流障害、および癌から、伝染性髄膜炎、リュウマチ熱のような感染後症候群、ならびに全身性紅斑性狼瘡およびリュウマチ性関節炎のようなリュウマチ疾患にわたる幅広い炎症性疾患を導くだろう。これらの種々の疾患の過程における炎症反応の集中性のため、炎症の調節は人間の疾患の予防制御や治療における主要な要素となる。

20

【0003】

炎症過程における重要なサイトカインは、IL-19（米国特許No.5,985,614）およびmda7（Jiang, H.ら、Oncogene 10：2477-2486（1995））である。かくて、1つ以上の、上述の炎症関連タンパク質に関わる炎症を阻害する、作用物質を製造する必要がある。

30

【0004】

発明の記述

したがって、本発明は、炎症の治療を必要とする哺乳動物に、炎症を治療するための方法を提供することによりこの必要を満たすものであり、IL-19またはmda7に結合する可溶性のIL-20RA/IL-20RB受容体を提供することを特徴とする。

ここに引用された全ての参照の教えは、参照により全てここに組み入れられている。

【0005】

定義

40

発明を詳細に述べる前に、以下の術語を定義することが、本発明を理解するのを助けるであろう。

「親和性標識」（Affinity tag）と言う術語を、第2のポリペプチドを精製もしくは検出したりまたは基質に第2のポリペプチドの付加する部位を提供したりするために、第2のポリペプチドに付加できるポリペプチド分節を示すためにここで用いる。原則として、抗体または他の特定結合物質が利用できるいかなるペプチドまたはタンパク質も、親和性標識として使用できる。

【0006】

親和性標識は、ポリヒスチジン索、プロテインA（Nilsson ら、EMBO J. 4：1075（1985）；Nilssonら、Methods Enzymol. 198：3（1991））、グルタチオンS転移酵素（Smith and J

50

ohnson, Gene 67: 31(1988))、Glu-Glu親和性標識(Grussenmeyerら, Proc. Natl. Acad. Sci, USA 82: 7952-4 (1985))、サブスタンスP、FlagTMペプチド (Hoppら, Biotechnology 6: 1204-1210 (1988))、ストレプトアビジン結合ペプチド、あるいは他の抗原性エピトープまたは結合分域を含む。一般には、Fordら, Protein Expression and Purification 2: 95-107 (1991)を見よ。親和性標識をコード化するDNAは、商業的供給者から入手できる(たとえば、Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ)。

【0007】

術語「対立遺伝子変異体」を、同一の染色体遺伝子座を占める遺伝子の2個以上の選択の如何なるものも示すためにここで用いる。対立遺伝子変異は天然には突然変異を通じて生じ、また母集団内に表現型の多形を生じるだろう。遺伝子の突然変異は、活動しないことができる(コード化されたポリペプチドに変化を生じない)、または変更されたアミノ酸配列を有するポリペプチドをコード化するだろう。対立遺伝子変異体と言う術語を、また遺伝子の対立変異株によりコード化されたタンパク質を示すためにもここで用いる。

10

【0008】

術語「アミノ末端」および「カルボキシル末端」を、ポリペプチド内の位置を示すためにここで用いる。文脈が許す所では、これらの術語を、近接性または相対的位置を示すためにポリペプチドの特定の配列または部分に関して使う。たとえば、ポリペプチド内の参照配列に対してカルボキシル末端を配置されたある配列は、参照配列のカルボキシル末端の近くに位置するが、必ずしも完全なポリペプチドのカルボキシル末端に位置しない。

20

【0009】

「血管新生」は、単独あるいは1個以上の付加化合物と共同で働いて、現存の血管から新しい血管の形成を誘発するための化合物の能力を示す。血管新生活性は、内皮細胞活性化、内皮細胞によるプロテアーゼ分泌の刺激、内皮細胞移動、毛細管萌芽の形成、および内皮細胞増殖として測定できる。

【0010】

術語「相補体/抗相補体対」は、適切な条件下で非共有結合的に会合した安定な対を形成する同一でない部分を示す。たとえば、ビオチンおよびアビジン(またはストレプトアビジン)は、相補体/抗相補体対の原型の1員である。他の模範的な相補体/抗相補体対は、受容体/リガンドの対、抗体/抗原(または部分抗原あるいはエピトープ)の対、センス/アンチセンスポリヌクレオチドの対、その他である。相補体/抗相補体対の引き続く解離が望ましい場合には、相補体/抗相補体対は、好ましくは $10^9 M^{-1}$ より小さい結合親和性を有する。

30

【0011】

術語「ポリヌクレオチド分子の相補体」は、相補的塩基配列および参照配列に比較して逆配向を有するポリヌクレオチド分子である。たとえば、配列5' ATGCACGGG3' は、5' CCCGTGCAT3' に対して相補型である。

術語「コンティグ」(隣接)(Contig)は、他のポリヌクレオチドに対して同一のまたは相補的配列の隣接する(contiguous)伸長を有するポリヌクレオチドを示す。隣接する配列は、ポリヌクレオチドの全体または一部の伸長に沿って、ポリヌクレオチド配列の与えられた伸長に「オーバーラップする」といわれる。たとえば、ポリヌクレオチド配列5' -ATGGCTTAGCTT-3' に対する代表的な隣接は、5' -TAGCTTgagtct-3' および3' gtcgacTACCGA-5' である。

40

【0012】

術語「縮重ヌクレオチド配列」は、(ポリペプチドをコード化する参照ポリヌクレオチド分子に比較して)1個以上の縮重したコードンを含むヌクレオチドの配列を示す。縮重したコードンは、ヌクレオチドの異なるトリプレットを含むが、同じアミノ酸残基をコードする(すなわち、GAUおよびGACトリプレットは、それぞれAspをコード化する)。

【0013】

術語「発現ベクター」は、その転写を与える追加のセグメントに作用可能に結合した注目のポリペプチドをコードするセグメントを含む、線状または環状の、DNA分子を示すため

50

に使われる。そのような追加のセグメントは、プロモーターおよびターミネーター配列を含み、また1又は複数の複製起点、1又は複数の選択カーカー、エンハンサー、ポリアダニル化シグナル、などをも含むであろう。発現ベクターは、一般的にプラスミドまたはウイルスDNAから誘導されるか、あるいは両方の要素を含むだろう。

【0014】

術語「単離された」は、ポリヌクレオチドに適用される場合には、ポリヌクレオチドがその天然の遺伝子環境から取り出され、かくて他の、または望ましくないコード配列を含まず、そして遺伝子操作タンパク質製造系での使用に適した型であることを示す。そのような単離された分子は、天然の環境から分離されており、そうしてcDNAおよびゲノムクローンを含むものである。本発明の単離されたDNA分子は、通常関連する他の遺伝子を含まないが、プロモーターおよびターミネーターのような天然に存在する5'および3'の非翻訳領域を含むだろう。関連領域の同定は、当業者には明らかである(たとえば、Dyanan and Tijan, Nature 316: 774-78 (1985)を参照のこと)。

10

【0015】

「単離された」ポリペプチドまたはタンパク質は、その天然の環境以外の条件、たとえば血および動物組織から離れて見出されるポリペプチドまたはタンパク質である。好ましい形では、単離されたポリペプチドは、本質的に他のポリペプチド、ことに動物起源の他のポリペプチドを含まない。ポリペプチドを高度に純粋な形で、すなわち95%より高い純度で、より好ましくは99%より高い純度で提供することが好ましい。この文脈で使われる時に、術語「単離された」は、二量体または他の糖鎖形成されたもしくは誘導された形のような、他の物理的な形状での同一ポリペプチドの存在を除外しない。

20

【0016】

術語「作用可能に連結した」は、DNAセグメントに関する場合には、セグメントが意図した目的のために協力して機能する、たとえば転写がプロモーターで始まり、そうしてターミネーターまでのコード領域を通して進むように、セグメントが配置されていることを意味する。

術語「オルソログ」(ortholog)は、異なる種からのポリペプチドまたはタンパク質の機能的対応物である一つの種から得られたポリペプチドまたはタンパク質を意味する。オルソログ間の配列の違いは、種分化の結果である。

【0017】

「パラログ」(paralog)は、生物により作られた別個のしかし構造的に関連したタンパク質である。パラログは、遺伝子複製を通じて生ずると信じられている。たとえば、a-グロビン、b-グロビン、およびミオグロビンは、お互いにパラログである。

30

【0018】

「ポリヌクレオチド」は、5'から3'末端まで読まれたデオキシリボヌクレオチドまたはリボヌクレオチド塩基の単鎖または2本鎖ポリマーである。ポリヌクレオチドは、RNAおよびDNAを含み、そうして天然源から単離され、in vitroで合成され、または天然および合成分子の組合せから調製されるだろう。ポリヌクレオチドの大きさは、塩基対(「bp」と省略)、ヌクレオチド(「nt」)、またはキロ塩基(「kb」と表現される)。

【0019】

文脈が許すところでは、後者2つの術語は、単鎖または2重鎖のポリヌクレオチドを表すだろう。本術語が2重鎖分子に適用される時には、それは全長を示すのに使われ、そうして術語「塩基対」と同等であると理解される。2本鎖ポリヌクレオチドの2本の鎖は長さが少し異なるだろうし、そうしてその末端は、酵素開裂の結果として食い違おうだろうことを当業者は理解する。かくて2重鎖ポリヌクレオチド分子内の全てのヌクレオチドは、対とはならないだろう。その様な対を成さない末端は、一般に長さで20 ntを超えない。

40

【0020】

「ポリペプチド」は、天然にまたは合成的に作られたものであれ、ペプチド結合により結ばれたアミノ酸残基のポリマーである。約10アミノ酸残基よりも小さなポリペプチドは、通常「ペプチド」と言われる。

50

術語「プロモーター」は、当業界で認識された意味に対して、RNAポリメラーゼの結合および転写の開始を提供するDNA配列を含む遺伝子の1部を示すためにここで使われる。プロモーター配列は、通常、しかし必ずしもそうではないが、遺伝子の5'の非コーディング領域に見出される。

【0021】

「タンパク質」は、1個以上のポリペプチド鎖を含む巨大分子である。タンパク質は、また炭水化物基のような非ペプチド成分を含むことが出来る。炭水化物および他の非ペプチド基質は、タンパク質が作られる細胞によりタンパク質に付加されるだろう、そうして細胞の型により変化する。タンパク質は、ここでそのアミノ酸骨格鎖構造により定義される。炭水化物基のような置換基は、通常詳細に特定されないが、しかしそれにもかかわらず存在するだろう。

10

【0022】

術語「受容体」は、生物活性分子(すなわちリガンド)に結合し、そうして細胞へのリガンドの影響を仲介する細胞関連タンパク質を示す。膜に結合した受容体は、細胞外のリガンド結合分域および典型的にはシグナル形質導入に關与する細胞内作用因子分域を含む多分域構造により特徴付けられる。受容体へのリガンドの結合は、作用因子分域と細胞内の他分子との間の相互作用を引き起こす受容体内での立体配座の変化をもたらす。この相互作用は、次いで細胞の代謝を変更する。

【0023】

受容体-リガンド相互作用に結びつく代謝の出来事は、遺伝子転写、リン酸化、脱リン酸化、サイクリックAMP産生の増加、細胞カルシウムの起動、膜リピッドの起動、細胞付着、イノシトールリピッドの加水分解、およびリン脂質の加水分解を含む。一般に、受容体は、細胞に結合し、サイトゾルもしくは核であり、また単量体(たとえば、甲状腺刺激ホルモン受容体、ベーターアドレナリン受容体)または多量体(たとえば、PDGF受容体、成長ホルモン受容体、IL-3受容体、GM-CSF受容体、G-CSF受容体、エリスロポイエチン受容体およびIL-6受容体)であり得る。

20

【0024】

術語「分泌シグナル塩基配列」は、より大きなポリペプチドの成分として合成される細胞の分泌経路を通じて、より大きなポリペプチドを支配するポリペプチド(「分泌ペプチド」)をコード化するDNA配列を示す。より大きなポリペプチドは、分泌経路を通過中に分泌ペプチドを除くために通常開裂される。

30

【0025】

術語「スプライス変異株」は、遺伝子から転写されたRNAの代わりに型を示すためにここに使われている。スプライス変異株は、転写したRNA分子内、またはより一般的ではないが別々に転写されたRNA分子の間の、代わりにのスプライス部位の使用を通じて天然に生じる、そうして同じ遺伝子から転写された幾つかのmRNAとなるであろう。スプライス変異株は、変更されたアミノ酸配列を有するポリペプチドをコード化するだろう。術語スプライス変異株はまた、遺伝子から転写されたmRNAのスプライス変異株によりコード化されたタンパク質を示すためにここに用いられる。

【0026】

不正確な分析方法(たとえば、ゲル電気泳動)によって測定されたポリマーの分子量および長さは、概略値であることが理解されよう。そのような値が、「約」Xまたは「概略」Xとして表された時に、Xの表示値は±10%の正確さであると理解されよう。

40

【0027】

受容体は、IL-19およびmda7に結合し、そうして「インターロイキン20受容体アルファIL-20RA」と名付けられたポリペプチド、およびインターロイキン20受容体ベータ「IL-20RB」と名付けられたポリペプチドを含むヘテロ2量体であることが発見されている。IL-20RAポリペプチド、それをコード化する核酸、IL-20RAに対する抗体およびそれを産生する方法は、1999年8月31日に公布された米国特許No.5,945,511に開示されている。

【0028】

50

配列番号：1～3は、IL-20RAのポリヌクレオチドおよびポリペプチドである。IL-20RAの成熟細胞外配列は、配列番号：3を含む。IL-20RBポリペプチド、それをコード化する核酸、IL-20RBに対する抗体およびそれを産生する方法は、1999年3月8日に出願された国際出願No. PCT/US99/03735(公開no. WO 99/46379)に開示されている。IL-20RBの変異株(以後V-IL-20RBとする)は、クローンされており、そうして配列番号：4～6により定義されている。ここに配列番号：6は、細胞外ドメインである。

【0029】

可溶性IL-20ヘテロ2量体受容体「IL-20RA/IL-20RB」の調製

可溶性ヘテロ2量体受容体は、配列番号：3(以後IL-20RAと称する)およびIL-20RBの細胞外ドメインまたはIL-20RBのバリエーション(vIL-20RB、配列番号：4～6)の細胞外ドメイン(配列番号：6)を含む。好ましくは、IL-20RAポリペプチドの細胞外ドメインおよびIL-20RBポリペプチドの細胞外ドメインは、お互いに共有結合している。

10

【0030】

好ましい具体例において、1個のポリペプチドは、そのカルボキシ末端に融合した免疫グロブリン重鎖の定常領域を有し、そうして他のポリペプチドは、そのカルボキシ末端に融合した免疫グロブリン(Ig)の定常軽鎖を有する。そうしてこれら2個のポリペプチドは、一緒になり、重鎖と軽鎖の間にジスルフィド結合を生じてヘテロ2量体を形成する。他の方法においては、ペプチドリンカーは、ポリペプチドの2個のカルボキシ末端に融合して、共有結合をしたヘテロ2量体を形成する。

【0031】

IL-20RAおよびIL-20RBの可溶性細胞外ドメインを製造するための方法は、下記を含む：
(a) 第1の分泌シグナル配列に作用可能に結合した転写プロモーターを含む第1のDNA配列及びその下流に読み枠を合せて存在するIL-20RAの細胞外部分をコードするDNAを、宿主細胞に導入し、

20

(b) 第1の分泌シグナル配列に作用可能に結合した転写プロモーターを含む第1のDNA配列及びその下流に読み枠を合せて存在するIL-20RBの細胞外部分をコードするDNA配列ならびに C_H1 、 C_H2 、 C_H3 および C_H4 からなる群から選ばれた免疫グロブリンの重鎖定常領域ドメインをコードするDNA配列を、宿主細胞に導入し、

【0032】

(c) IL-20RAおよびIL-20RBの細胞外ドメインを含む2量体化したヘテロ2量体融合タンパク質の分泌を許す生理学的条件下で、適切な増殖培地中で宿主細胞を増殖させ、そして
(d) 2量体化したポリペプチドを宿主細胞から単離する。

30

1具体例において、第2のDNA配列は、免疫グロブリン重鎖ヒンジ領域をさらにコードする。ここでヒンジ領域は、重鎖定常領域分域に結合している。他の具体例において、第2のDNA配列は、免疫グロブリンの重鎖定常領域の上流でおよび適切な読み枠で結合した免疫グロブリン可変領域をさらにコードする。

【0033】

他の具体例において、IL-20RAおよびIL-20RBの可溶性2量体細胞外分域を産生する方法は、下記を含む：

(a) 第1の分泌シグナル配列に作用可能に結合した転写プロモーターを含む第1のDNA配列及びその下流に読み枠を合せて存在するIL-20RBの細胞外部分をコードするDNAおよび免疫グロブリンの軽鎖定常領域をコードするDNAを、宿主細胞に導入し、

40

(b) 第2の分泌シグナル配列に作用可能に結合した転写プロモーターを含む第2のDNA構築物及びその下流に読み枠を合せて存在するIL-20RAの細胞外部分をコードするDNA配列ならびに C_H1 、 C_H2 、 C_H3 および C_H4 からなる群から選ばれた免疫グロブリンの重鎖定常領域ドメインをコードするDNA配列を、宿主細胞に導入し、

【0034】

(c) IL-20RAおよびIL-20RBの細胞外ドメインを含む2量体化したヘテロ2量体融合タンパク質の分泌を許す生理学的条件下で、適切な増殖培地中で宿主細胞を増殖させ、そして
(d) 2量体化したポリペプチドを宿主細胞から単離する。

50

1 具体例において、第2のDNA配列は、免疫グロブリン重鎖ヒンジ領域をさらにコードする。ここでヒンジ領域は、重鎖定常領域に結合している。他の具体例において、第2のDNA配列は、免疫グロブリンの重鎖定常領域の上流でおよび適切な読み枠で結合した免疫グロブリン可変領域をさらにコードする（米国特許No.5,843,725を参照のこと）。

【0035】

ポリヌクレオチド

一般的に、cDNA配列は、ここに記述されたポリペプチドをコードする。本発明のポリペプチドをコードするcDNA配列は、ポリペプチドの各アミノ酸残基がコドンによりコードされ、そうして各コドンが3個のヌクレオチドを含む、1連のコドンを含む。該アミノ酸残基は、下記の様に夫々のコドンによりコードされる。

アラニン(Ala)は、GCA、GCC、GCG、またはGCTによりコードされる；

システイン(Cys)は、TGCまたはTGTによりコードされる；

アスパラギン酸(Asp)は、GACまたはGATによりコードされる；

【0036】

グルタミン酸(Glu)は、GAAまたはGAGによりコードされる；

フェニルアラニン(Phe)は、TTCまたはTTTによりコードされる；

グリシン(Gly)は、GGA、GGC、GGG、GGTによりコードされる；

ヒスチジン(His)は、CACまたはCATによりコードされる；

イソロイシン(Ile)は、ATA、ATCまたはATTによりコードされる；

リジン(Lys)は、AAAまたはAAGによりコードされる；

ロイシン(Leu)は、TTA、TTG、CTA、CTC、CTGまたはCTTによりコードされる；

メチオニン(Met)は、ATGによりコードされる；

アスパラギン(Asn)は、AACまたはAATによりコードされる；

【0037】

プロリン(Pro)は、CCA、CCC、CCGまたはCCTによりコードされる；

グルタミン(Gln)は、CAAまたはCAGによりコードされる；

アルギニン(Arg)は、AGA、AGG、CGA、CGC、CGGまたはCGTによりコードされる；

セリン(Ser)は、AGC、AGT、TCA、TCC、TCGまたはTCTによりコードされる；

スレオニン(Thr)は、ACA、ACC、ACGまたはACTによりコードされる；

バリン(Val)は、GTA、GTC、GTGまたはGTTによりコードされる；

トリプトファン(Trp)は、TGGによりコード化される；および

チロシン(Tyr)は、TACまたはTATによりコード化される。

【0038】

アミノ酸を合成し、そうしてtRNAをアミノアシル化する方法は、当業界で知られている。ナンセンス突然変異を含むプラスミドの転写と変換は、大腸菌S30抽出物ならびに商業的に入手出来る酵素および他の試薬を含む無細胞系で達成される。タンパク質は、クロマトグラフィーで精製される。たとえば、Robertsonら、J. Am. Chem. Soc. 113: 2722(1991)；Ellmanら、Methods Enzymol. 202: 301(1991)；Chungら、Science 259: 806-809 (1993)；およびChungら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 10145-10149 (1993)を見よ。

【0039】

第2の方法において、変換は、突然変異したmRNAおよび化学的にアミノアシル化した抑圧遺伝子tRNAの微量注入によりXenopus(アフリカツメガエル)の卵胞細胞で達成される(Turcattiら、J. Biol. Chem. 271: 19991-19998 (1996))。第3の方法で、大腸菌は、置換されるべき天然アミノ酸(たとえば、フェニルアラニン)の不在下、および望ましい非天然由来のアミノ酸(たとえば、2-アザフェニルアラニン、3-アザフェニルアラニン、4-アザフェニルアラニンまたは4-フルオロフェニルアラニン)の存在下で培養される。

【0040】

非天然由来のアミノ酸は、その天然の対応物の代わりにタンパク質に組み込まれる。Koideraら、Biochem. 33: 7470-7476 (1994)を参照のこと。天然由来のアミノ酸は、in vitroな化学修飾により非天然由来の種に変換できる。化学修飾は、置換の範囲をさらに拡張する

10

20

30

40

50

ために、位置指定の変異誘発と組み合わせることができる (Wynn and Richards, *Protein Sci.* 2: 395-403 (1993))。

限定数の非保存的なアミノ酸、遺伝子コードによりコード化されていないアミノ酸、非天然由来のアミノ酸、および非天然のアミノ酸は、アミノ酸残基と置換されるだろう。

【0041】

本発明のポリペプチド中の必須アミノ酸は、位置指定変異誘発またはアラニン走査式変異誘発のような、当業界で知られた方法に従って同定できる (Cunningham and Wells, *Science* 244:1081-1085 (1989); Bass ら, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88: 4498-502 (1991))。後者の技術において、単一のアラニン突然変異を、分子の各残基に導入し、そうしてその結果の突然変異分子を、分子の活性に決定的であるアミノ酸残基を同定するために下記に開示した如く生物活性を試験する。Hilton ら, *J. Biol. Chem.* 271: 4699-708, 1996を参照にこと。

10

【0042】

リガンド-受容体相互作用の位置は、推定接触部位アミノ酸の突然変異と関連して、核磁気共鳴、結晶学、電子回折、または光親和性標識のような技術により決定される如く、構造の物理分析により決定することも出来る。たとえば、de Vos ら, *Science* 255: 306 - 312 (1992); Smith ら, *J. Mol. Biol.* 224:899-904(1992); Wlodaver et al., *FEBS Lett.* 309: 59-64 (1992) を参照のこと。

【0043】

多数のアミノ酸置換は、Reidhaar-Olson and Sauer, *Science* 241: 53-57 (1988) または B owie and Sauer, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86: 2152-2156 (1989) により開示されているような、既知の変異誘発および選別の方法を用いて行い、かつ試験することが出来る。要約すると、これらの著者は、ポリペプチドの2箇所以上を同時に無作為化し、機能的ポリペプチドを選択し、そうして各位置で許容出来る置換のスペクトルを決定するために突然変異ポリペプチドの配列を決定するための方法を開示している。使用できる他の方法は、ファージ表示法を含む (たとえば、Lowman ら, *Biochem.* 30:10832-10837 (1991); Lander ら, 米国特許No.5,223,409; Huse, 世界知的所有機関公布 WO 92/06204) および領域指定変異誘発 (Derbyshire ら, *Gene* 46:145 (1986); Ner ら, *DNA* 7: 127 (1988))。

20

【0044】

開示された IL-20RA および IL-20RB の DNA の変異株ならびにポリペプチド配列は、Stemmer, *Nature* 370: 389-391, (1994)、Stemmer, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91: 10747-10751 (1994) および世界知的所有機関公布 WO 97/20078 に開示されている如く、DNA シャフリングを通じて産生できる。要約すると、変異株 DNA は、先ず親 DNA を無作為に細分割し、次に無作為に導入された点突然変異をもたらす PCR を用いて *in vitro* で再構成する相同組換えにより産生される。この技術は、工程に付加的な変化度を導入するために、対立変異株または他の種からの DNA のような、親 DNA の種を用いて変更できる。変異誘発および分析の追加的反復を伴う望ましい活性のための選択および選別は、一方では致命的な変化に抗する選別を同時に行いながら、望ましい突然変異のための選別による配列の迅速な「進化」を提供する。

30

【0045】

ここに開示された如く変異誘発方法は、宿主細胞内のクローンされ、突然変異されたポリペプチドの活性を検出するために、高処理能力の、自動選別方法と組み合わせる事が出来る。活性ポリペプチドをコード化する突然変異 DNA 分子は、宿主細胞から回収され、そうして新式の設備を使って迅速に配列を決定できる。これらの方法は、関心事のポリペプチド中の個々のアミノ酸残基の重要性を迅速に決定でき、そうして未知の構造のポリペプチドに応用できる。

40

【0046】

タンパク質の製造

ポリペプチドは、通常の技術に従って、遺伝子操作をされた宿主で製造できる。適切な宿主細胞は、外来 DNA で形質転換または形質移入し、そして培養で育成できる細胞型であり

50

、細菌、菌類細胞、および培養された高等真核細胞を含む。真核細胞、ことに多細胞生物の培養細胞が好ましい。クローン化されたDNA分子を操作し、外来DNAを種々の宿主細胞に導入するための技術は、以下に開示されている：Sambrookら、Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第2版, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989)、およびAusbelら編集、Current Protocols in Molecular Biology (John Wiley and Sons, Inc., NY, 1987)。

【0047】

一般に、ポリペプチドをコードするDNA配列は、発現ベクター内での、一般に転写プロモーターおよびターミネーターを含む発現に必要な他の遺伝子要素に作用可能に連結される。当業者はある系内では選択マーカーが別個のベクターにより提供されるだろうことを認識しているが、ベクターもまた一般に1個以上の選択マーカーおよび1または複数の複写起点を含み、そうして外来DNAの複写は、宿主細胞ゲノム中に組込みにより提供されるだろう。プロモーターの選択、ターミネーター、選択的標識、ベクターおよび他の要素は、当業界の水準内の通常的设计事項である。多くのその様な要素は、文献に記載されており、商業的供給者を通じて入手できる。

10

【0048】

ポリペプチドを宿主細胞の分泌経路に導くために、分泌シグナル配列(リーダー配列、ブレプロ配列またはプレ配列としても知られる)を、発現ベクター中に提供する。分泌シグナル配列は、天然ポリペプチドの配列であり、または他の分泌されるタンパク質(たとえば、t-PA)に由来し、あるいはそれ自体合成されるであろう。分泌シグナル配列は、DNA配列に作用可能に結びついている、すなわち2個の配列は、新たに合成されたポリペプチドを宿主細胞の分泌経路に導くために、正しい読み枠に入れられ、位置付けられる。分泌シグナル配列は、注目のポリペプチドをコードするDNA配列に対して一般に5'に配置される。しかしある種の分泌シグナル配列は、注目のDNA配列の何処にでも配置されるだろう(たとえば、Welchら、米国特許No.5,037,743; Hollandら、米国特許No.5,143,830を見よ)。

20

【0049】

あるいは、本発明のポリペプチドに含まれる分泌シグナル配列は、他のポリペプチドを分泌経路に導くために使われる。本発明は、その様な融合ポリペプチドを提供する。本発明の融合ポリペプチドに含まれる分泌シグナル配列は、他のペプチドを分泌経路に導くために、追加のペプチドに、好ましくはアミノ末端で融合する。その様な構築物は、当業界で知られた数多くの応用を有する。たとえば、新規の分泌シグナル配列融合構築物は、受容体のような通常の非分泌タンパク質の活性成分の分泌を指示できる。その様な融合は、分泌経路を通じてペプチドを指示するためにin vivo またはin vitroで使用されるだろう。

30

【0050】

培養された哺乳動物の細胞は、本発明内の適切な細胞である。外来DNAを哺乳動物宿主細胞に導入する方法は、磷酸カルシウム仲介形質移入(Wiglerら、Cell 14: 725 (1978); Oraso and Pearson, Somatic Cell Genetics 7:603 (1981); Graham and Van der Eb, Virology 52: 456(1973))、電気穿孔(Neumannら、EMBO J 1: 841-845 (1982))、DEAE-デキストラン仲介形質移入(Ausbelら、同上)、およびリポソーム仲介形質移入(Hawley-Nelsonら、Focus 15: 73 (1993); Ciccaroneら、Focus 15: 80 (1993))、ならびにウイルスベクター(Miller and Rosman, Bio Techniques 7: 980 (1989); Wang and Finer, Nature Med, 2: 714(1996))を含む。

40

【0051】

培養された哺乳動物細胞内での組換えポリペプチドの製造は、以下に開示されている：たとえば、Levinsonら、米国特許No.4,713,339; Hagenら、米国特許No.4,784,950; Palmer、米国特許No.4,579,821;およびRingold、米国特許No.4,656,134。適切な培養哺乳動物細胞は、COS-1(ATCC No. CRL 1650)、COS-7(ATCC No. CRL 1651)、BHK(ATCC No. CRL 1632)、BHK 570(ATCC No. CRL 10314)、293(ATCC No. CRL 1573);Grahamら、J. Gen. Virol. 36: 59 (1977)およびチャイニーズハムスター卵巣細胞株である(たとえば、CHO-K1; ATCC No. CCL 61)。

50

【 0 0 5 2 】

追加の適切な細胞株は当業界で知られており、Maryland州 Rockvilleにある American Type Culture Collection (国際細菌命名規約)のような公的寄託所から入手できる。一般に、SV-40またはサイトメガロウイルスからのプロモーターのような強い転写プロモーターが好ましい。たとえば、米国特許No.4,956,288を見よ。他の適切なプロモーターは、メタロチオネイン遺伝子からのもの(米国特許No.4,579,821およびNo.4,601,978)およびアデノウイルスの主要後期プロモーターを含む。

【 0 0 5 3 】

薬剤選択法は、外来のDNAが挿入された培養哺乳動物細胞を選択するために通常に使われる。その様な細胞を、一般に「トランスフェクタント」と呼ぶ。選択的作用物質の存在下培養され、関心事の遺伝子とその子孫に渡す事の出来る細胞を、「安定なトランスフェクタント」と呼ぶ。好ましい選択マーカーは、抗生物質ネオマイシンに対する抵抗性をコード化する遺伝子である。選択は、G-418等のようなネオマイシン型の薬剤の存在下で達成される。選択系はまた、関心事の遺伝子の発現水準を増加するためにも使われ、この工程を「増幅」と呼ぶ。

10

【 0 0 5 4 】

増幅は、低水準の選択的作用物質の存在下、トランスフェクタントを培養し、そうして導入された遺伝子の高水準の産物を産生する細胞を選択するために、選択的作用物質の量を増加することにより達成される。好ましい増幅可能な選択的標識は、ジヒドロ葉酸塩還元酵素であり、これはメトトレキセートに抵抗性を与える。

20

【 0 0 5 5 】

他の薬剤抵抗性遺伝子(たとえば、ヒグロマイシン抵抗性遺伝子、多剤抵抗性遺伝子、プロマイシンアセチルトランスフェラーゼ)もまた使用できる。緑色蛍光タンパク質のような変更された表現型、またはCD4、CD8、Class I MHC、胎盤アルカリ性リン酸酵素のような細胞表面タンパク質を導入する代わりに標識は、FACS選別または磁気ビーズ分離技術のような方法により、非形質移入細胞から形質移入細胞を選別するために使用されるだろう。

【 0 0 5 6 】

植物細胞、昆虫細胞および鳥の細胞を含む、他の真核細胞もまた、宿主として使用できる。植物細胞内で遺伝子を発現するためのベクターとしてのアグロバクター・リゾゲネス(*Agrobacterium rhizogenes*)の使用は、Sinkarら、*J. Biosci. (Bangalore)*11:47 (1987)により検討された。昆虫細胞の形質変換およびそこでの外来のポリペプチドの産生は、Guarinoら、米国特許No.5,162,222および世界知的所有機関公布WO 94/06463により開示されている。昆虫細胞は、通常キンウワバ科核多角体病ウイルス(AcNPV)から誘導される組換えかん状ウイルスで感染できる。

30

【 0 0 5 7 】

ポリペプチドをコードするDNAは、2つの方法のうちの1法により配列をコードするAcNPVポリヘドリン遺伝子の代わりに、かん状ウイルスゲノムに挿入される。第1の方法は、野生型のAcNPVとAcNPV配列により隣接された遺伝子を含む転写ベクターとの間の均質なDNAの再結合を行う伝統的方法である。適切な昆虫細胞、たとえばSF9細胞を野生型AcNPVで感染し、AcNPVポリヘドリン遺伝子プロモーターに操作可能に結合したポリヌクレオチド、ターミネーター、およびフランキング配列を含む転写ベクターで形質導入する。

40

【 0 0 5 8 】

King, L. A. and Possee, R.D., *The Baculovirus Expression System: A Laboratory Guide*, (Chapman & Hall, London); O'Reilly, D.R.ら、*Baculovirus Expression Vectors: A Laboratory Manual*(Oxford University Press, New York, New York, 1994);およびRichardson, C.D.編*Baculovirus Expression Protocols, Methods in Molecular Biology*, (Humana Press, Totowa, NJ 1995)を参照のこと。昆虫細胞内の天然の組換えにより、ポリヘドリンプロモーターにより働かされたコーディング配列を含む組換えかん状ウイルスを生ずる。組換えウイルスストックを、業界で通常使用されている方法で作る。

【 0 0 5 9 】

50

組換えかん状ウイルスを作る第2の方法は、Luckow, V.A.ら, J. Virol 67: 4566 (1993) に記述されている転位因子に基づく系を使う。この系は、Bac-to-Bac kit (Life Technologies, Rockville, MD)として売られている。この系は、“bacmid”と呼ばれる巨大プラスミドとして大腸菌に維持されているかん状ウイルスゲノムに、ポリペプチドをコード化するDNAを動かすためにTn7転位因子を含む転写ベクターpFastBac1™(Life Technologies)を使う。pFastBac1™転写ベクターは、関心事の遺伝子の発現を働かすために、AcNPVポリヘドリンプロモーターを使う。しかしながら、pFastBac1™は相当程度修飾できる。

【0060】

ポリヘドリンプロモーターは、除去および、かん状ウイルス塩基性タンパク質プロモーター(Pcor、p6.9またはMPプロモーターとしても知られている)で置換可能で、かん状ウイルス感染で既に発現され、そうして分泌されたタンパク質を発現するのに便利である事が示されている。Hill-Perkins, M.S. and Posse, R.D., J. Gen Virol 71: 971 (1990); Bonning, B.C.ら, J. Gen Virol 75: 1551 (1994);およびChazenbalk, G.D., and Rapoport, B., J. Biol Chem 270: 1543(1995)を参照のこと。

10

【0061】

そのような転写ベクター構築物で、短いまたは長い版の塩基性タンパク質プロモーターが使用できる。さらに、昆虫タンパク質から誘導された分泌シグナル配列で、天然の分泌シグナル配列を置換する転写ベクターが構築できる。たとえば、脱皮ステロイドグルコシルトランスフェラーゼ(EGT)、ミツバチMelittin(Invitrogen, Carlsbad, CA)、またはかん状ウイルスgp67(PharMingen, San Diego, CA)は、天然の分泌シグナル配列を置換するために、構築物内に使用できる。さらに、転写ベクターは、発現されたポリペプチドのC-またはN-末端エピトープ標識、たとえば、Glu-Gluエピトープ標識をコードするDNAとの枠内融合を含むことができる(Grussenmeyer, T.ら, Proc.Natl Acad Sci.82:7952 (1985))。

20

【0062】

当業界で知られた技術を用いて、組換え遺伝子を含む転写ベクターを、大腸菌に形質変換し、組換えかん状ウイルスを表示する遮られたlacZ遺伝子を含むbacmidのために選別する。組換えかん状ウイルスゲノムを含むbacmid DNAを、通常の技術を用いて単離し、そうしてスポドフトラ・フルギベルダ(Spodoptera frugiperda)細胞、たとえばSf9細胞を形質移入するために使用する。ポリペプチドを発現する組換えウイルスは、引き続き産生される。組換えウイルス株を、当業界で普通に使われる方法で産生する。

30

【0063】

組換えウイルスを、宿主細胞、典型的にはコアオヨトウ、スポドプテラ・フラギベルダ(Spodoptera frugiperda)、から誘導された細胞株を感染するために使う。一般には、Glick and Pasternak, Molecular Biotechnology: Principles and Applications of Recombinant DNA (ASM Press, Washington, D.C., 1994)を参照のこと。他の適切な細胞株は、トリコプルシア・ニイ(Trichoplusia ni)から誘導したHigh Five 0™細胞株(Invitrogen)である(米国特許No.5,300,435)。商業的に入手出来る無血清培地が、細胞を育て、維持するために使用される。

【0064】

適切な培地は、Sf9細胞用にはSf900 II™(Life Technologies)またはESF921™(Expression Systems)、T. ni細胞用にはEx-cel110405™(JRH Biosciences, Lenexa, KS)またはExpress Five0™(Life Technologies)である。細胞は、組換えウイルス株が0.1から10の感染多重度(MOI)で、より典型的には3近くで添加される時に、約2~5 x 10⁵から1~2 x 10⁶細胞の接種密度で育てられる。組換えウイルス感染細胞は、典型的に感染後12~72時間で組換えポリペプチドを産生し、培地に種々の効率でそれを分泌する。

40

【0065】

培地は通常感染後48時間で収穫する。遠心分離を培地から細胞を分離するために使う(上澄み液)。ポリペプチドを含む上澄み液を、通常0.45 μmの細孔径を有するマイクロポアフィルターを通して濾過する。操作は、入手できる実験室マニュアルに通常記述されている

50

(King, L.A. and Possee, R.D., 同上; O'Reilly, D.R.ら, 同上; Richardson, C.D., 同上)。上澄み液からのポリペプチドの引き続く精製は、ここに記述した方法を使って達成できる。

【0066】

酵母細胞を含む真菌細胞もまた、本発明内で使用できる。この観点から特別に関心のある酵母種は、サッカロミセス・セレビスエ (*Saccharomyces cerevisiae*)、ピキア・パストリス (*Pichia pastoris*) および ピキア・メタノリカ (*Pichia methanolica*) である。外来DNAでサッカロミセス・セレビスエ (*S. cerevisiae*) を形質変換しそこから組換えポリペプチドを産生する方法は、下記に開示されている。たとえば、Kawasaki, 米国特許No.4,599,311; Kawasakiら, 米国特許No.4,931,373; Brake, 米国特許No.4,870,008; Welch ら, 米国特許No.5,037,743; およびMurray ら, 米国特許No.4,845,075である。

10

【0067】

形質変換された細胞は、選択的標識、普通には薬剤耐性または特定の養分(たとえば、ロイシン)の不在下で成長する能力、により決定される表現型により選択される。サッカロミセス・セレビスエ (*Saccharomyces cerevisiae*) は、Kawasaki ら(米国特許No.4,931,373)により開示されたPOT1ベクター系である。これは、形質変換された細胞がグルコース含有培地での成長により選択されることを許す。

【0068】

酵母で使用するための適切なプロモーターおよびターミネーターは、解糖酵素遺伝子(たとえば、Kawasaki, 米国特許No.4,599,311; Kingsman ら, 米国特許No.4,615,974; および Bitter, 米国特許No.4,977,092を参照のこと)、およびアルコール脱水素酵素遺伝子からのそれらを含む。米国特許No.4,990,446、No.5,063,154、No.5,139,936および No.4,661,454も参照のこと。

20

【0069】

ハンゼヌラ・ポリモルファ (*Hansenula polymorpha*)、シゾサッカロミセス・ポンベ (*Schizosaccharomyces pombe*)、クレイベロミセス・ラクチス (*Kluyveromyces lactis*)、クレイベロミセス・フラギリリス (*Kluyveromyces fragilis*)、ウスチラゴ・マイディス (*Ustilago maydis*)、ピキア・パストリス (*Pichia pastoris*)、ピキア・メタノリカ (*Pichia methanolica*)、ピキア・グイレルモンディー (*Pichia guilliermondii*) およびカンジダ・マルトサ (*Candida maltosa*) を含む他の酵母用の形質変換系は、当業界で知られている。

30

【0070】

たとえば、Gleesonら, J. Gen. Microbiol.132: 3459(1986)およびCregg, 米国特許No.4,882,279を参照のこと。アスペルギルス (*Aspergillus*) 細胞は、Mc Knightら, 米国特許No.4,939,349の方法に従って、使用されるだろう。アクレモニウム・クリソゲナム (*Acremonium chrysogenum*) を形質変換する方法は、Sumino ら, 米国特許No.5,162,228により開示されている。Neurosporaを形質変換する方法は、Lambowitz, 米国特許No.4,486,533により開示されている。

【0071】

組換えタンパク質の製造用宿主としてのピキア・メタノリカ (*Pichia methanolica*) の使用は、世界的な所有機関WO 97/17450、WO 97/17451、WO 98/02536およびWO 98/02565に開示されている。ピキア・メタノリカ (*P. methanolica*) を形質変換するのに使うDNA分子は、普通2重鎖、環状プラスミドとして調製され、好ましくは形質変換前に線状にされる。ピキア・メタノリカ (*P. methanolica*) でのポリペプチド製造用に、プラスミド中のプロモーターおよびターミネーターはピキア・メタノリカ (*P. methanolica*) アルコール利用遺伝子 (AUG1またはAUG2) のようなピキア・メタノリカ (*P. methanolica*) 遺伝子のそれであることが好ましい。

40

【0072】

他の有用なプロモーターは、ジヒドロキシアセトン合成酵素 (DHAS)、蟻酸塩脱水素酵素 (FMD)、および過酸化水素分解酵素 (CAT) 遺伝子のそれらを含む。宿主染色体へのDNA

50

の組込みを促進するために、宿主のDNA配列をプラスミドの完全発現分節の両端に配置することが好ましい。ピキア・メタノリカ (*Pichia methanolica*) で使うための適切な選択できる標識は、ピキア・メタノリカ (*P. methanolica*) ADE2遺伝子であり、これはホスホリボシル-5-アミノイミダゾルカルボキシラーゼ(AIRC; EC 4.1.1.21)をコード化し、そしてこれはアデニンの不在下でade2宿主細胞を成長させる。

【0073】

メタノールの使用を最小にする事が望ましい大規模な工業プロセス用には、メタノール利用遺伝子 (AUG1およびAUG2) 両者を除去した宿主細胞の使用が望ましい。分泌タンパク質の製造のために、空胞性タンパク質分解酵素遺伝子 (PEP4およびPRB1) を欠く宿主細胞が好ましい。ピキア・メタノリカ (*P. methanolica*) 細胞への注目のポリペプチドをコード化するDNAを含むプラスミドの導入を促進するためにエレクトロポレーション (電気穿孔) を使う。2.5~4.5kV/cm、好ましくは約3.75 kV/cmの電場強度をもつ指数関数的に減衰するパルス状電場、および1~40ミリ秒、最も好ましくは約20ミリ秒の時間定数(t)を用いる電気穿孔により、ピキア・メタノリカ (*P. methanolica*) 細胞を形質変換することが好ましい。

10

【0074】

大腸菌細菌種を含む原核宿主細胞、バシルス (*Bacillus*)、および他の属もまた本発明内の有用な宿主細胞である。これらの宿主を形質変換し、そこにクローン化された外来DNA配列を発現するための技術は、当業界でよく知られている (たとえば、Sambrookら、同上を参照のこと)。大腸菌のような細菌中でポリペプチドを発現する時には、ポリペプチドは細胞質中に、典型的に不溶性の顆粒として、維持され、または細菌の分泌配列によりペリプラズム空間に導かれるだろう。前者の例において、細胞は崩壊し、顆粒を回収し、そうしてたとえばグアニジンイソチオシアネートまたは尿素を使って変性する。

20

【0075】

変性したポリペプチドを、次に尿素溶液ならびに還元および酸化グルタチオンの組合せに対しての透析、次いで緩衝生理食塩水に対しての透析によるような、変性剤の希釈により、再折り畳みおよび2量体化することができる。後者の例においては、周辺細胞質空間の中身を解放するために細胞を破碎し (たとえば、音波または浸透圧の衝撃により)、タンパク質を回収することにより、またそれにより変性および再折り畳みを不要にすることにより、可溶性で機能的な形で周辺細胞質空間からポリペプチドを回収できる。

30

【0076】

形質変換されたまたは形質移入された宿主細胞は、選ばれた宿主細胞の成長に必要な栄養素および他の成分を含む培養培地中で普通の手順に従って培養される。確定されたまたは複雑な培地を含む、多くの適切な媒質は、当業界で知られており、通常炭素源、窒素源、必須アミノ酸、ビタミンおよびミネラルを含む。培地はまた、必要に応じて、成長因子または血清のような成分をも含むだろう。生育培地を、たとえば、発現ベクターに寄せられたりまたは宿主細胞の中に共形質移入されたりする選択的標識で補われる、薬剤選択または必須栄養素の欠乏により、外生的に付加されたDNAを含む細胞用に通常選択する。

【0077】

ピキア・メタノリカ (*P. methanolica*) 細胞を、約25 から35 の温度で、炭素、窒素、および微量の栄養素の適切な原料源を含む培地で培養する。液体培養は、小フラスコの振蕩または発酵器の多孔分散のような通常の方法で十分な空気吹き込みを行う。ピキア・メタノリカ (*P. methanolica*) に対する好ましい培養培地は、YEPD (2% D-グルコース、2% Bacto™ Peptone (Difco Laboratories, Detroit, MI)、1% Bacto™ 酵母抽出物 (Difco Laboratories)、0.004%アデニンおよび0.0006% L-ロイシン) である。

40

【0078】

タンパク質の単離

本発明のポリペプチドを80%以上の純度、より好ましくは90%以上の純度、さらにより好ましくは95%以上の純度に精製することが好ましく、そうしてことに好ましくは、製薬的純粋状態であって、汚染性巨大分子、ことに他のタンパク質および核酸に関して99.9%より

50

高い純度であり、そうして感染性および発熱性物質を含まない。好ましくは、精製ポリペプチドは、本質的に他のポリペプチド、特に動物起源の他のポリペプチドを含まない。

【0079】

発現された組換えポリペプチド（またはキメラポリペプチド）は、分画および/または通常の精製法ならびに培地を用いて精製できる。硫酸アンモニウム沈殿および酸またはカオトロープ抽出は、試料の分画に使えるだろう。模範的精製工程は、ヒドロキシアパタイト、粒径排除、FPLCおよび逆相高性能液体クロマトグラフィーを含むだろう。適切なクロマトグラフィーの媒質は、誘導デキストラン、アガロース、セルロース、ポリアクリルアミド、特殊シリカ、などを含む。PEL、DEAE、QAEおよびQ誘導体が好ましい。

【0080】

模範的クロマトグラフィー媒質は、フェニル、ブチル、またはオクチル基の誘導媒質、たとえばPhenyl-Sepharose FF (Pharmacia)、Toyopearl butyl 650 (Toso Haas, Montgomeryville, PA)、Octyl-Sepharose (Pharmacia)など；またはポリアクリル酸樹脂、たとえばAmberchrom CG 71 (Toso Haas) などを含む。適切な固体支持物は、使用条件下で不溶性、ガラスビーズ、シリカ基盤の樹脂、セルロース樹脂、アガロースビーズ、架橋アガロースビーズ、ポリスチレンビーズ、架橋ポリアクリルアミド樹脂、その他である。これらの支持物は、アミノ基、カルボキシル基、スルフヒドリル基、水酸基、および/または炭水化物部分によりタンパク質を付加させる反応基で修飾されるだろう。

【0081】

カップリング化学の例は、臭化シアン活性化、N-ヒドロキシスクシイミド活性化、エポキシド活性化、スルフヒドリル活性化、ヒドラジド活性化、ならびにカルボジイミドカップリング化学に対するカルボキシルおよびアミノ誘導体を含む。これらの、および他の固体媒質は、当業界で良く知られておりまた広く使われており、そうして商業的供給者から入手できる。媒質を支持する受容体ポリペプチドを結合する方法は、当業界で良く知られている。特定の方法の選択は、通常の設計の問題であり、選択された支持物の性質により一部分決定される。たとえば、Affinity Chromatography: Principles & Methods (Pharmacia LKB Biotechnology, Uppsala, Sweden, 1988)を参照のこと。

【0082】

ポリペプチドは、その性質の活用により単離できる。抗体のFc定常領域に融合するタンパク質は、「プロテインA」カラムの方法により単離できる (Methods in Enzymol., Vol. 182, "Guide to Protein Purification", M. Deutscher編, page 529-539 (Acad. Press, San Diego, 1990))。本発明の追加的具體例で、注目のポリペプチドの融合および親和性標識（たとえば、マルトース結合タンパク質、免疫グロブリン分域）は、精製を促進するために構築されるだろう。

【0083】

さらに、当業界で記述されている方法を使って、ポリペプチド融合または交配タンパク質は、ポリペプチドの領域またはドメインを使って構築される (Sambrookら、同上、Altshulら、同上、Picard, Cur. Opin. Biology, 5: 511 (1994))。これらの方法により、より大きなドメインまたは注目のポリペプチドの領域の生物学的重要性を決定できる。その様なハイブリッドは、反応動態を変え、結合し、基質特異性を抑制しまたは拡張し、ポリペプチドの組織および細胞局在性を変更するだろうし、また未知の構造のポリペプチドに応用できる。

【0084】

融合タンパク質は、融合タンパク質の各成分を調製しそうして化学的にそれらを結合させることにより、当業界に知られた方法で調製できる。あるいは、適切な読み枠内で融合タンパク質の両成分をコード化するポリヌクレオチドは、既知の技術を使って形成でき、ここに記述した方法で発現される。たとえば、生体機能を与えるドメインの一部または全部は、本発明のポリペプチドと、他のファミリー構成員からの機能的に同等なドメインとの間で交換できる。その様なドメインは、これに限定されるものではないが、分泌シグナル配列、保存された、および重要なこのファミリーのドメインまたは領域を含む。その様な

10

20

30

40

50

融合タンパク質は、構築された融合に従って、本発明のポリペプチドもしくは他の知られたファミリーのタンパク質と同じまたは類似の生体機能の性格特性を持つことが期待されるだろう。

【 0 0 8 5 】

IL-19またはmda7を阻害するのに必要なIL-20RA/IL-20RB可溶性受容体の量は、投与方法、目標部位、患者の生理学的状態、および他の投与薬物を含む、多くの異なる因子に依存する。かくて治療用量は、安全性および有効性を最適化するために滴定されるべきである。典型的に、*in vitro*で使われた用量は、これらの試薬の*in vivo*投与に対する有効量についての有益な指針を与えるだろう。特定の疾患の治療に対する有効量の動物実験は、ヒトの用量のさらなる予想指標を与える。投与方法は、経口、静脈内、腹膜内、筋肉内、経皮、あるいは噴霧形またはネブライザ-もしくはアトマイザーで肺または気管内への投与を含む。

10

【 0 0 8 6 】

医薬的に受容できる担体は、少し例をあげれば、水、生理食塩水、緩衝剤を含む。用量範囲は、通常1日当たり体重1Kg当たり1 μ gから1000 μ gである。しかしながら、用量は、通常の技術を有する医者により決定される如く、通常これより多かたり少なかりする。医薬処方および用量範囲の完全な議論は、Remington's Pharmaceutical Sciences, 第18版., (Mack Publishing Co., Easton, Penn., 1996)およびGoodman and Gilman's: The Pharmacological Bases of Therapeutics, 第9版(Pergamon Press 1996)を見よ。本発明は、以下の非限定的な例によりさらに説明される。

20

【 0 0 8 7 】

例 1. IL-20RB変異株のクローニング

1. IL-20RB

1999年3月8日に出願された国際特許出願No. PCT/US99/03735に、クラスIIサイトカイン受容体ファミリーの2個の新規構成員が記述された。IL-20RBは、1999年8月31日に公布された米国特許No. 5,945,511のクラスIIサイトカイン受容体IL-20RAと31%の相同性がある。IL-20は、クラスIIサイトカインファミリーの1員であるIL-10の同族体である。IL-20RBはクラスIIサイトカイン受容体であり、胎性腎臓、胎性小腸、胎性卵巣、正常な皮膚および乾癬皮膚に発現されるという事実から、IL-20RBはIL-20受容体のサブユニットのもっともらしい候補とされた。

30

【 0 0 8 8 】

2. IL-20RBコード領域のクローニング

2個のPCRプライマーは、1999年3月8日に出願された国際特許出願No. PCT/US99/03735(公布No. WO 99/46379)からの配列に基づいて設計された: ZC25480(配列番号: 7)は、EcoRI制限部位にATG(Met1)コドンを含み、ZC25481(配列番号: 8)は、XhoI制限部位に停止コドン(TAG)を含む。PCR増幅を、ヒトのケラチン細胞(HaCaT) cDNAライブラリーDNAを鋳型として、ならびにZC25480(配列番号: 7)およびZC25481(配列番号: 8)をプライマーとして使用して達成した。

【 0 0 8 9 】

PCR反応を、以下の様に行った: インキュベーションを94 $^{\circ}$ Cで1分間、ついで94 $^{\circ}$ Cで30秒間および68 $^{\circ}$ Cで2分間のサイクルを30回行い、68 $^{\circ}$ Cで4分間の追加的インキュベーションを行った後、反応を4 $^{\circ}$ Cで貯蔵した。PCR産物を1%アガロースゲル上で移動させ、1 kb DNAバンドを観察した。PCR産物をゲルから切り取り、DNAをQIAquick Gel Extraction Kit (Qiagen)を用いて精製した。精製DNAをEcoRIおよびXhoIで消化し、pZP7Nと呼ばれるpZPベクター中にクローン化した。pZPプラスミドは、マウスのメタロチオネイン-1プロモーター、ヒトtPAリーダーペプチド、コード配列の挿入のための多重制限部位、Glu-Glu標識、およびヒト成長ホルモントミネレーターを有する発現カセットを含む哺乳動物発現ベクターである。

40

【 0 0 9 0 】

プラスミドはまた大腸菌の複製起点、SV40プロモーターを有する哺乳動物選択マーカ-発

50

現ユニット、DHFR遺伝子のみならず、エンハンサーおよび複製起点、ならびにSV40ターミネーターを有する。幾つかのIL-20R? -pZP7Nクローンの配列を決定した。それらは皆、PC T/US99/03735:(配列IL-20R? -pZP7N)におけるIL-20RB?の特許配列、146Pro(CCC)-Thr(ACC)、148His(CAT)-Asp(GAT)、および171Thr(ACG)-Arg(AGG)と比較して、3個の非保存的突然変異を含む。

【0091】

IL-20R?-pZP7Nクローンでの3個の置換を確認するために、鋳型として3個の異なるcDNA原料源---胎性皮膚マラソンcDNA、HaCaT cDNAライブラリーDNA、および前立腺平滑筋cDNAライブラリーDNA---を用いて、PCR増幅作用を遂行した。PCR産物をゲル精製し、配列を決定した。3個のPCR産物の夫々の配列は、IL-20R?-pZP7Nクローンのそれと一致した。

10

【0092】

例2. IL-20RA受容体-Ig融合タンパク質

発現ベクターpEZE3を、組換えIL-20受容体-Ig融合タンパク質を発現するために使用した。pEZE3は、pDC312から誘導した。pDC312は、Immunex Corporationから許可を受けて得られた。pDC312および pEZE3は、WO 97/25420に記述されているごとく、EASEセグメントを含む。発現ベクターにEASEセグメントが存在すると、安定な細胞プール中で組換えタンパク質の発現を2~8倍に改善できる。

【0093】

pEZE3は、哺乳動物細胞で、好ましくはチャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞で、3個までの異なるタンパク質を発現するために使用されるだろう3重シストロン発現ベクターである。pEZE3発現ユニットは、CMVエンハンサー/プロモーター、アデノウイルス3連リーダー配列、第1の組換えタンパク質のためのコード領域の挿入用多重クローニング部位、ポリオウイルス2型内部リボソーム侵入部位、第2の組換えタンパク質のためのコード領域挿入用第2の多重クローニング部位、脳筋炎ウイルス内部リボソーム侵入部位、マウスジヒドロ葉酸還元酵素コードセグメント、およびSV40転写ターミネーターを含む。さらに、pEZE3は、大腸菌複製起点および細菌のベータラクタマーゼ遺伝子を含む。

20

【0094】

IL-20受容体-Ig融合タンパク質は、野生型ヒト免疫グロブリンカップ軽鎖定常領域に融合したヒト細胞外ドメインの2本の鎖および突然変異したヒトの免疫グロブリンガンマ1定常領域に融合した2ヒトIL-20Rタンパク質細胞外ドメインの2本の鎖からなるジスルフィド結合したヘテロ4量体である。ヒト免疫グロブリンガンマ1定常領域は、FcRI結合およびC1q補体結合を低下させるためのアミノ酸置換を含む。

30

【0095】

ヒトIL-20RB細胞外ドメインヒト免疫グロブリンカップ軽鎖定常領域融合構築物を、オーバーラップPCRにより形成した。IL-20RBコードドメインは、アミノ酸1~230からなる。IL-20RBドメインのPCR増幅のための鋳型として、前もって形成したIL-20RBヒトカップ軽鎖定常領域発現構築物を使用した。オリゴヌクレオチドプライマー(配列番号:9)(zc27,522)および(配列番号:10)(zc27,684)を、IL-20RBドメインを増幅するために使用した。野生型ヒト免疫カップ軽鎖定常領域全体を使用した。野生型のヒト免疫グロブリンカップ軽鎖定常領域ドメインのPCR増幅のための鋳型として、前もって形成したIL-20RBヒトカップ軽鎖定常領域発現構築物を使用した。

40

【0096】

オリゴヌクレオチドプライマー(配列番号:11)(zc27,625)および(配列番号:12)(zc27,685)を、野生型ヒト免疫カップ軽鎖定常領域を増幅するために使用した。2個のタンパク質コードセグメントを、オリゴヌクレオチド(配列番号:9)(zc27,522)および(配列番号:12)(zc27,685)を用いるオーバーラップPCRにより結合した。(Gly₄Ser)₃ペプチドリンカーを、2個のタンパク質ドメインの間に挿入した。該(Gly₄Ser)₃ペプチドリンカーを、PCRプライマー(配列番号:11)(zc27,625)および(配列番号:10)(zc27,684)上にコードした。

【0097】

50

ヒトIL-20RA細胞外ドメイン - ヒト免疫グロブリンガンマ1重鎖定常領域融合構築物は、夫々別個のPCR増幅により形成した4個の別個のDNA構成体を、オーバーラップPCRすることにより形成した。

第1の構成体は、最適化されたtPA(組織プラスミノゲン活性化因子)シグナル配列を含んだ。otPAシグナル配列を、先に社内で形成した発現ベクターを鋳型として用い、オリゴヌクレオチドプライマー(配列番後:13)(zc27,525)および(配列番号:14)(zc27,526)を使用して増幅した。

【0098】

第2の構成体は、アミノ酸1~214からなるIL-20RA細胞外ドメインコード領域を含んだ。オリゴヌクレオチドプライマー(配列番号:15)(zc27,524)および(配列番号:16)(zc27,674)を、先に形成したIL-20RAのクローンを鋳型として用いて、IL-20RA?セグメントを増幅するために使用した。

【0099】

ヒトガンマ1重鎖定常領域を、2個のセグメントから形成した。C_H1ドメインを含む第1のセグメントは、野生型ヒトガンマ1重鎖定常領域のクローンを鋳型として用い、オリゴヌクレオチドプライマー(配列番号:17)(zc27,676)および(配列番号:18)(zc28,077)を用いて増幅した。残りのヒンジ、ヒト免疫グロブリンガンマ1重鎖定常領域のC_H2およびC_H3ドメインを含む第2のセグメントを、オリゴヌクレオチドプライマー(配列番号:19)(zc28,076)および(配列番号:20)(zc27,523)を用いてPCR増幅により形成した。

【0100】

4個のタンパク質コードドメインは、オリゴヌクレオチドプライマー(配列番号:13)(zc27,525)および(配列番号:20)(zc27,523)を用いてオーバーラップPCRにより結合した。(Gly₄Ser)₃ペプチドリンカーを、zcytor7およびCH1タンパク質ドメインの間に挿入した。該(Gly₄Ser)₃ペプチドリンカーを、PCRプライマー(配列番号:17)(zc27,676)および(配列番号:16)(zc27,674)上にコードされた。

IL-20RB細胞外ドメインヒト免疫グロブリンカッパ軽鎖定常領域融合コードセグメントを第2のMCSにクローン化した。一方、ヒトIL-20RA細胞外ドメインヒト免疫グロブリンガンマ1重鎖定常領域融合コードセグメントをpEZE3の第1MCS中にクローン化した。

【0101】

プラスミドを、CHO細胞を形質移入するために使用した。細胞をヒポキサンチンまたはチミジンを含まない培地内で選択し、形質変換遺伝子をメトトレキセートを用いて増幅した。タンパク質の存在を抗ヒトガンマ1重鎖定常領域および抗ヒトカッパ軽鎖抗体を用いてウェスタンブロット法により分析した。

IL-20RB細胞外ドメインヒト免疫グロブリンカッパ軽鎖定常領域融合タンパク質およびDNA配列は、配列番号:21および22に示されている。

IL-20RA細胞外ドメインヒト免疫グロブリンガンマ1重鎖定常領域融合タンパク質およびDNA配列は、配列番号:23および24に示されている。

【0102】

例3. IL-20RA/B受容体-Ig融合タンパク質

発現ベクターpEZE3を、組換えIL-20RA/B受容体-Ig融合タンパク質を発現するために使用した。pEZE3は、pDC312から誘導する。pDC312は、Immunex Corporationからの許可を受けて得られた。pDC312およびpEZE3は、WO 97/25420に記載されているごとくEASEセグメントを含む。発現ベクターのEASEセグメントの存在は、安定細胞プールでの組換えタンパク質の発現を2~8倍に改善できる。

【0103】

pEZE3は、哺乳動物細胞、好ましくはチャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞に、3個までの異なるタンパク質を発現するのに使用されるだろう3重シストロン発現ベクターである。pEZE3発現ユニットは、CMVプロモーター/プロモーター、アデノウイルス3連リーダー配列、第1の組換えタンパク質のコード領域の挿入のための多重クローニング部位、ポリオウイルス2型内部リボソーム侵入部位、第2の組換えタンパク質のコード領域の挿入

10

20

30

40

50

のための第2の多重クローニング部位、脳心筋炎ウイルス内部リボソーム侵入部位、マウスジヒドロ葉酸還元酵素用コードセグメント、およびSV40転写ターミネーターを含む。さらにpEZE3は、転写の大腸菌複製起点および細菌性ベータラクタマーゼ遺伝子を含む。

【0104】

IL-20RA/B受容体-Ig融合タンパク質は、野生型ヒト免疫グロブリンカッパ軽鎖定常領域に融合したヒトIL-20RBタンパク質細胞外ドメインの2本の鎖および組換えヒト免疫グロブリンガンマ1定常領域に融合したヒトIL-20RAタンパク質細胞外ドメインの2本の鎖からなるジスルフィド結合4量体である。ヒト免疫グロブリンガンマ1定常領域は、FcR1結合およびC1q補体結合を低下させるためのアミノ酸置換を含む。

【0105】

ヒトIL-20RB細胞外ドメインヒト免疫グロブリンカッパ軽鎖定常領域融合構築物を、オーバーラップPCRにより形成した。IL-20RBコードセグメントは、アミノ酸1~230からなる。前もって形成したIL-20RBセグメントのPCR増幅のために、先に形成したIL-20RBヒトカッパ軽鎖定常領域発現構築物を鋳型として使用した。オリゴヌクレオチドプライマー（配列番号：9）（zc27,522）および（配列番号：10）（zc27,684）を用いて、IL-20Rセグメントを増幅した。全野生型ヒト免疫カッパ軽鎖定常領域を使用した。野生型ヒト免疫カッパ軽鎖定常領域セグメントのPCR増幅のために、以前に形成したIL-20RBヒトカッパ軽鎖定常領域発現構築物を鋳型として使用した。

【0106】

オリゴヌクレオチドプライマー（配列番号：11）（zc27,675）および（配列番号：12）（zc27,685）を使用して、野生型ヒト免疫カッパ軽鎖定常領域を増幅した。2個のタンパク質コードするドメイン、オリゴヌクレオチド（配列番号：9）（zc27,522）および（配列番号：12）（zc27,685）を使用し、オーバーラップPCRにより結合した。 $(Gly_4Ser)_3$ ペプチドリンカーを、2個のタンパク質分域の間に挿入した。 $(Gly_4Ser)_3$ ペプチドリンカーは、PCRプライマー（配列番号：11）（zc27,675）および（配列番号：10）（zc27,684）上にコードされた。

【0107】

ヒトIL-20RA細胞外ドメインヒト免疫グロブリンガンマ1重鎖定常領域融合構成体を、夫々別個のPCR増幅反応により形成した4個の別個のDNA構成体をオーバーラップPCRすることにより形成した。

第1の構成体は、最適化されたtPA（組織プラスミノゲン活性化因子）シグナル配列を含んだ。otPAシグナル配列を、先に社内で形成した発現ベクターを鋳型として用い、オリゴヌクレオチドプライマー（配列番号：13）（zc27,525）および（配列番号：14）（zc27,526）を使用して増幅した。

第2の構成体は、アミノ酸1から214までからなるIL-20RA細胞外ドメインコード領域を含んだ。オリゴヌクレオチドプライマー（配列番号：15）（zc27,524）および（配列番号：16）（zc27,674）を、IL-20RAの先に形成したクローンを鋳型として用いて、IL-20RA分節を増幅するために使用した。

【0108】

ヒトガンマ1重鎖定常領域は、2個のセグメントから形成された。 C_H1 ドメインを含む第1のセグメントは、野生型ヒトガンマ1重鎖定常領域のクローンを鋳型として使い、オリゴヌクレオチドプライマー（配列番号：17）（zc27,676）および（配列番号：18）（zc28,077）を用いて増幅した。残りのヒンジ、ヒト免疫グロブリンガンマ1重鎖定常領域の C_H2 および C_H3 ドメインを含む第2のセグメントを、オリゴヌクレオチドプライマー（配列番号：19）（zc28,076）および（配列番号：20）（zc27,523）を用いてPCR増幅により形成した。

【0109】

4個のコードドメインは、オリゴヌクレオチド（配列番号：13）（zc27,525）および（配列番号：20）（zc27,523）を用いてオーバーラップPCRにより結合した。 $(Gly_4Ser)_3$ ペプチドリンカーを、zcytor7およびCH1タンパク質ドメインの間に挿入した。該 $(Gly_4Ser)_3$ ペプチドリンカーは、PCRプライマー（配列番号：17）（zc27,676）および（配列番号：16）（zc27,674）上でコードされた。

10

20

30

40

50

IL-20RB細胞外ドメインヒト免疫グロブリンカッパ軽鎖定常領域融合コードセグメントを第2のMCSにクローン化した。一方、ヒトIL-20RA細胞外ドメインヒト免疫グロブリンガンマ1重鎖定常領域融合コードセグメントをpEZE3の第1MCS中にクローン化した。

【0110】

プラスミドを用いて、CHO細胞を形質移入した。細胞をヒポキサンチンまたはチミジンを含まない培地内で選択し、形質転換遺伝子をメトトレキセートを用いて増幅した。タンパク質の存在を抗ヒトガンマ1重鎖定常領域および抗ヒトカッパ軽鎖抗体を用いてウェスタンブロット法により分析した。

IL-20RB細胞外ドメインヒト免疫グロブリンカッパ軽鎖定常領域融合タンパク質およびDNA配列は、配列番号：21および22に示されている。その成熟ポリペプチド配列は、配列番号：41に示される。

10

IL-20RA細胞外ドメインヒト免疫グロブリンガンマ1重鎖定常領域融合タンパク質およびDNA配列は、配列番号：23および24に示されている。その成熟ポリペプチド配列は、配列番号：39である。

【0111】

例4. IL-20受容体ヘテロ2量体の構築

分泌されるhIL-20RA/hIL-20RBヘテロ2量体を発現するベクターを構築した。この構築物において、hIL-20RAの細胞外ドメインをIgGガンマ1(IgG 1)の重鎖に融合した。一方、IL-20RBの細胞外ドメインをヒトカッパ軽鎖(ヒト軽鎖)に融合した。

【0112】

IgGガンマ1およびヒト軽鎖融合ベクターの構築

IgG 1の重鎖を、Zem229R哺乳動物発現ベクター(ATCC寄託No.69447)に、5'EcoRIおよび3'NheI部位を有する受容体のどの細胞外部分もクローンされ、その結果N末端細胞外ドメイン-C末端IgG 1融合を生じるように、クローン化した。この構築物に使われたIgG 1構成体を、鋳型としてClontech hFetal Liver cDNAライブラリーからIgG 1配列を単離するためにPCRを用いて形成した。oligos(配列番号：25)ZC11,450および(配列番号：26)ZC11,443を用いてPCR反応を以下のように行った：94で60秒、53で60秒、および72で120秒を40サイクル、ならびに72で7分間。

20

【0113】

PCR産物をアガロースゲル電気泳動により分離し、QiaQuick™(Qiagen)ゲル抽出キットを用いて精製した。単離した990bpのDNA構成体を、M1uIおよびEcoRI(Boehringer-Mannheim)で消化し、エタノールで沈殿させ、M1uI/EcoRIリンカーからなるoligos(配列番号：27)ZC11,440および(配列番号：28)ZC11,441と共に、ここに開示された標準的分子生物学技術を用いて、先にM1uIおよびEcoRIで消化したZem229R中に結合した。この一般的なクローニングベクターを、Vector#76 hIgGgamma1 w/Ch1 #786 Zem229R(Vector#76)と呼ぶ。IgG 1の重鎖に融合したhIL-20RAの細胞外領域のポリヌクレオチド配列を配列番号：29に、そして対応するポリペプチド配列を配列番号：30に示す。その成熟配列は、配列番号：40である。

30

【0114】

ヒト軽鎖をZem228R哺乳動物発現ベクター(ATCC寄託No.69446)に、5'EcoRI部位および3'KpnI部位を有する受容体のどの細胞外部分もクローンされ、その結果N末端細胞外ドメイン-C末端ヒト軽鎖融合を生じるように、クローン化した。この構築物に使われたヒト軽鎖構成体を、上で使われたと同じClontech hFetal Liver cDNAライブラリーからのヒト軽鎖配列を単離するためにPCRを用いて形成した。oligos(配列番号：31)ZC11,501および(配列番号：32)ZC11,451を用いてPCR反応を上記の条件下で行った。

40

【0115】

PCR産物をアガロースゲル電気泳動により分離し、QiaQuick™(Qiagen)ゲル抽出キットを用いて精製した。単離した315bpのDNA構成体を、M1uIおよびEcoRI(Boehringer-Mannheim)で消化し、エタノールで沈殿させ、上述したM1uI/EcoRIリンカーと共に、ここに開示された標準的分子生物学技術を用いて、先にM1uIおよびEcoRIで消化したZem229R中に結合

50

した。この遺伝子クローニングベクターを、Vector#77h light#774Zem228R (Vector#77) と呼ぶ。ヒトカッパ軽鎖に融合したIL-20RBの細胞外部分のポリヌクレオチド配列を配列番号：33に、そして対応するポリペプチド配列を配列番号：34に示す。その成熟配列は、配列番号：42である。

【0116】

融合ベクター構築物へのhIL-20RAおよびIL-20RB細胞外ドメインの挿入

上述の構築ベクターを用いて、ヒトIL-20RAをIgG 1に融合させた構築物を形成した。この構築は、下記に述べる条件下でoligos (配列番号：35) ZC12,909および (配列番号：36) ZC26,564を有するhIL-20RA/IgG Vector#102からのヒトIL-20RA受容体をPCRすることにより行った：94 で60秒、57 で60秒、および72 で120秒を30サイクル、ならびに72 で7分間である。結果のPCR産物を、ここに記述したごとくEcoRIおよびNheIで消化し、ゲル精製し、予め消化されたEcoRIおよびNheIならびにバンド精製したVector#76 (上述) 中に結合した。結果のベクターを、ヒトIL-20R /IgGgamma1融合 (hIL-20RA/Ch1 IgG) が正しいことを確認するために配列を決定した。hIL-20RA/Ch1 IgGgamma1#1825 Zem229RベクターをVector#195と名付けた。

【0117】

lightにIL-20RBを融合させた個別の構築物もまた構築した。IL-20RB/ヒト 軽鎖の構築は、上述のごとくoligos (配列番号：37) ZC26,602および (配列番号：38) ZC26,599を有するDR1/7N-4からPCRし、結果のバンドを、EcoRIおよびKpnIで消化し、ついでこの製品を予め消化されたEcoRIおよびKpnIおよびバンド精製したVector#77 (上述) 中に結合した。結果のベクターを、IL-20RB/ヒト 軽鎖融合 (IL-20RB/ light) が正しいことを確認するために配列を決定した。このIL-20RB/ light#1833Zem228RベクターをVector#194と名付けた。

【0118】

ヒトIL-20RAおよびIL-20RB受容体の共発現

上述のVector#194およびVector#195の夫々約16 µgを、製造者の指示に従って、LipofectaminePlus™試薬(Gibco/BRL)を用いて、BHK-570細胞 (ATCC No. CRL- 10314) に共形質移入した。形質移入された細胞を、1 µMのメトトレキサート (MTX) (Sigma, St. Louis, MO) を含むDMEM + 5%FBS(Gibco/BRL)中で10日間および0.5 mg/mL G418(Gibco/BRL)で10日間選択した。結果の形質移入物のプールをもう1度、10 µ MTXおよび0.5mg/mL G418中で10日間選択した。

【0119】

2重に選択した細胞の生成プールを使用して、タンパク質を形成した。3工場 (Nunc, Denmark) のこのプールを用いて、8 Lの無血清順化培地を形成した。この順化培地を、1 mLのプロテインAカラム上を通過させ、750 µLずつの10分画を溶出した。最も高濃度の4分画をプールし、PBSに対して透析した (10 kD MWカットオフ)。最後に、透析物は、BCA(Pierce)により分析し、317 µg/mLの濃度を有することを見出した。この8 Lの精製から総量951 µgを得た。

【0120】

例5. Baf3/IL-20RA/IL-20RB安定細胞系の増殖分析

例の目的：

本例の目的は、IL-19がIL-20RA/IL-20RBヘテロ2量体受容体を発現する細胞系に結合できるか否かを決定することであった。

IL-19をBaf3/IL-20RA/IL-20RB安定細胞系で用量作用増殖分析を行った。増殖分析を以下のように組み立てた：

【0121】

- 第1日： 96孔培養皿に1孔当り5000細胞で、6ng/mLから0.01ng/mLまでのIL-19および対照物の用量作用を接種し、細胞を37 でインキュベートした。
- 第4日： 20 µLのAlamar Blueを各孔に置き、細胞を37 で一晩インキュベートした。
- 第5日： 培養皿をFluoresces Units(544nm ex./590nm em.)の自動化培養皿読取り機にか

10

20

30

40

50

けた。データを以下に示す。

結果：以下のデータは、各孔の細胞数であり、細胞がIL-19に対する用量依存性作用で増殖したことを示す。

【 0 1 2 2 】

【表 1】

表 1

	基礎量	0.01ng/ml	0.02ng/ml	0.05ng/ml	0.09ng/ml	0.19ng/ml
IL-19 (A096G)	351	952	1463	2415	3406	4110
	15.76368	114.4513	156.6867	265.7708	122.874	33.92484
	15.76	59.29149	93.94366	74.18359	144.9331	136.9183

10

0.38ng/ml	0.75ng/ml	1.5ng/ml	3ng/ml	6ng/ml
4528	4962	5194	5499	5664
172.5072	185.7348	177.8779	92.49958	83.41251
84.89956	49.76869	83.2038	49.12525	43.42404

20

【 0 1 2 3 】

【表 2】

表 2

	1	2	3	4	5	6
A	6528.9	5722.8	5619.8	5492.3	5338.3	4896.2
B	6544.8	5540.1	5421.6	5133.1	4976.4	4676.9
C	6554.7	5541.9	5402.7	5160.9	4981.9	4646.2
D	6457.9	5689.5	5397.3	5012.6	4835.6	4409.4
E	6537.7	5627.4	5496.6	5304	4962.9	4622
F	6494.5	5708	5532.4	5235.2	4880.5	4603.9
G	6492.6	5613.8	5419.6	5082.8	5002	4445.3
H	6562.8	5705.8	5546.2	5154.9	5002.8	4442

10

	7	8	9	10	11	12
A	4285.9	3621	3563.9	2104	1443.5	373.79
B	4376.6	3933.5	3240.5	2221.8	1149.4	351.74
C	4325.9	3908.5	3029.9	2071.4	1181	321.27
D	4304.4	3831.3	2849.4	1794.4	1276.7	368.39
E	4341.3	3573.1	2521.7	1390.6	921.81	340.1
F	4055.3	3433.2	2416.2	1423.1	872.13	341.37
G	4061.1	3173.9	2312.1	1413.5	989.98	352.52
H	3983.1	3444.6	2408.8	1624.3	1025	359.24

20

【 0 1 2 4 】

例 6 . IL-19の中和分析法

例の目的：

本例の目的は、可溶性IL-20RA/IL-20RBヘテロ2量体受容体がIL-19を中和できるか否かを決定することであった。

-第1日：IL-20RA/IL-20RBヘテロ2量体受容体を発現する幼児ハムスター腎臓（BHK）細胞を1000細胞/孔で96孔培養皿にて培養した。

【 0 1 2 5 】

-第2日：細胞をその作用を下方調整するために無血清培地で再培養した。

-第3日：IL-19を含む3つの異なる溶液を調製した。第1の溶液は0.1ng/mLの濃度を有し、第2は1ng/mL、第3は10ng/mLの濃度を有した。

対照実験として、夫々のIL-19溶液の100 μ L分割を、IL-19により引き起こされた細胞増殖の水準を決定するために、異なる細胞を含む孔に置いた。

【 0 1 2 6 】

第2の実験で、10 μ g/mL濃度の可溶性IL-20RA/IL-20RBヘテロ2量体受容体を含む100 μ L溶液を、各IL-19溶液の100 μ L分割と混合し、溶液を完全に混合するために渦巻き攪拌をした。溶液を次に室温で30分間静置した。混合溶液を次いで、IL-20RA/IL-20RB受容体を発現するBHK細胞を含む3孔に夫々置いた。細胞を含むマイクロタイター培養皿を37 $^{\circ}$ Cで4時間インキュベーターとし、照度計で読んでデータを集めた。

下表のデータは、実験の最後に存在する細胞数を示す。表示されている如く、可溶性受容体は、3つの全ての濃度（ことに、より高濃度）においてIL-19単独の活性と比較して、IL-19の活性を幾分中和した。

【 0 1 2 7 】

30

40

50

【表 3】

表 3

	基礎量	0.1ng/ml	1ng/ml	10ng/ml
zmda1 のみ	3370	11488	18684	25148.33
可溶性受容体 (A442F) 10 μ g/ml	80.06664	282.8722	223.1457	770.5052

10

【 0 1 2 8 】

【表 4】

表 4

	基礎量	0.1ng/ml	1ng/ml	10ng/ml
可溶性受容体 (A442F) 10 μ g/ml	3574.667	6115.333	13160.67	20687
+ Zmda1	105.3291	435.0788	672.2645	582.3624

20

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> ZymoGenetics, Inc.
 <120> Method for Treating Inflammation
 <130> 00-88PC
 <160> 42
 <170> FastSEQ for Windows Version 3.0
 <210> 1
 <211> 3516
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <220>
 <221> CDS
 <222> (237)...(1895)

10

<400> 1
 tccagctggg tagccggggg agcgcgcgtg ggggctccgc gagtcgctcg cccttggttt 60
 ctggggaagc ctgggggacg cggctgtggc ggaggcgccc tgggactcag gtcgcctgga 120
 gcgtggcacg cagagcccca ggcgcggagc tgaggccgcg cggccgcgct tggccccagc 180
 gggcgtggga ctgagcagtc tgctgcccc cgacatgtga cccagccccg ccgccc atg 239
 Met
 1
 cg gct ccc ggc cgc ccg gcc ctg cgg ccg ctg ccg ctg ccg ccg ctg 287
 Arg Ala Pro Gly Arg Pro Ala Leu Arg Pro Leu Pro Leu Pro Pro Leu
 5 10 15
 ctg ctg ttg ctc ctg gcg gcg cct tgg gga cgg gca gtt ccc tgt gtc 335
 Leu Leu Leu Leu Leu Ala Ala Pro Trp Gly Arg Ala Val Pro Cys Val 30
 20 25 30
 tct ggt ggt ttg cct aaa cct gca aac atc acc ttc tta tcc atc aac 383
 Ser Gly Gly Leu Pro Lys Pro Ala Asn Ile Thr Phe Leu Ser Ile Asn
 35 40 45

20

30

atg aag aat gtc cta caa tgg act cca cca gag ggt ctt caa gga gtt Met Lys Asn Val Leu Gln Trp Thr Pro Pro Glu Gly Leu Gln Gly Val 50 55 60 65	431	
aaa gtt act tac act gtg cag tat ttc ata tat ggg caa aag aaa tgg Lys Val Thr Tyr Thr Val Gln Tyr Phe Ile Tyr Gly Gln Lys Lys Trp 70 75 80	479	
ctg aat aaa tca gaa tgc aga aat atc aat aga acc tac tgt gat ctt Leu Asn Lys Ser Glu Cys Arg Asn Ile Asn Arg Thr Tyr Cys Asp Leu 85 90 95	527	10
tct gct gaa act tct gac tac gaa cac cag tat tat gcc aaa gtt aag Ser Ala Glu Thr Ser Asp Tyr Glu His Gln Tyr Tyr Ala Lys Val Lys 100 105 110	575	
gcc att tgg gga aca aag tgt tcc aaa tgg gct gaa agt gga cgg ttc Ala Ile Trp Gly Thr Lys Cys Ser Lys Trp Ala Glu Ser Gly Arg Phe 115 120 125	623	
tat cct ttt tta gaa aca caa att ggc cca cca gag gtg gca ctg act Tyr Pro Phe Leu Glu Thr Gln Ile Gly Pro Pro Glu Val Ala Leu Thr 130 135 140 145	671	20
aca gat gag aag tcc att tct gtt gtc ctg aca gct cca gag aag tgg Thr Asp Glu Lys Ser Ile Ser Val Val Leu Thr Ala Pro Glu Lys Trp 150 155 160	719	
aag aga aat cca gaa gac ctt cct gtt tcc atg caa caa ata tac tcc Lys Arg Asn Pro Glu Asp Leu Pro Val Ser Met Gln Gln Ile Tyr Ser 165 170 175	767	
aat ctg aag tat aac gtg tct gtg ttg aat act aaa tca aac aga acg Asn Leu Lys Tyr Asn Val Ser Val Leu Asn Thr Lys Ser Asn Arg Thr 180 185 190	815	30
tgg tcc cag tgt gtg acc aac cac acg ctg gtg ctc acc tgg ctg gag Trp Ser Gln Cys Val Thr Asn His Thr Leu Val Leu Thr Trp Leu Glu 195 200 205	863	
ccg aac act ctt tac tgc gta cac gtg gag tcc ttc gtc cca ggg ccc	911	

Pro Asn Thr Leu Tyr Cys Val His Val Glu Ser Phe Val Pro Gly Pro 210 215 220 225	
cct cgc cgt gct cag cct tct gag aag cag tgt gcc agg act ttg aaa Pro Arg Arg Ala Gln Pro Ser Glu Lys Gln Cys Ala Arg Thr Leu Lys 230 235 240	959
gat caa tca tca gag ttc aag gct aaa atc atc ttc tgg tat gtt ttg Asp Gln Ser Ser Glu Phe Lys Ala Lys Ile Ile Phe Trp Tyr Val Leu 245 250 255	1007
ccc ata tct att acc gtg ttt ctt ttt tct gtg atg ggc tat tcc atc Pro Ile Ser Ile Thr Val Phe Leu Phe Ser Val Met Gly Tyr Ser Ile 260 265 270	1055
tac cga tat atc cac gtt ggc aaa gag aaa cac cca gca aat ttg att Tyr Arg Tyr Ile His Val Gly Lys Glu Lys His Pro Ala Asn Leu Ile 275 280 285	1103
ttg att tat gga aat gaa ttt gac aaa aga ttc ttt gtg cct gct gaa Leu Ile Tyr Gly Asn Glu Phe Asp Lys Arg Phe Phe Val Pro Ala Glu 290 295 300 305	1151
aaa atc gtg att aac ttt atc acc ctc aat atc tcg gat gat tct aaa Lys Ile Val Ile Asn Phe Ile Thr Leu Asn Ile Ser Asp Asp Ser Lys 310 315 320	1199
att tct cat cag gat atg agt tta ctg gga aaa agc agt gat gta tcc Ile Ser His Gln Asp Met Ser Leu Leu Gly Lys Ser Ser Asp Val Ser 325 330 335	1247
agc ctt aat gat cct cag ccc agc ggg aac ctg agg ccc cct cag gag Ser Leu Asn Asp Pro Gln Pro Ser Gly Asn Leu Arg Pro Pro Gln Glu 340 345 350	1295
gaa gag gag gtg aaa cat tta ggg tat gct tcg cat ttg atg gaa att Glu Glu Glu Val Lys His Leu Gly Tyr Ala Ser His Leu Met Glu Ile 355 360 365	1343
ttt tgt gac tct gaa gaa aac acg gaa ggt act tct ttc acc cag caa Phe Cys Asp Ser Glu Glu Asn Thr Glu Gly Thr Ser Phe Thr Gln Gln 370 375 380 385	1391

10

20

30

gag tcc ctc agc aga aca ata ccc ccg gat aaa aca gtc att gaa tat	1439	
Glu Ser Leu Ser Arg Thr Ile Pro Pro Asp Lys Thr Val Ile Glu Tyr		
390 395 400		
gaa tat gat gtc aga acc act gac att tgt gcg ggg cct gaa gag cag	1487	
Glu Tyr Asp Val Arg Thr Thr Asp Ile Cys Ala Gly Pro Glu Glu Gln		
405 410 415		
gag ctc agt ttg cag gag gag gtg tcc aca caa gga aca tta ttg gag	1535	
Glu Leu Ser Leu Gln Glu Glu Val Ser Thr Gln Gly Thr Leu Leu Glu		
420 425 430		10
tcg cag gca gcg ttg gca gtc ttg ggc ccg caa acg tta cag tac tca	1583	
Ser Gln Ala Ala Leu Ala Val Leu Gly Pro Gln Thr Leu Gln Tyr Ser		
435 440 445		
tac acc cct cag ctc caa gac tta gac ccc ctg gcg cag gag cac aca	1631	
Tyr Thr Pro Gln Leu Gln Asp Leu Asp Pro Leu Ala Gln Glu His Thr		
450 455 460 465		
gac tcg gag gag ggg ccg gag gaa gag cca tcg acg acc ctg gtc gac	1679	
Asp Ser Glu Glu Gly Pro Glu Glu Glu Pro Ser Thr Thr Leu Val Asp		
470 475 480		20
tgg gat ccc caa act ggc agg ctg tgt att cct tcg ctg tcc agc ttc	1727	
Trp Asp Pro Gln Thr Gly Arg Leu Cys Ile Pro Ser Leu Ser Ser Phe		
485 490 495		
gac cag gat tca gag ggc tgc gag cct tct gag ggg gat ggg ctc gga	1775	
Asp Gln Asp Ser Glu Gly Cys Glu Pro Ser Glu Gly Asp Gly Leu Gly		
500 505 510		
gag gag ggt ctt cta tct aga ctc tat gag gag ccg gct cca gac agg	1823	
Glu Glu Gly Leu Leu Ser Arg Leu Tyr Glu Glu Pro Ala Pro Asp Arg		
515 520 525		30
cca cca gga gaa aat gaa acc tat ctc atg caa ttc atg gag gaa tgg	1871	
Pro Pro Gly Glu Asn Glu Thr Tyr Leu Met Gln Phe Met Glu Glu Trp		
530 535 540 545		
ggg tta tat gtg cag atg gaa aac tgatgccaac acttcctttt gccttttgtt	1925	
Gly Leu Tyr Val Gln Met Glu Asn		
550		

```

tcctgtgcaa acaagtgagt caccctttg atcccagcca taaagtacct gggatgaag 1985
aagttttttc cagtttgtca gtgtctgtga gaattactta tttcttttct ctatttctcat 2045
agcacgtgtg tgattggttc atgcatgtag gtctcttaac aatgatggg ggcctctgga 2105
gtccaggggc tggccgggtt ttctatgcag agaaagcagt caataaatgt ttgccagact 2165
gggtgcagaa tttattcagg tgggtgtact ctggcctctt ggttcattat tttcaaacia 2225
gcacacttgt acaattatth tctgggtact tcccatatgc acatagcact gtaaaaaata 2285
ttcccaaag atcactcatt ttataaatac cactttttca gaattgggtt tattgcgagc 2345
aggaggagat acttaaaaca tgcacatata ccaggttggg ggtaagtgg tcacatgtga 2405
aaacctcaac tatttaatca tcatgattca tattttgagt gaatacatca ggcacagacc 2465
ttcatgatat cacacactct tggctacttt aagaggccat ctttaatact ttatgagtag 2525
ttctggagtg taaacataaa cgagtattct tttgtagtca gaaaagtgtc ctctcaataa 2585
tttagtaggg gcttattgtc tctcaaaact aacctaaaag aaaatgacac attttataat 2645
agaatattac atttatttct ggaagtgtgt tttcaaaaag atatttcat agtctgtaaa 2705
ctagaaagtg ttaggtaaag ctctaggtta ctgtgttact attataatat taacattcg 2765
aataggcagt cgttcaaaga ctctttggaa tatctatgaa tgaatatcct ctattcttat 2825
aatattaaaa cccataagta aatataggac atacaagaga aatgagtaa atgactatgt 2885
aaggagagat ttattaaaat ttgatgaaat ttactgtagg aactaaacta tgccataaaa 2945
caatagcttt ctagttcatt tccagtaact gttcccactt cctttaccac ttgttaagaa 3005
aattaaattc ttcagtcacg ctgctttaa atgggacaaa atctattaag ttgaaccata 3065
tataattgtg gatatttggc tgtttttaa ctgacaagca gtaacttcat atggtttgcc 3125
ttaatatata tttgttttag tcatgaactc ataatccatt gatgctcttt catgagaaga 3185
gatatgacct atatttcttt attgatatta ttggtacagg cagacaacc ttgtaggaga 3245
gatggattct ggggtcatga cctttcgtga ttatccgcaa atgcaaacag tttcagatct 3305
aatggtttaa tttaggagat aattatatta atcagagtgt tctgttattc tcaatcttta 3365
tagaaacgat tctgctggtt ttgaagaaca gatgtattac actaactgta aaagtagttc 3425
aagagtgaga aagaataaat tgttattaag agcaaaagaa aaataaagtg attgatgata 3485
aaaaaaaaa aaaaaaagcg gccgcctcga g 3516

```

10

20

- <210> 2
- <211> 553
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens

```

<400> 2
Met Arg Ala Pro Gly Arg Pro Ala Leu Arg Pro Leu Pro Leu Pro Pro
1          5          10          15
Leu Leu Leu Leu Leu Leu Ala Ala Pro Trp Gly Arg Ala Val Pro Cys
20          25          30
Val Ser Gly Gly Leu Pro Lys Pro Ala Asn Ile Thr Phe Leu Ser Ile
35          40          45

```

30

Asn Met Lys Asn Val Leu Gln Trp Thr Pro Pro Glu Gly Leu Gln Gly
 50 55 60
 Val Lys Val Thr Tyr Thr Val Gln Tyr Phe Ile Tyr Gly Gln Lys Lys
 65 70 75 80
 Trp Leu Asn Lys Ser Glu Cys Arg Asn Ile Asn Arg Thr Tyr Cys Asp
 85 90 95
 Leu Ser Ala Glu Thr Ser Asp Tyr Glu His Gln Tyr Tyr Ala Lys Val
 100 105 110
 Lys Ala Ile Trp Gly Thr Lys Cys Ser Lys Trp Ala Glu Ser Gly Arg
 115 120 125
 Phe Tyr Pro Phe Leu Glu Thr Gln Ile Gly Pro Pro Glu Val Ala Leu
 130 135 140
 Thr Thr Asp Glu Lys Ser Ile Ser Val Val Leu Thr Ala Pro Glu Lys
 145 150 155 160
 Trp Lys Arg Asn Pro Glu Asp Leu Pro Val Ser Met Gln Gln Ile Tyr
 165 170 175
 Ser Asn Leu Lys Tyr Asn Val Ser Val Leu Asn Thr Lys Ser Asn Arg
 180 185 190
 Thr Trp Ser Gln Cys Val Thr Asn His Thr Leu Val Leu Thr Trp Leu
 195 200 205
 Glu Pro Asn Thr Leu Tyr Cys Val His Val Glu Ser Phe Val Pro Gly
 210 215 220
 Pro Pro Arg Arg Ala Gln Pro Ser Glu Lys Gln Cys Ala Arg Thr Leu
 225 230 235 240
 Lys Asp Gln Ser Ser Glu Phe Lys Ala Lys Ile Ile Phe Trp Tyr Val
 245 250 255
 Leu Pro Ile Ser Ile Thr Val Phe Leu Phe Ser Val Met Gly Tyr Ser
 260 265 270
 Ile Tyr Arg Tyr Ile His Val Gly Lys Glu Lys His Pro Ala Asn Leu
 275 280 285
 Ile Leu Ile Tyr Gly Asn Glu Phe Asp Lys Arg Phe Phe Val Pro Ala
 290 295 300
 Glu Lys Ile Val Ile Asn Phe Ile Thr Leu Asn Ile Ser Asp Asp Ser
 305 310 315 320
 Lys Ile Ser His Gln Asp Met Ser Leu Leu Gly Lys Ser Ser Asp Val
 325 330 335
 Ser Ser Leu Asn Asp Pro Gln Pro Ser Gly Asn Leu Arg Pro Pro Gln
 340 345 350
 Glu Glu Glu Glu Val Lys His Leu Gly Tyr Ala Ser His Leu Met Glu
 355 360 365
 Ile Phe Cys Asp Ser Glu Glu Asn Thr Glu Gly Thr Ser Phe Thr Gln
 370 375 380

10

20

30

Gln Glu Ser Leu Ser Arg Thr Ile Pro Pro Asp Lys Thr Val Ile Glu
 385 390 395 400
 Tyr Glu Tyr Asp Val Arg Thr Thr Asp Ile Cys Ala Gly Pro Glu Glu
 405 410 415
 Gln Glu Leu Ser Leu Gln Glu Glu Val Ser Thr Gln Gly Thr Leu Leu
 420 425 430
 Glu Ser Gln Ala Ala Leu Ala Val Leu Gly Pro Gln Thr Leu Gln Tyr
 435 440 445
 Ser Tyr Thr Pro Gln Leu Gln Asp Leu Asp Pro Leu Ala Gln Glu His
 450 455 460
 Thr Asp Ser Glu Glu Gly Pro Glu Glu Glu Pro Ser Thr Thr Leu Val
 465 470 475 480
 Asp Trp Asp Pro Gln Thr Gly Arg Leu Cys Ile Pro Ser Leu Ser Ser
 485 490 495
 Phe Asp Gln Asp Ser Glu Gly Cys Glu Pro Ser Glu Gly Asp Gly Leu
 500 505 510
 Gly Glu Glu Gly Leu Leu Ser Arg Leu Tyr Glu Glu Pro Ala Pro Asp
 515 520 525
 Arg Pro Pro Gly Glu Asn Glu Thr Tyr Leu Met Gln Phe Met Glu Glu
 530 535 540
 Trp Gly Leu Tyr Val Gln Met Glu Asn
 545 550

10

- <210> 3
- <211> 221
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens

20

<400> 3

Val Pro Cys Val Ser Gly Gly Leu Pro Lys Pro Ala Asn Ile Thr Phe
 1 5 10 15
 Leu Ser Ile Asn Met Lys Asn Val Leu Gln Trp Thr Pro Pro Glu Gly
 20 25 30
 Leu Gln Gly Val Lys Val Thr Tyr Thr Val Gln Tyr Phe Ile Tyr Gly
 35 40 45
 Gln Lys Lys Trp Leu Asn Lys Ser Glu Cys Arg Asn Ile Asn Arg Thr
 50 55 60
 Tyr Cys Asp Leu Ser Ala Glu Thr Ser Asp Tyr Glu His Gln Tyr Tyr
 65 70 75 80
 Ala Lys Val Lys Ala Ile Trp Gly Thr Lys Cys Ser Lys Trp Ala Glu
 85 90 95
 Ser Gly Arg Phe Tyr Pro Phe Leu Glu Thr Gln Ile Gly Pro Pro Glu
 100 105 110

30

Val Ala Leu Thr Thr Asp Glu Lys Ser Ile Ser Val Val Leu Thr Ala
 115 120 125
 Pro Glu Lys Trp Lys Arg Asn Pro Glu Asp Leu Pro Val Ser Met Gln
 130 135 140
 Gln Ile Tyr Ser Asn Leu Lys Tyr Asn Val Ser Val Leu Asn Thr Lys
 145 150 155 160
 Ser Asn Arg Thr Trp Ser Gln Cys Val Thr Asn His Thr Leu Val Leu
 165 170 175
 Thr Trp Leu Glu Pro Asn Thr Leu Tyr Cys Val His Val Glu Ser Phe
 180 185 190
 Val Pro Gly Pro Pro Arg Arg Ala Gln Pro Ser Glu Lys Gln Cys Ala
 195 200 205
 Arg Thr Leu Lys Asp Gln Ser Ser Glu Phe Lys Ala Lys
 210 215 220

10

<210> 4
 <211> 971
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (18)...(950)

20

<400> 4
 gaattcgagt ctaccaa atg cag act ttc aca atg gtt cta gaa gaa atc 50
 Met Gln Thr Phe Thr Met Val Leu Glu Glu Ile
 1 5 10
 tgg aca agt ctt ttc atg tgg ttt ttc tac gca ttg att cca tgt ttg 98
 Trp Thr Ser Leu Phe Met Trp Phe Phe Tyr Ala Leu Ile Pro Cys Leu
 15 20 25
 ctc aca gat gaa gtg gcc att ctg cct gcc cct cag aac ctc tct gta 146
 Leu Thr Asp Glu Val Ala Ile Leu Pro Ala Pro Gln Asn Leu Ser Val 30
 35 40
 ctc tca acc aac atg aag cat ctc ttg atg tgg agc cca gtg atc gcg 194
 Leu Ser Thr Asn Met Lys His Leu Leu Met Trp Ser Pro Val Ile Ala 45
 50 55
 cct gga gaa aca gtg tac tat tct gtc gaa tac cag ggg gag tac gag 242

30

gcc ctg ttt gcc ttt gtt ggc ttc atg ctg atc ctt gtg gtc gtg cca 770
 Ala Leu Phe Ala Phe Val Gly Phe Met Leu Ile Leu Val Val Val Pro
 240 245 250

ctg ttc gtc tgg aaa atg ggc cgg ctg ctc cag tac tcc tgt tgc ccc 818
 Leu Phe Val Trp Lys Met Gly Arg Leu Leu Gln Tyr Ser Cys Cys Pro
 255 260 265

gtg gtg gtc ctc cca gac acc ttg aaa ata acc aat tca ccc cag aag 866
 Val Val Val Leu Pro Asp Thr Leu Lys Ile Thr Asn Ser Pro Gln Lys
 270 275 280

tta atc agc tgc aga agg gag gag gtg gat gcc tgt gcc acg gct gtg 914
 Leu Ile Ser Cys Arg Arg Glu Glu Val Asp Ala Cys Ala Thr Ala Val
 285 290 295

atg tct cct gag gaa ctc ctc agg gcc tgg atc tca taggtttgcg 960
 Met Ser Pro Glu Glu Leu Leu Arg Ala Trp Ile Ser
 300 305 310

gaaggctcga g 971

<210> 5

<211> 311

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

Met Gln Thr Phe Thr Met Val Leu Glu Glu Ile Trp Thr Ser Leu Phe
 1 5 10 15
 Met Trp Phe Phe Tyr Ala Leu Ile Pro Cys Leu Leu Thr Asp Glu Val
 20 25 30
 Ala Ile Leu Pro Ala Pro Gln Asn Leu Ser Val Leu Ser Thr Asn Met
 35 40 45
 Lys His Leu Leu Met Trp Ser Pro Val Ile Ala Pro Gly Glu Thr Val
 50 55 60
 Tyr Tyr Ser Val Glu Tyr Gln Gly Glu Tyr Glu Ser Leu Tyr Thr Ser
 65 70 75 80
 His Ile Trp Ile Pro Ser Ser Trp Cys Ser Leu Thr Glu Gly Pro Glu
 85 90 95
 Cys Asp Val Thr Asp Asp Ile Thr Ala Thr Val Pro Tyr Asn Leu Arg
 100 105 110

10

20

30

Val Arg Ala Thr Leu Gly Ser Gln Thr Ser Ala Trp Ser Ile Leu Lys
 115 120 125
 His Pro Phe Asn Arg Asn Ser Thr Ile Leu Thr Arg Pro Gly Met Glu
 130 135 140
 Ile Thr Lys Asp Gly Phe His Leu Val Ile Glu Leu Glu Asp Leu Gly
 145 150 155 160
 Pro Gln Phe Glu Phe Leu Val Ala Tyr Trp Arg Arg Glu Pro Gly Ala
 165 170 175
 Glu Glu His Val Lys Met Val Arg Ser Gly Gly Ile Pro Val His Leu
 180 185 190
 Glu Thr Met Glu Pro Gly Ala Ala Tyr Cys Val Lys Ala Gln Thr Phe
 195 200 205
 Val Lys Ala Ile Gly Arg Tyr Ser Ala Phe Ser Gln Thr Glu Cys Val
 210 215 220
 Glu Val Gln Gly Glu Ala Ile Pro Leu Val Leu Ala Leu Phe Ala Phe
 225 230 235 240
 Val Gly Phe Met Leu Ile Leu Val Val Val Pro Leu Phe Val Trp Lys
 245 250 255
 Met Gly Arg Leu Leu Gln Tyr Ser Cys Cys Pro Val Val Val Leu Pro
 260 265 270
 Asp Thr Leu Lys Ile Thr Asn Ser Pro Gln Lys Leu Ile Ser Cys Arg
 275 280 285
 Arg Glu Glu Val Asp Ala Cys Ala Thr Ala Val Met Ser Pro Glu Glu
 290 295 300
 Leu Leu Arg Ala Trp Ile Ser
 305 310

10

20

<210> 6
 <211> 203
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 6
 Asp Glu Val Ala Ile Leu Pro Ala Pro Gln Asn Leu Ser Val Leu Ser
 1 5 10 15
 Thr Asn Met Lys His Leu Leu Met Trp Ser Pro Val Ile Ala Pro Gly
 20 25 30
 Glu Thr Val Tyr Tyr Ser Val Glu Tyr Gln Gly Glu Tyr Glu Ser Leu
 35 40 45
 Tyr Thr Ser His Ile Trp Ile Pro Ser Ser Trp Cys Ser Leu Thr Glu
 50 55 60
 Gly Pro Glu Cys Asp Val Thr Asp Asp Ile Thr Ala Thr Val Pro Tyr
 65 70 75 80

30

Asn Leu Arg Val Arg Ala Thr Leu Gly Ser Gln Thr Ser Ala Trp Ser
85 90 95
Ile Leu Lys His Pro Phe Asn Arg Asn Ser Thr Ile Leu Thr Arg Pro
100 105 110
Gly Met Glu Ile Thr Lys Asp Gly Phe His Leu Val Ile Glu Leu Glu
115 120 125
Asp Leu Gly Pro Gln Phe Glu Phe Leu Val Ala Tyr Trp Arg Arg Glu
130 135 140
Pro Gly Ala Glu Glu His Val Lys Met Val Arg Ser Gly Gly Ile Pro
145 150 155 160
Val His Leu Glu Thr Met Glu Pro Gly Ala Ala Tyr Cys Val Lys Ala
165 170 175
Gln Thr Phe Val Lys Ala Ile Gly Arg Tyr Ser Ala Phe Ser Gln Thr
180 185 190
Glu Cys Val Glu Val Gln Gly Glu Ala Ile Pro
195 200

10

<210> 7
<211> 33
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 7
gccaattcga gtctaccaa tgcagacttt cac

33

20

<210> 8
<211> 32
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 8
cgctcgagcc ttccgcaaac ctatgagatc ca

32

<210> 9
<211> 29
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 9
ggccggccat gcagactttc acaatggtt

29

30

<210> 10
<211> 52

<212> DNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 10		
tccgctaccg cgcctccac tgccaccacc tccggcctct ccttgacct cc	52	
<210> 11		
<211> 53		
<212> DNA		
<213> Homo sapiens		10
<400> 11		
gtggaggcgg cggtagcggg ggcggtggca gtcgaactgt ggctgcacca tct	53	
<210> 12		
<211> 38		
<212> DNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 12		
ggcgcgcctc tagattaaca ctctcccctg ttgaagct	38	
<210> 13		20
<211> 30		
<212> DNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 13		
gtcgaccatg gatgcaatga agagagggt	30	
<210> 14		
<211> 30		
<212> DNA		
<213> Homo sapiens		30
<400> 14		
cacaggaac tctacggaag cgtctcaact	30	
<210> 15		
<211> 33		
<212> DNA		
<213> Homo sapiens		

<400> 15 cttccgtaga gttccctgtg tctctggtgg ttt	33	
<210> 16 <211> 53 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 16 gccagagcca cctccgcctg aaccgcctcc accttgatct ttcaaagtcc tgg	53	
<210> 17 <211> 51 <212> DNA <213> Homo sapiens		10
<400> 17 caggcggagg tggctctggc ggtggcggat cggcctccac caagggccca t	51	
<210> 18 <211> 20 <212> DNA <213> Homo sapiens		20
<400> 18 ctgggcacgg tgggcatgtg	20	
<210> 19 <211> 20 <212> DNA <213> Homo sapiens		
<400> 19 cacatgccca cctgcccag	20	
<210> 20 <211> 31 <212> DNA <213> Homo sapiens		30
<400> 20 agatctagat tatttaccg gagacagga g	31	

<210> 21
 <211> 1081
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <221> CDS
 <222> (9)...(1067)

 <400> 21
 ggccggcc atg cag act ttc aca atg gtt cta gaa gaa atc tgg aca agt 50 10
 Met Gln Thr Phe Thr Met Val Leu Glu Glu Ile Trp Thr Ser
 1 5 10

 ctt ttc atg tgg ttt ttc tac gca ttg att cca tgt ttg ctc aca gat 98
 Leu Phe Met Trp Phe Phe Tyr Ala Leu Ile Pro Cys Leu Leu Thr Asp
 15 20 25 30

 gaa gtg gcc att ctg cct gcc cct cag aac ctc tct gta ctc tca acc 146
 Glu Val Ala Ile Leu Pro Ala Pro Gln Asn Leu Ser Val Leu Ser Thr
 35 40 45

 aac atg aag cat ctc ttg atg tgg agc cca gtg atc gcg cct gga gaa 194 20
 Asn Met Lys His Leu Leu Met Trp Ser Pro Val Ile Ala Pro Gly Glu
 50 55 60

 aca gtg tac tat tct gtc gaa tac cag ggg gag tac gag agc ctg tac 242
 Thr Val Tyr Tyr Ser Val Glu Tyr Gln Gly Glu Tyr Glu Ser Leu Tyr
 65 70 75

 acg agc cac atc tgg atc ccc agc agc tgg tgc tca ctc act gaa ggt 290
 Thr Ser His Ile Trp Ile Pro Ser Ser Trp Cys Ser Leu Thr Glu Gly
 80 85 90

 cct gag tgt gat gtc act gat gac atc acg gcc act gtg cca tac aac 338 30
 Pro Glu Cys Asp Val Thr Asp Asp Ile Thr Ala Thr Val Pro Tyr Asn
 95 100 105 110

 ctt cgt gtc agg gcc aca ttg ggc tca cag acc tca gcc tgg agc atc 386
 Leu Arg Val Arg Ala Thr Leu Gly Ser Gln Thr Ser Ala Trp Ser Ile
 115 120 125

 ctg aag cat ccc ttt aat aga aac tca acc atc ctt acc cga cct ggg 434

Leu Lys His Pro Phe Asn Arg Asn Ser Thr Ile Leu Thr Arg Pro Gly		
130	135	140
atg gag atc ccc aaa cat ggc ttc cac ctg gtt att gag ctg gag gac	482	
Met Glu Ile Pro Lys His Gly Phe His Leu Val Ile Glu Leu Glu Asp		
145	150	155
ctg ggg ccc cag ttt gag ttc ctt gtg gcc tac tgg acg agg gag cct	530	
Leu Gly Pro Gln Phe Glu Phe Leu Val Ala Tyr Trp Thr Arg Glu Pro		
160	165	170
ggt gcc gag gaa cat gtc aaa atg gtg agg agt ggg ggt att cca gtg	578	10
Gly Ala Glu Glu His Val Lys Met Val Arg Ser Gly Gly Ile Pro Val		
175	180	185
cac cta gaa acc atg gag cca ggg gct gca tac tgt gtg aag gcc cag	626	
His Leu Glu Thr Met Glu Pro Gly Ala Ala Tyr Cys Val Lys Ala Gln		
195	200	205
aca ttc gtg aag gcc att ggg agg tac agc gcc ttc agc cag aca gaa	674	
Thr Phe Val Lys Ala Ile Gly Arg Tyr Ser Ala Phe Ser Gln Thr Glu		
210	215	220
tgt gtg gag gtg caa gga gag gcc gga ggt ggt ggc agt gga gcc gcc	722	20
Cys Val Glu Val Gln Gly Glu Ala Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly		
225	230	235
ggt agc gga gcc ggt gcc agt cga act gtg gct gca cca tct gtc ttc	770	
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe		
240	245	250
atc ttc ccg cca tct gat gag cag ttg aaa tct gga act gcc tct gtt	818	
Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val		
255	260	265
gtg tgc ctg ctg aat aac ttc tat ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg	866	
Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp		
275	280	285
aag gtg gat aac gcc ctc caa tcg ggt aac tcc cag gag agt gtc aca	914	
Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr		
290	295	300

gag cag gac agc aag gac agc acc tac agc ctc agc agc acc ctg acg 962
 Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr
 305 310 315

ctg agc aaa gca gac tac gag aaa cac aaa gtc tac gcc tgc gaa gtc 1010
 Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val
 320 325 330

acc cat cag ggc ctg agc tgc ccc gtc aca aag agc ttc aac agg gga 1058
 Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly
 335 340 345 350

gag tgt taa tctagaggcg cgcc 1081
 Glu Cys *

10

: <210> 22
 <211> 352
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 22
 Met Gln Thr Phe Thr Met Val Leu Glu Glu Ile Trp Thr Ser Leu Phe
 1 5 10 15 20
 Met Trp Phe Phe Tyr Ala Leu Ile Pro Cys Leu Leu Thr Asp Glu Val
 20 25 30
 Ala Ile Leu Pro Ala Pro Gln Asn Leu Ser Val Leu Ser Thr Asn Met
 35 40 45
 Lys His Leu Leu Met Trp Ser Pro Val Ile Ala Pro Gly Glu Thr Val
 50 55 60
 Tyr Tyr Ser Val Glu Tyr Gln Gly Glu Tyr Glu Ser Leu Tyr Thr Ser
 65 70 75 80
 His Ile Trp Ile Pro Ser Ser Trp Cys Ser Leu Thr Glu Gly Pro Glu
 85 90 95
 Cys Asp Val Thr Asp Asp Ile Thr Ala Thr Val Pro Tyr Asn Leu Arg
 100 105 110
 Val Arg Ala Thr Leu Gly Ser Gln Thr Ser Ala Trp Ser Ile Leu Lys
 115 120 125
 His Pro Phe Asn Arg Asn Ser Thr Ile Leu Thr Arg Pro Gly Met Glu
 130 135 140
 Ile Pro Lys His Gly Phe His Leu Val Ile Glu Leu Glu Asp Leu Gly
 145 150 155 160

20

30

Pro Gln Phe Glu Phe Leu Val Ala Tyr Trp Thr Arg Glu Pro Gly Ala
 165 170 175
 Glu Glu His Val Lys Met Val Arg Ser Gly Gly Ile Pro Val His Leu
 180 185 190
 Glu Thr Met Glu Pro Gly Ala Ala Tyr Cys Val Lys Ala Gln Thr Phe
 195 200 205
 Val Lys Ala Ile Gly Arg Tyr Ser Ala Phe Ser Gln Thr Glu Cys Val
 210 215 220
 Glu Val Gln Gly Glu Ala Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
 225 230 235 240
 Gly Gly Gly Gly Ser Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe
 245 250 255
 Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys
 260 265 270
 Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val
 275 280 285
 Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln
 290 295 300
 Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser
 305 310 315 320
 Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His
 325 330 335
 Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 340 345 350

10

20

<210> 23
 <211> 1801
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (8)...(1789)

<400> 23

30

gtcgacc atg gat gca atg aag aga ggg ctc tgc tgt gtg ctg ctg ctg 49
 Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu
 1 5 10

tgt ggc gcc gtc ttc gtt tcg ctc agc cag gaa atc cat gcc gag ttg 97
 Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Leu Ser Gln Glu Ile His Ala Glu Leu
 15 20 25 30

aga cgc ttc cgt aga gtt ccc tgt gtc tct ggt ggt ttg cct aaa cct 145
 Arg Arg Phe Arg Arg Val Pro Cys Val Ser Gly Gly Leu Pro Lys Pro
 35 40 45

gca aac atc acc ttc tta tcc atc aac atg aag aat gtc cta caa tgg 193
 Ala Asn Ile Thr Phe Leu Ser Ile Asn Met Lys Asn Val Leu Gln Trp
 50 55 60

act cca cca gag ggt ctt caa gga gtt aaa gtt act tac act gtg cag 241
 Thr Pro Pro Glu Gly Leu Gln Gly Val Lys Val Thr Tyr Thr Val Gln
 65 70 75

tat ttc ata tat ggg caa aag aaa tgg ctg aat aaa tca gaa tgc aga 289
 Tyr Phe Ile Tyr Gly Gln Lys Lys Trp Leu Asn Lys Ser Glu Cys Arg
 80 85 90

aat atc aat aga acc tac tgt gat ctt tct gct gaa act tct gac tac 337
 Asn Ile Asn Arg Thr Tyr Cys Asp Leu Ser Ala Glu Thr Ser Asp Tyr
 95 100 105 110

gaa cac cag tat tat gcc aaa gtt aag gcc att tgg gga aca aag tgt 385
 Glu His Gln Tyr Tyr Ala Lys Val Lys Ala Ile Trp Gly Thr Lys Cys
 115 120 125

tcc aaa tgg gct gaa agt gga cgg ttc tat cct ttt tta gaa aca caa 433
 Ser Lys Trp Ala Glu Ser Gly Arg Phe Tyr Pro Phe Leu Glu Thr Gln
 130 135 140

att ggc cca cca gag gtg gca ctg act aca gat gag aag tcc att tct 481
 Ile Gly Pro Pro Glu Val Ala Leu Thr Thr Asp Glu Lys Ser Ile Ser
 145 150 155

gtt gtc ctg aca gct cca gag aag tgg aag aga aat cca gaa gac ctt 529
 Val Val Leu Thr Ala Pro Glu Lys Trp Lys Arg Asn Pro Glu Asp Leu
 160 165 170

cct gtt tcc atg caa caa ata tac tcc aat ctg aag tat aac gtg tct 577
 Pro Val Ser Met Gln Gln Ile Tyr Ser Asn Leu Lys Tyr Asn Val Ser
 175 180 185 190

gtg ttg aat act aaa tca aac aga acg tgg tcc cag tgt gtg acc aac 625
 Val Leu Asn Thr Lys Ser Asn Arg Thr Trp Ser Gln Cys Val Thr Asn
 195 200 205

10

20

30

cac acg ctg gtg ctc acc tgg ctg gag ccg aac act ctt tac tgc gta His Thr Leu Val Leu Thr Trp Leu Glu Pro Asn Thr Leu Tyr Cys Val 210 215 220	673	
cac gtg gag tcc ttc gtc cca ggg ccc cct cgc cgt gct cag cct tct His Val Glu Ser Phe Val Pro Gly Pro Pro Arg Arg Ala Gln Pro Ser 225 230 235	721	
gag aag cag tgt gcc agg act ttg aaa gat caa ggt gga ggc ggt tca Glu Lys Gln Cys Ala Arg Thr Leu Lys Asp Gln Gly Gly Gly Ser 240 245 250	769	10
ggc gga ggt ggc tct ggc ggt ggc gga tcg gcc tcc acc aag ggc cca Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro 255 260 265 270	817	
tcg gtc ttc ccc ctg gca ccc tcc tcc aag agc acc tct ggg ggc aca Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr 275 280 285	865	
gcg gcc ctg ggc tgc ctg gtc aag gac tac ttc ccc gaa ccg gtg acg Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr 290 295 300	913	20
gtg tcg tgg aac tca ggc gcc ctg acc agc ggc gtg cac acc ttc ccg Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro 305 310 315	961	
gct gtc cta cag tcc tca gga ctc tac tcc ctc agc agc gtg gtg acc Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr 320 325 330	1009	
gtg ccc tcc agc agc ttg ggc acc cag acc tac atc tgc aac gtg aat Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn 335 340 345 350	1057	30
cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag aaa gtt gag ccc aaa tct His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser 355 360 365	1105	
tgt gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc cca gca cct gaa gcc gag	1153	

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu		
370	375	380
ggg gca ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc	1201	
Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu		
385	390	395
atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc	1249	
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser		
400	405	410
cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag	1297	10
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu		
415	420	425
gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag gag cag tac aac agc acg	1345	
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr		
435	440	445
tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat	1393	
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn		
450	455	460
ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca tcc tcc	1441	20
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser		
465	470	475
atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag	1489	
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln		
480	485	490
gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gat gag ctg acc aag aac cag gtc	1537	
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val		
495	500	505
agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg	1585	
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val		
515	520	525
gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct	1633	
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro		
530	535	540

ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc 1681
 Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 545 550 555

gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg 1729
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 560 565 570

atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg 1777
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 575 580 585 590

tct ccg ggt aaa taatctagat ct 1801
 Ser Pro Gly Lys

<210> 24

<211> 594

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 24

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
 1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Leu Ser Gln Glu Ile His Ala Glu Leu Arg Arg
 20 25 30

Phe Arg Arg Val Pro Cys Val Ser Gly Gly Leu Pro Lys Pro Ala Asn
 35 40 45

Ile Thr Phe Leu Ser Ile Asn Met Lys Asn Val Leu Gln Trp Thr Pro
 50 55 60

Pro Glu Gly Leu Gln Gly Val Lys Val Thr Tyr Thr Val Gln Tyr Phe
 65 70 75 80

Ile Tyr Gly Gln Lys Lys Trp Leu Asn Lys Ser Glu Cys Arg Asn Ile
 85 90 95

Asn Arg Thr Tyr Cys Asp Leu Ser Ala Glu Thr Ser Asp Tyr Glu His
 100 105 110

Gln Tyr Tyr Ala Lys Val Lys Ala Ile Trp Gly Thr Lys Cys Ser Lys
 115 120 125

Trp Ala Glu Ser Gly Arg Phe Tyr Pro Phe Leu Glu Thr Gln Ile Gly
 130 135 140

Pro Pro Glu Val Ala Leu Thr Thr Asp Glu Lys Ser Ile Ser Val Val
 145 150 155 160

Leu Thr Ala Pro Glu Lys Trp Lys Arg Asn Pro Glu Asp Leu Pro Val
 165 170 175

10

20

30

Ser Met Gln Gln Ile Tyr Ser Asn Leu Lys Tyr Asn Val Ser Val Leu
 180 185 190
 Asn Thr Lys Ser Asn Arg Thr Trp Ser Gln Cys Val Thr Asn His Thr
 195 200 205
 Leu Val Leu Thr Trp Leu Glu Pro Asn Thr Leu Tyr Cys Val His Val
 210 215 220
 Glu Ser Phe Val Pro Gly Pro Pro Arg Arg Ala Gln Pro Ser Glu Lys
 225 230 235 240
 Gln Cys Ala Arg Thr Leu Lys Asp Gln Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 245 250 255
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 260 265 270
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 275 280 285
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 290 295 300
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 305 310 315 320
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 325 330 335
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 340 345 350
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 355 360 365
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala
 370 375 380
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 385 390 395 400
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 405 410 415
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 420 425 430
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 435 440 445
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 450 455 460
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu
 465 470 475 480
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 485 490 495
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 500 505 510

10

20

30

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 515 520 525
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 530 535 540
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 545 550 555 560
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 565 570 575
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 580 585 590
 Gly Lys

10

- <210> 25
- <211> 36
- <212> DNA
- <213> Homo sapiens

<400> 25
 acttgtggaa ttcgctagca ccaagggccc atcggg 36

- <210> 26
- <211> 32
- <212> DNA
- <213> Homo sapiens

20

<400> 26
 gcctagaacg cgttcattta cccggagaca gg 32

- <210> 27
- <211> 8
- <212> DNA
- <213> Homo sapiens

<400> 27
 aattgaga 8

30

- <210> 28
- <211> 8
- <212> DNA
- <213> Homo sapiens

<400> 28
 cgcgtctc 8

<210> 29
 <211> 1720
 <212> DNA
 <213> homo sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)...(1713)

<400> 29
 atg cgg gct ccc ggc cgc ccg gcc ctg cgg ccg ctg ctg ctg ttg ctc 48
 Met Arg Ala Pro Gly Arg Pro Ala Leu Arg Pro Leu Leu Leu Leu Leu 10
 1 5 10 15

ctg gcg gcg cct tgg gga cgg gca gtt ccc tgt gtc tct ggt ggt ttg 96
 Leu Ala Ala Pro Trp Gly Arg Ala Val Pro Cys Val Ser Gly Gly Leu
 20 25 30

cct aaa cct gca aac atc acc ttc tta tcc atc aac atg aag aat gtc 144
 Pro Lys Pro Ala Asn Ile Thr Phe Leu Ser Ile Asn Met Lys Asn Val
 35 40 45

cta caa tgg act cca cca gag ggt ctt caa gga gtt aaa gtt act tac 192 20
 Leu Gln Trp Thr Pro Pro Glu Gly Leu Gln Gly Val Lys Val Thr Tyr
 50 55 60

act gtg cag tat ttc ata tat ggg caa aag aaa tgg ctg aat aaa tca 240
 Thr Val Gln Tyr Phe Ile Tyr Gly Gln Lys Lys Trp Leu Asn Lys Ser
 65 70 75 80

gaa tgc aga aat atc aat aga acc tac tgt gat ctt tct gct gaa act 288
 Glu Cys Arg Asn Ile Asn Arg Thr Tyr Cys Asp Leu Ser Ala Glu Thr
 85 90 95 30

tct gac tac gaa cac cag tat tat gcc aaa gtt aag gcc att tgg gga 336
 Ser Asp Tyr Glu His Gln Tyr Tyr Ala Lys Val Lys Ala Ile Trp Gly
 100 105 110

aca aag tgt tcc aaa tgg gct gaa agt gga cgg ttc tat cct ttt tta 384
 Thr Lys Cys Ser Lys Trp Ala Glu Ser Gly Arg Phe Tyr Pro Phe Leu
 115 120 125

gaa aca caa att ggc cca cca gag gtg gca ctg act aca gat gag aag Glu Thr Gln Ile Gly Pro Pro Glu Val Ala Leu Thr Thr Asp Glu Lys 130 135 140	432	
tcc att tct gtt gtc ctg aca gct cca gag aag tgg aag aga aat cca Ser Ile Ser Val Val Leu Thr Ala Pro Glu Lys Trp Lys Arg Asn Pro 145 150 155 160	480	
gaa gac ctt cct gtt tcc atg caa caa ata tac tcc aat ctg aag tat Glu Asp Leu Pro Val Ser Met Gln Gln Ile Tyr Ser Asn Leu Lys Tyr 165 170 175	528	10
aac gtg tct gtg ttg aat act aaa tca aac aga acg tgg tcc cag tgt Asn Val Ser Val Leu Asn Thr Lys Ser Asn Arg Thr Trp Ser Gln Cys 180 185 190	576	
gtg acc aac cac acg ctg gtg ctc acc tgg ctg gag ccg aac act ctt Val Thr Asn His Thr Leu Val Leu Thr Trp Leu Glu Pro Asn Thr Leu 195 200 205	624	
tac tgc gta cac gtg gag tcc ttc gtc cca ggg ccc cct cgc cgt gct Tyr Cys Val His Val Glu Ser Phe Val Pro Gly Pro Pro Arg Arg Ala 210 215 220	672	20
cag cct tct gag aag cag tgt gcc agg act ttg aaa gat caa tca tca Gln Pro Ser Glu Lys Gln Cys Ala Arg Thr Leu Lys Asp Gln Ser Ser 225 230 235 240	720	
gag gct agc acc aag ggc cca tcg gtc ttc ccc ctg gca ccc tcc tcc Glu Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser 245 250 255	768	
aag agc acc tct ggg ggc aca gcg gcc ctg ggc tgc ctg gtc aag gac Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp 260 265 270	816	30
tac ttc ccc gaa ccg gtg acg gtg tcg tgg aac tca ggc gcc ctg acc Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr 275 280 285	864	
agc ggc gtg cac acc ttc ccg gct gtc cta cag tcc tca gga ctc tac	912	

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

10

20

30

ggg cag ccc cga gaa cca cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gat 1440
 Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp
 465 470 475 480

gag ctg acc aag aac cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc 1488
 Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
 485 490 495

tat ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag 1536
 Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
 500 505 510

10

aac aac tac aag acc acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc 1584
 Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
 515 520 525

ttc ctc tac agc aag ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg 1632
 Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
 530 535 540

aac gtc ttc tca tgc tcc gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac 1680
 Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
 545 550 555 560

20

acg cag aag agc ctc tcc ctg tct ccg ggt aaa tgacgcg 1720
 Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 565 570

<210> 30

<211> 571

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 30

Met Arg Ala Pro Gly Arg Pro Ala Leu Arg Pro Leu Leu Leu Leu Leu
 1 5 10 15
 Leu Ala Ala Pro Trp Gly Arg Ala Val Pro Cys Val Ser Gly Gly Leu
 20 25 30
 Pro Lys Pro Ala Asn Ile Thr Phe Leu Ser Ile Asn Met Lys Asn Val
 35 40 45
 Leu Gln Trp Thr Pro Pro Glu Gly Leu Gln Gly Val Lys Val Thr Tyr
 50 55 60

30

Thr Val Gln Tyr Phe Ile Tyr Gly Gln Lys Lys Trp Leu Asn Lys Ser
 65 70 75 80
 Glu Cys Arg Asn Ile Asn Arg Thr Tyr Cys Asp Leu Ser Ala Glu Thr
 85 90 95
 Ser Asp Tyr Glu His Gln Tyr Tyr Ala Lys Val Lys Ala Ile Trp Gly
 100 105 110
 Thr Lys Cys Ser Lys Trp Ala Glu Ser Gly Arg Phe Tyr Pro Phe Leu
 115 120 125
 Glu Thr Gln Ile Gly Pro Pro Glu Val Ala Leu Thr Thr Asp Glu Lys
 130 135 140
 Ser Ile Ser Val Val Leu Thr Ala Pro Glu Lys Trp Lys Arg Asn Pro
 145 150 155 160
 Glu Asp Leu Pro Val Ser Met Gln Gln Ile Tyr Ser Asn Leu Lys Tyr
 165 170 175
 Asn Val Ser Val Leu Asn Thr Lys Ser Asn Arg Thr Trp Ser Gln Cys
 180 185 190
 Val Thr Asn His Thr Leu Val Leu Thr Trp Leu Glu Pro Asn Thr Leu
 195 200 205
 Tyr Cys Val His Val Glu Ser Phe Val Pro Gly Pro Pro Arg Arg Ala
 210 215 220
 Gln Pro Ser Glu Lys Gln Cys Ala Arg Thr Leu Lys Asp Gln Ser Ser
 225 230 235 240
 Glu Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
 245 250 255
 Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
 260 265 270
 Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
 275 280 285
 Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
 290 295 300
 Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
 305 310 315 320
 Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
 325 330 335
 Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
 340 345 350
 Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
 355 360 365
 Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
 370 375 380
 Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
 385 390 395 400

10

20

30

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
405 410 415
Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
420 425 430
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
435 440 445
Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
450 455 460
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp
465 470 475 480
Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
485 490 495
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
500 505 510
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
515 520 525
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
530 535 540
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
545 550 555 560
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
565 570

10

20

<210> 31
<211> 37
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 31
gtcacttgaa ttcggtaccg cctctgttgt gtgcctg 37

<210> 32
<211> 32
<212> DNA
<213> Homo sapiens

30

<400> 32
gacctgaacg cgtctaacac tctcccctgt tg 32

<210> 33
<211> 1011
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1)...(1011)

<400> 33

atg	cag	act	ttc	aca	atg	ggt	cta	gaa	gaa	atc	tgg	aca	agt	ctt	ttc	48
Met	Gln	Thr	Phe	Thr	Met	Val	Leu	Glu	Glu	Ile	Trp	Thr	Ser	Leu	Phe	
1				5						10					15	

atg	tgg	ttt	ttc	tac	gca	ttg	att	cca	tgt	ttg	ctc	aca	gat	gaa	gtg	96
Met	Trp	Phe	Phe	Tyr	Ala	Leu	Ile	Pro	Cys	Leu	Leu	Thr	Asp	Glu	Val	
			20					25					30			10

gcc	att	ctg	cct	gcc	cct	cag	aac	ctc	tct	gta	ctc	tca	acc	aac	atg	144
Ala	Ile	Leu	Pro	Ala	Pro	Gln	Asn	Leu	Ser	Val	Leu	Ser	Thr	Asn	Met	
		35				40						45				

aag	cat	ctc	ttg	atg	tgg	agc	cca	gtg	atc	gcg	cct	gga	gaa	aca	gtg	192
Lys	His	Leu	Leu	Met	Trp	Ser	Pro	Val	Ile	Ala	Pro	Gly	Glu	Thr	Val	
	50					55					60					

tac	tat	tct	gtc	gaa	tac	cag	ggg	gag	tac	gag	agc	ctg	tac	acg	agc	240
Tyr	Tyr	Ser	Val	Glu	Tyr	Gln	Gly	Glu	Tyr	Glu	Ser	Leu	Tyr	Thr	Ser	
65				70					75						80	20

cac	atc	tgg	atc	ccc	agc	agc	tgg	tgc	tca	ctc	act	gaa	ggt	cct	gag	288
His	Ile	Trp	Ile	Pro	Ser	Ser	Trp	Cys	Ser	Leu	Thr	Glu	Gly	Pro	Glu	
				85				90						95		

tgt	gat	gtc	act	gat	gac	atc	acg	gcc	act	gtg	cca	tac	aac	ctt	cgt	336
Cys	Asp	Val	Thr	Asp	Asp	Ile	Thr	Ala	Thr	Val	Pro	Tyr	Asn	Leu	Arg	
			100					105						110		

gtc	agg	gcc	aca	ttg	ggc	tca	cag	acc	tca	gcc	tgg	agc	atc	ctg	aag	384
Val	Arg	Ala	Thr	Leu	Gly	Ser	Gln	Thr	Ser	Ala	Trp	Ser	Ile	Leu	Lys	
		115				120						125				30

cat	ccc	ttt	aat	aga	aac	tca	acc	atc	ctt	acc	cga	cct	ggg	atg	gag	432
His	Pro	Phe	Asn	Arg	Asn	Ser	Thr	Ile	Leu	Thr	Arg	Pro	Gly	Met	Glu	
		130				135					140					

atc	acc	aaa	gat	ggc	ttc	cac	ctg	ggt	att	gag	ctg	gag	gac	ctg	ggg	480
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

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

10

20

30

cag ggc ctg agc tcg ccc gtc aca aag agc ttc aac agg gga gag tgt 1008
 Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 325 330 335

tag 1011

<210> 34
 <211> 336
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 34 10

Met Gln Thr Phe Thr Met Val Leu Glu Glu Ile Trp Thr Ser Leu Phe
 1 5 10 15
 Met Trp Phe Phe Tyr Ala Leu Ile Pro Cys Leu Leu Thr Asp Glu Val
 20 25 30
 Ala Ile Leu Pro Ala Pro Gln Asn Leu Ser Val Leu Ser Thr Asn Met
 35 40 45
 Lys His Leu Leu Met Trp Ser Pro Val Ile Ala Pro Gly Glu Thr Val
 50 55 60
 Tyr Tyr Ser Val Glu Tyr Gln Gly Glu Tyr Glu Ser Leu Tyr Thr Ser
 65 70 75 80

His Ile Trp Ile Pro Ser Ser Trp Cys Ser Leu Thr Glu Gly Pro Glu 20
 85 90 95
 Cys Asp Val Thr Asp Asp Ile Thr Ala Thr Val Pro Tyr Asn Leu Arg
 100 105 110
 Val Arg Ala Thr Leu Gly Ser Gln Thr Ser Ala Trp Ser Ile Leu Lys
 115 120 125
 His Pro Phe Asn Arg Asn Ser Thr Ile Leu Thr Arg Pro Gly Met Glu
 130 135 140
 Ile Thr Lys Asp Gly Phe His Leu Val Ile Glu Leu Glu Asp Leu Gly
 145 150 155 160
 Pro Gln Phe Glu Phe Leu Val Ala Tyr Trp Arg Arg Glu Pro Gly Ala
 165 170 175

Glu Glu His Val Lys Met Val Arg Ser Gly Gly Ile Pro Val His Leu 30
 180 185 190
 Glu Thr Met Glu Pro Gly Ala Ala Tyr Cys Val Lys Ala Gln Thr Phe
 195 200 205
 Val Lys Ala Ile Gly Arg Tyr Ser Ala Phe Ser Gln Thr Glu Cys Val
 210 215 220
 Glu Val Gln Gly Glu Ala Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe
 225 230 235 240

Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys
 245 250 255
 Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val
 260 265 270
 Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln
 275 280 285
 Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser
 290 295 300
 Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His
 305 310 315 320
 Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 325 330 335

10

<210> 35
 <211> 38
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 35
 tcagtcggaa ttgcgagaag ccatgcgggc tcccggcc 38

<210> 36
 <211> 35
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

20

<400> 36
 ctgtgacgct agcctctgat gattgatctt tcaaa 35

<210> 37
 <211> 43
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 37
 gatgtctgaa ttgcgagaag ccatgcagac tttcacaatg gtt 43

30

<210> 38
 <211> 86
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 38

aagacggtag cagatttcaa ctgctcatca gatggcggga agatgaagac agatgggtgca 60
 gccacagtgg cctctccttg cacctc 86

<210> 39
 <211> 559
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 39
 Val Pro Cys Val Ser Gly Gly Leu Pro Lys Pro Ala Asn Ile Thr Phe
 1 5 10 15
 Leu Ser Ile Asn Met Lys Asn Val Leu Gln Trp Thr Pro Pro Glu Gly 10
 20 25 30
 Leu Gln Gly Val Lys Val Thr Tyr Thr Val Gln Tyr Phe Ile Tyr Gly
 35 40 45
 Gln Lys Lys Trp Leu Asn Lys Ser Glu Cys Arg Asn Ile Asn Arg Thr
 50 55 60
 Tyr Cys Asp Leu Ser Ala Glu Thr Ser Asp Tyr Glu His Gln Tyr Tyr
 65 70 75 80
 Ala Lys Val Lys Ala Ile Trp Gly Thr Lys Cys Ser Lys Trp Ala Glu
 85 90 95
 Ser Gly Arg Phe Tyr Pro Phe Leu Glu Thr Gln Ile Gly Pro Pro Glu
 100 105 110 20
 Val Ala Leu Thr Thr Asp Glu Lys Ser Ile Ser Val Val Leu Thr Ala
 115 120 125
 Pro Glu Lys Trp Lys Arg Asn Pro Glu Asp Leu Pro Val Ser Met Gln
 130 135 140
 Gln Ile Tyr Ser Asn Leu Lys Tyr Asn Val Ser Val Leu Asn Thr Lys
 145 150 155 160
 Ser Asn Arg Thr Trp Ser Gln Cys Val Thr Asn His Thr Leu Val Leu
 165 170 175
 Thr Trp Leu Glu Pro Asn Thr Leu Tyr Cys Val His Val Glu Ser Phe
 180 185 190
 Val Pro Gly Pro Pro Arg Arg Ala Gln Pro Ser Glu Lys Gln Cys Ala
 195 200 205 30
 Arg Thr Leu Lys Asp Gln Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
 210 215 220
 Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
 225 230 235 240
 Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
 245 250 255
 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
 260 265 270

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
 275 280 285
 Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
 290 295 300
 Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
 305 310 315 320
 Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
 325 330 335
 Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val
 340 345 350
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 355 360 365
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 370 375 380
 Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 385 390 395 400
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 405 410 415
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 420 425 430
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
 435 440 445
 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 450 455 460
 Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 465 470 475 480
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 485 490 495
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 500 505 510
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 515 520 525
 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 530 535 540
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 545 550 555

10

20

30

<210> 40

<211> 547

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 40

Val Pro Cys Val Ser Gly Gly Leu Pro Lys Pro Ala Asn Ile Thr Phe
 1 5 10 15
 Leu Ser Ile Asn Met Lys Asn Val Leu Gln Trp Thr Pro Pro Glu Gly
 20 25 30
 Leu Gln Gly Val Lys Val Thr Tyr Thr Val Gln Tyr Phe Ile Tyr Gly
 35 40 45
 Gln Lys Lys Trp Leu Asn Lys Ser Glu Cys Arg Asn Ile Asn Arg Thr
 50 55 60
 Tyr Cys Asp Leu Ser Ala Glu Thr Ser Asp Tyr Glu His Gln Tyr Tyr
 65 70 75 80
 Ala Lys Val Lys Ala Ile Trp Gly Thr Lys Cys Ser Lys Trp Ala Glu
 85 90 95
 Ser Gly Arg Phe Tyr Pro Phe Leu Glu Thr Gln Ile Gly Pro Pro Glu
 100 105 110
 Val Ala Leu Thr Thr Asp Glu Lys Ser Ile Ser Val Val Leu Thr Ala
 115 120 125
 Pro Glu Lys Trp Lys Arg Asn Pro Glu Asp Leu Pro Val Ser Met Gln
 130 135 140
 Gln Ile Tyr Ser Asn Leu Lys Tyr Asn Val Ser Val Leu Asn Thr Lys
 145 150 155 160
 Ser Asn Arg Thr Trp Ser Gln Cys Val Thr Asn His Thr Leu Val Leu
 165 170 175
 Thr Trp Leu Glu Pro Asn Thr Leu Tyr Cys Val His Val Glu Ser Phe
 180 185 190
 Val Pro Gly Pro Pro Arg Arg Ala Gln Pro Ser Glu Lys Gln Cys Ala
 195 200 205
 Arg Thr Leu Lys Asp Gln Ser Ser Glu Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 210 215 220
 Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
 225 230 235 240
 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 245 250 255
 Ser Trp Asn Ser Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 260 265 270
 Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 275 280 285
 Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
 290 295 300
 Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 305 310 315 320
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 325 330 335

10

20

30

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 340 345 350
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 355 360 365
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 370 375 380
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 385 390 395 400
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 405 410 415
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 420 425 430
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 435 440 445
 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 450 455 460
 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 465 470 475 480
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 485 490 495
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 500 505 510
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 515 520 525
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 530 535 540
 Pro Gly Lys
 545

10

20

- <210> 41
- <211> 323
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens

30

<400> 41
 Asp Glu Val Ala Ile Leu Pro Ala Pro Gln Asn Leu Ser Val Leu Ser
 1 5 10 15
 Thr Asn Met Lys His Leu Leu Met Trp Ser Pro Val Ile Ala Pro Gly
 20 25 30
 Glu Thr Val Tyr Tyr Ser Val Glu Tyr Gln Gly Glu Tyr Glu Ser Leu
 35 40 45
 Tyr Thr Ser His Ile Trp Ile Pro Ser Ser Trp Cys Ser Leu Thr Glu
 50 55 60

Gly Pro Glu Cys Asp Val Thr Asp Asp Ile Thr Ala Thr Val Pro Tyr
65 70 75 80
Asn Leu Arg Val Arg Ala Thr Leu Gly Ser Gln Thr Ser Ala Trp Ser
85 90 95
Ile Leu Lys His Pro Phe Asn Arg Asn Ser Thr Ile Leu Thr Arg Pro
100 105 110
Gly Met Glu Ile Pro Lys His Gly Phe His Leu Val Ile Glu Leu Glu
115 120 125
Asp Leu Gly Pro Gln Phe Glu Phe Leu Val Ala Tyr Trp Thr Arg Glu
130 135 140
Pro Gly Ala Glu Glu His Val Lys Met Val Arg Ser Gly Gly Ile Pro
145 150 155 160
Val His Leu Glu Thr Met Glu Pro Gly Ala Ala Tyr Cys Val Lys Ala
165 170 175
Gln Thr Phe Val Lys Ala Ile Gly Arg Tyr Ser Ala Phe Ser Gln Thr
180 185 190
Glu Cys Val Glu Val Gln Gly Glu Ala Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
195 200 205
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val
210 215 220
Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser
225 230 235 240
Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln
245 250 255
Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val
260 265 270
Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu
275 280 285
Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu
290 295 300
Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg
305 310 315 320
Gly Glu Cys

10

20

30

- <210> 42
- <211> 307
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens

<400> 42

Asp Glu Val Ala Ile Leu Pro Ala Pro Gln Asn Leu Ser Val Leu Ser
1 5 10 15

Thr Asn Met Lys His Leu Leu Met Trp Ser Pro Val Ile Ala Pro Gly
 20 25 30
 Glu Thr Val Tyr Tyr Ser Val Glu Tyr Gln Gly Glu Tyr Glu Ser Leu
 35 40 45
 Tyr Thr Ser His Ile Trp Ile Pro Ser Ser Trp Cys Ser Leu Thr Glu
 50 55 60
 Gly Pro Glu Cys Asp Val Thr Asp Asp Ile Thr Ala Thr Val Pro Tyr
 65 70 75 80
 Asn Leu Arg Val Arg Ala Thr Leu Gly Ser Gln Thr Ser Ala Trp Ser
 85 90 95
 Ile Leu Lys His Pro Phe Asn Arg Asn Ser Thr Ile Leu Thr Arg Pro
 100 105 110
 Gly Met Glu Ile Thr Lys Asp Gly Phe His Leu Val Ile Glu Leu Glu
 115 120 125
 Asp Leu Gly Pro Gln Phe Glu Phe Leu Val Ala Tyr Trp Arg Arg Glu
 130 135 140
 Pro Gly Ala Glu Glu His Val Lys Met Val Arg Ser Gly Gly Ile Pro
 145 150 155 160
 Val His Leu Glu Thr Met Glu Pro Gly Ala Ala Tyr Cys Val Lys Ala
 165 170 175
 Gln Thr Phe Val Lys Ala Ile Gly Arg Tyr Ser Ala Phe Ser Gln Thr
 180 185 190
 Glu Cys Val Glu Val Gln Gly Glu Ala Thr Val Ala Ala Pro Ser Val
 195 200 205
 Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser
 210 215 220
 Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln
 225 230 235 240
 Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val
 245 250 255
 Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu
 260 265 270
 Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu
 275 280 285
 Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg
 290 295 300
 Gly Glu Cys
 305

10

20

30

フロントページの続き

(72)発明者 ジャスパース, スティーブン アール.
アメリカ合衆国, ワシントン 9 8 0 2 6, エドモンズ, ワンハンドレッドフィフティース プレ
イス サウスウエスト 5 8 2 9

審査官 安藤 公祐

(56)参考文献 国際公開第00/042189(WO, A1)
米国特許第05945511(US, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 38/00

A61P 29/00

C07K 14/715

CA/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII)

SwissProt/PIR/GeneSeq

PubMed