



添付公開書類：
— 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(57) 要約:

癌の診断と免疫療法に応用することができる癌・精巣抗原、すなわち精巣以外の正常組織には発現せず、かつ広範囲の種々の癌に発現し、宿主に免疫反応を惹起する癌・精巣抗原や、それをコードする癌・精巣遺伝子等を提供するものである。酵母ツーハイブリッドシステムを利用して、以前に転写制御因子として報告されたG C Fに特異的に結合するタンパク質をスクリーニングし、かかるG C Fに特異的に結合するタンパク質の遺伝子をクローニングし、この遺伝子産物であるタンパク質D 4 0がヒト正常組織では実質的に精巣のみに、癌においては種々の組織と細胞由来の広範囲のヒト原発癌に発現する癌・精巣抗原であることを確認し、かかるD 4 0がH L Aと高い親和性をもち、複数のH L Aと結合する9又は10アミノ酸残基からなる配列を有することを見い出した。

明 細 書

新規ヒト癌・精巢抗原及びその遺伝子

5 技術分野

本発明は、癌・精巢抗原タンパク質若しくはペプチド及びそれをコードする癌・精巢遺伝子、並びに癌・精巢抗原タンパク質・ペプチドを用いた免疫誘導活性促進又は抑制物質のスクリーニング方法、癌・精巢抗原タンパク質若しくはかかる抗原タンパク質の部分ペプチド等を有効成分とする抗腫瘍剤、癌・精巢遺伝子を用いる癌の診断用プローブ等に関する。

背景技術

腫瘍細胞はしばしば、あるプロトオンコジーンのように正常細胞では通常発現されないかあるいは極めて低レベルでしか発現されていない様々な遺伝子を発現する (Science 235, 305-11, 1987)。このように異常発現する遺伝子群には、組織特異的分化に関与するものも含まれ (Immunol. Today 18, 267-8, 1997)、腫瘍細胞におけるこれらの遺伝子発現は、腫瘍細胞の悪性表現型に寄与していると考えられている。精巢は数多くの精巢特異的遺伝子を発現するが (Reprod. Fertility & Develop. 7, 695-704, 1995、Int. J. Develop. Biol. 40, 379-83, 1996)、それらの殆どは全くあるいは極く稀にしか一般の腫瘍では活性化しないと報告されている (Biochem. Biophys. Res. Comm. 241, 653-657, 1997)。しかし最近の研究により、癌と正常精巢両者に発現する遺伝子群が同定され、それらの中には、宿主に免疫応答を引き起こすものがあり、癌・精巢抗原 (cancer-testis antigen: C T 抗原) と呼ばれている。また、

癌・精巣抗原遺伝子に対して相同的な塩基配列をもつが、精巣のみならず両性の生殖器官において表現されている遺伝子も知られている (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95, 10757-62, 1998、Cancer Res. 59, 1445-8, 1999、J. Biol. Chem. 273, 17618-25, 1998)。

- 5 癌・精巣抗原をコードする遺伝子を含めた上記の遺伝子は癌・精巣関連遺伝子と称され、以下に示す表1のように分類されている。癌患者に免疫反応を惹起する抗原をコードする癌・精巣関連遺伝子としては、MAGE、BAGE、GAGE、LAGE、SSX等の遺伝子が知られている (Science 254, 1643-7, 1991、Immunity 2, 167-75, 1995、J. Exp. Med. 182, 689-98, 1995、Int. J. Cancer 76, 903-8, 1998、Int. J. Cancer 72, 965-71, 1997、Cancer Res. 56, 4766-72, 1996)。これらの抗原は、癌患者における抗体の産生や、細胞傷害性Tリンパ球に対する反応性によって同定されている (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94, 1914-8, 1997、Science 254, 1643-7, 1991)。その一方で、癌・精巣関連遺伝子の中には
- 10 抗原性が明らかとなっていないものも知られている (The Cancer J. from Scientific American, 16-7, 1999、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92, 11810-3, 1995、Cancer Res. 59, 3215-21, 1999、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95, 10757-62, 1998、Cancer Res. 59, 1445-8, 1999)。前者には免疫反応を惹起するために生体内に充分量の発現があり、後者には充分量の発現がない可能性が考えられている。かかる癌・精巣関連遺伝子は、
- 15 その本来の生理学的機能が殆どわかっていないものの、腫瘍と精巣における特異的遺伝子発現のメカニズムの解析において、あるいは癌の診断と治療への応用の可能性の観点から研究されている (Cancer Res. 55, 3478-82, 1995、Int. J. Cancer 80, 219-30, 1999)。
- 20

表 1

1)	遺伝子産物が抗原性を持つことが示されている遺伝子(癌・精巢抗原)	MAGE,GAGE,BAGE, LAGE,SSX,SCP1
2)	遺伝子産物が抗原性を持つことが示されていない遺伝子	BRS-3,TSP-50
3)	癌・精巢抗原と配列上の相同性を00.持つが、精巢以外の複数の尿生殖器官に発現する遺伝子	PAGE

これまで知られている殆どの癌・精巢関連遺伝子は、ヒトX染色体に
 5 存在する。例えば、MAGEサブファミリーはX染色体の4つの領域、
 Xq28、Xq21.3、Xq26及びXq11.23 (Immunogenet.
 40, 360-9, 1994、Cancer Res. 58, 743-52, 1998、Genomics 59, 161-7,
 1999) に存在する。また、SSX遺伝子はXq11.2 (Nature Genet.
 7, 502-8, 1994) に、LAGE1とNY-ESO-1はXq28 (Cancer
 10 J From Scientific American 5: 16-17, 1999、Intl J Cancer 76, 903-908,
 1998) に、またGAGE遺伝子はXp11.2-Xp11.4 (Cancer
 Res. 59, 3157-3165, 1999) の間に存在する。しかし、最近、第1染色
 体中存在することが知られるシナプトネマル複合タンパク質(SCP1)
 は癌・精巢関連遺伝子群の一員であることが示され (EMBO J. 11,
 15 5091-5100, 1992)、また同時にこれはHOM-TESS-14遺伝子
 (Cytogen Cell Genet 78, 103-104, 1997、Proc Natl Acad Sci USA 95,
 5211-5216, 1998) と同一であることも明らかにされている。

他方、生体の癌に対する拒絶反応は、組織あるいは細胞において組織
 適合抗原分子 (HLA) と結合した癌抗原ペプチドとの複合体を認識した
 20 細胞傷害性Tリンパ球により引き起こされることが知られている。腫瘍
 細胞に発現しているHLAに癌抗原が結合することにより、細胞傷害性
 リンパ球が複合体を抗原と認識し拒絶反応を引き起こし、癌細胞を退縮
 させることが知られている。Marie Marchandらは、MAGE3遺伝子

産物（タンパク質）の中の9アミノ酸残基からなる配列が、HLAクラスI分子の1つであるHLA-A1と結合する性質を利用し、このアミノ酸配列を有するペプチドを合成して悪性黒色腫の患者に免疫したところ、25例の患者のうち7例に腫瘍の退縮が認められることを報告している（Int. J. Cancer 80, 219-30, 1999）。

また、転写制御因子GCFはEGF（上皮増殖因子）レセプター遺伝子の転写制御領域に結合する因子として知られている（Cell 59, 815-25, 1989）。しかしながら、最近、既に報告されているGCF cDNAは人工的な融合分子であることが明らかになった（Biochem. Biophys. Acta 1447, 125-31, 1999）。すなわちアミノ末端の配列は、新しく最近同定された転写因子であるGCF2に由来し（J. Biol. Chem. 273, 21594-602, 1998）、また残りの大部分のcDNAは本発明者らが仮りにGCF1と名付けた部分から成っている。塩基配列特異的なDNA結合活性はGCF2にあり、GCF1はDNA結合活性を持たないことが明らかにされている（Biochem. Biophys. Acta 1447, 125-31, 1999）。しかし、GCF1に特異的に結合するタンパク質をコードする遺伝子が、癌・精巣関連遺伝子であることは知られていなかった。

その他、サッカロミセス酵母を用いて、タンパク質-タンパク質相互作用をインビボで検出するシステムとして、酵母ツーハイブリッドシステム（Two-hybrid System）（Nature 340, 245-6, 1989, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88, 9578-82, 1991）が知られている。この酵母ツーハイブリッドシステムにおいては、酵母の転写アクチベーターであり、互いに分離しうるDNA結合ドメインと転写活性化ドメインとを有するGal4タンパク質が通常用いられ、例えば、Gal4 DNA結合ドメインとXタンパク質との融合タンパク質をコードする遺伝子を担持したプラスミドベクターと、Gal4転写活性化ドメインとYタンパク質との融合タ

ンパク質をコードする遺伝子を担持したプラスミドベクターとを、L a c Z や H I S 3 遺伝子等のレポーター遺伝子をもつ酵母に導入し、G a l 1 4 機能が回復しレポーター遺伝子の転写が活性化されるかどうかをみることにより、X と Y の相互作用を検出することができる。かかる酵母

5 ツーハイブリッドシステムにおいて、X に既知のタンパク質を用い、Y をコードする遺伝子として c D N A ライブラリーを用いると、X に相互作用するタンパク質をコードする遺伝子を前記 c D N A ライブラリーからスクリーニングすることができる。

近年の分子生物学的研究から、癌抗原は表 2 のように分類されている。

- 10 精巣にはヒト組織適合抗原分子 (H L A) クラス I 分子の発現がないために、精巣細胞膜上のタンパク質は T リンパ球により認識されない。このことから、癌・精巣抗原は精巣には発現するものの、免疫学的に癌に特異性が高く、狭義の癌特異抗原と考えられている。組織特異的分化抗原は、正常組織にもその発現がわずかながら認められることから、癌の
- 15 免疫療法を行う際に、正常細胞に対する副作用が問題となっており、また、突然変異に基づく癌抗原は、個々の癌にその変異に限られる欠点をもっていることから、癌の免疫療法を行う際に適しているとはいえない。一方、癌・精巣抗原は、精巣以外の正常組織には発現せず、かつ広範囲の種々の癌に発現することから、癌の免疫療法剤としての期待が大きい。
- 20 本発明の課題は、癌の診断と免疫療法に応用することができる癌・精巣抗原、すなわち精巣以外の正常組織には発現せず、かつ広範囲の種々の癌に発現し、宿主に免疫反応を惹起する癌・精巣抗原や、それをコードする癌・精巣遺伝子等を提供することにある。

表 2

1) 癌特異抗原	癌・精巣抗原
2) 組織特異分化抗原	tyrosinase, Melan/Mart-1, Pmel-17/gp100 TRP-1/gp75
3) 突然変異に由来する抗原	cdk4, caspase8
4) 過発現基づく抗原	HER-2/neu, SART-1
5) ムチン	
6) ウイルス抗原	HPV16 の E7

発明の開示

本発明者らは、上記の課題を解決するために鋭意研究し、哺乳類細胞の増殖をコントロールする遺伝子として、以前に転写制御因子として報告された G C F (GC element binding Factor) と相互作用するタンパク質を、酵母ツーハイブリッドシステムを利用してスクリーニングし、転写制御因子 G C F に特異的に結合するタンパク質の遺伝子をクローニングし、この遺伝子産物であるタンパク質 D 4 0 がヒト正常組織では実質的に精巣のみに、癌においては種々の組織と細胞由来の広範囲のヒト原発癌に発現する癌・精巣抗原であることを確認し、かかる D 4 0 がヒト主要組織適合抗原の H L A と高い親和性をもち、複数の H L A と結合する 9 又は 1 0 アミノ酸残基からなる配列を有することを見い出し、本発明を完成するに至った。

すなわち本発明は、以下の(a)又は(b)のタンパク質をコードする遺伝子(a)配列番号 2 に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質(b)配列番号 2 に示されるアミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ免疫誘導活性を有するタンパク質(請求項 1)や、以下の(a)又は(b)のタンパク質をコードする遺伝子(a)配列番号 3 に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質(b)配列番号 3 に示されるアミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、

かつ免疫誘導活性を有するタンパク質（請求項 2）や、配列番号 1 に示される塩基配列又はその相補的配列並びにこれらの配列の一部または全部を含む DNA（請求項 3）や、請求項 3 記載の遺伝子を構成する DNA とストリンジエントな条件下でハイブリダイズし、かつ免疫誘導活性
5 を有するタンパク質をコードする DNA（請求項 4）に関する。

また本発明は、配列番号 2 に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質（請求項 5）や、配列番号 2 に示されるアミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ免疫誘導活性を有するタンパク質（請求項 6）や、配列番号 3 に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質（請求項 7）や、配列番号 3 に示されるアミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ免疫誘導活性を有するタンパク質（請求項 8）に関する。
10

また本発明は、請求項 5～8 のいずれか記載のタンパク質の一部からなり、かつ組織適合抗原分子クラス I に結合するペプチド（請求項 9）や、請求項 5 又は 6 記載のタンパク質の一部からなり、かつ組織適合抗原分子クラス I に結合する請求項 9 記載のペプチド（請求項 10）や、配列番号 4～111 のいずれかに示されるアミノ酸配列からなる請求項 10 記載のペプチド（請求項 11）や、Ser-Tyr-Thr-Ile-Glu-Ile-Asn-
20 His-Arg-Leu に示されるアミノ酸配列からなるペプチド（請求項 12）や、請求項 7 又は 8 記載のタンパク質の一部からなり、かつ組織適合抗原分子クラス I に結合する請求項 9 記載のペプチド（請求項 13）や、配列番号 112～221 のいずれかに示されるアミノ酸配列からなる請求項 13 記載のペプチド（請求項 14）に関する。

また本発明は、請求項 5 若しくは 6 記載のタンパク質又は請求項 10～12 のいずれか記載のペプチドと、マーカータンパク質及び／又はペ
25

プチドタグとを結合させた融合タンパク質又は融合ペプチド（請求項 15）や、請求項 7 若しくは 8 記載のタンパク質又は請求項 13 若しくは 14 記載のペプチドと、マーカータンパク質及び／又はペプチドタグとを結合させた融合タンパク質又は融合ペプチド（請求項 16）や、請求項 5 若しくは 6 記載のタンパク質又は請求項 10～12 のいずれか記載のペプチドに特異的に結合する抗体（請求項 17）や、請求項 7 若しくは 8 記載のタンパク質又は請求項 13 若しくは 14 記載のペプチドに特異的に結合する抗体（請求項 18）や、抗体がモノクローナル抗体であることを特徴とする請求項 17 又は 18 記載の抗体（請求項 19）や、10 請求項 17～19 のいずれか記載の抗体が特異的に結合する組換えタンパク質又はペプチド（請求項 20）に関する。

また本発明は、請求項 5 又は 6 記載のタンパク質を発現することができる発現系を含んでなる宿主細胞（請求項 21）や、請求項 7 又は 8 記載のタンパク質を発現することができる発現系を含んでなる宿主細胞15（請求項 22）や、請求項 5 又は 6 記載のタンパク質をコードする遺伝子機能が染色体上で欠損した非ヒト動物（請求項 23）や、請求項 7 又は 8 記載のタンパク質をコードする遺伝子機能が染色体上で欠損した非ヒト動物（請求項 24）や、非ヒト動物が、マウス又はラットである請求項 23 又は 24 記載の非ヒト動物（請求項 25）や、請求項 5 又は 620 記載のタンパク質を過剰発現する非ヒト動物（請求項 26）や、請求項 7 又は 8 記載のタンパク質を過剰発現する非ヒト動物（請求項 27）や、非ヒト動物が、マウス又はラットであることを特徴とする請求項 26 又は 27 記載の非ヒト動物（請求項 28）に関する。

また本発明は、請求項 5 若しくは 6 記載のタンパク質、請求項 10～12 のいずれか記載のペプチド、又は請求項 5 若しくは 6 記載のタンパク質を発現している細胞膜と、被検物質とを用いることを特徴とする免25

- 疫誘導活性促進又は抑制物質のスクリーニング方法（請求項 29）や、請求項 7 若しくは 8 記載のタンパク質、請求項 13 若しくは 14 記載のペプチド、又は請求項 7 若しくは 8 記載のタンパク質を発現している細胞膜と、被検物質とを用いることを特徴とする免疫誘導活性促進若しくは抑制物質のスクリーニング方法（請求項 30）や、請求項 5 又は 6 記載のタンパク質を発現している細胞と、被検物質とを用いることを特徴とする免疫誘導活性促進若しくは抑制物質又は該タンパク質の発現促進若しくは抑制物質のスクリーニング方法（請求項 31）や、請求項 5 又は 6 記載のタンパク質を発現している細胞が、請求項 21 記載の宿主細胞であることを特徴とする請求項 31 記載の免疫誘導活性促進若しくは抑制物質又は該タンパク質の発現促進若しくは抑制物質のスクリーニング方法（請求項 32）や、請求項 7 又は 8 記載のタンパク質を発現している細胞と、被検物質とを用いることを特徴とする免疫誘導活性促進若しくは抑制物質又は該タンパク質の発現促進若しくは抑制物質のスクリーニング方法（請求項 33）や、請求項 7 又は 8 記載のタンパク質を発現している細胞が、請求項 22 記載の宿主細胞であることを特徴とする請求項 33 記載の免疫誘導活性促進若しくは抑制物質又は該タンパク質の発現促進若しくは抑制物質のスクリーニング方法（請求項 34）や、請求項 23～25 のいずれか記載の非ヒト動物と、被検物質とを用いることを特徴とする免疫誘導活性促進若しくは抑制物質又は請求項 5～8 のいずれか記載のタンパク質の発現促進若しくは抑制物質のスクリーニング方法（請求項 35）や、請求項 26～28 のいずれか記載の非ヒト動物と、被検物質とを用いることを特徴とする免疫誘導活性促進若しくは抑制物質又は請求項 5～8 のいずれか記載のタンパク質の発現促進若しくは抑制物質のスクリーニング方法（請求項 36）や、請求項 29～36 のいずれか記載のスクリーニング方法により得られる免疫誘導活性

促進物質（請求項 37）や、請求項 29～36 のいずれか記載のスクリーニング方法により得られる免疫誘導活性抑制物質（請求項 38）や、請求項 29～36 のいずれか記載のスクリーニング方法により得られる請求項 5 又は 6 記載のタンパク質の発現促進物質（請求項 39）や、請求項 29～36 のいずれか記載のスクリーニング方法により得られる請求項 7 又は 8 記載のタンパク質の発現抑制物質（請求項 40）や、請求項 5～8 のいずれか記載のタンパク質、請求項 9～16 のいずれか記載のペプチド、請求項 20 記載のタンパク質若しくはペプチド、又は請求項 17～19 のいずれか記載の抗体を有効成分として含有する抗腫瘍剤（請求項 41）や、癌が、子宮頸癌、上皮様癌、T細胞腫、前骨髄性白血病、食道癌、膵癌、悪性黒色腫、肺癌、口腔癌、乳癌、膀胱癌、子宮癌、卵巣癌、神経芽細胞腫、大腸癌から選ばれた 1 又は 2 以上の癌であることを特徴とする請求項 41 記載の抗腫瘍剤（請求項 42）に関する。

また本発明は、HLA分子と、請求項 9～16 のいずれか記載のペプチド又は請求項 20 記載のペプチドを用いることを特徴とする細胞傷害性T細胞又はその前駆細胞の検出方法（請求項 43）や、HLAクラスI分子と、請求項 9～16 のいずれか記載のペプチド又は請求項 20 記載のペプチドとの複合体を蛍光微粒子表面に形成させることを特徴とする細胞傷害性T細胞又はその前駆細胞の検出方法（請求項 44）や、HLA分子と、請求項 9～16 のいずれか記載のペプチド又は請求項 20 記載のペプチドとを含有することを特徴とする細胞傷害性T細胞又はその前駆細胞の検出試薬（請求項 45）や、HLAクラスI分子と、請求項 9～16 のいずれか記載のペプチド又は請求項 20 記載のペプチドとの複合体と、蛍光微粒子とを含有することを特徴とする細胞傷害性T細胞又はその前駆細胞の検出試薬（請求項 46）や、請求項 5～8 のいずれか記載のタンパク質、請求項 9～16 のいずれか記載のペプチド、又

は請求項 20 記載のタンパク質若しくはペプチドを用いることを特徴とするインビトロ刺激により誘導される細胞傷害性 T 細胞（請求項 47）や、請求項 5 又は 6 記載のタンパク質をコードする DNA 又は RNA のアンチセンス鎖の全部又は一部からなる癌の診断用プローブ（請求項 48）や、請求項 7 又は 8 記載のタンパク質をコードする DNA 又は RNA のアンチセンス鎖の全部又は一部からなる癌の診断用プローブ（請求項 49）や、請求項 48 又は 49 記載の癌の診断用プローブ及び／又は請求項 17～19 のいずれか記載の抗体を含有することを特徴とする癌の診断薬（請求項 50）や、癌が、子宮頸癌、上皮様癌、T 細胞腫、前骨髄性白血病、食道癌、膵癌、悪性黒色腫、肺癌、口腔癌、乳癌、膀胱癌、子宮癌、卵巣癌、神経芽細胞腫、大腸癌から選ばれた 1 又は 2 以上の癌であることを特徴とする請求項 50 記載の癌の診断薬（請求項 51）に関する。

15 図面の簡単な説明

第 1 図は、正常ヒト組織における本発明の D 40 の発現部位を示す図である。

第 2 図は、D 40 c DNA の塩基配列の一部及び及びそれにコードされる ORF によりコードされるアミノ酸配列を示す図である。

20 第 3 図は、D 40 c DNA の網状赤血球溶解液を用いたインビトロ転写及び翻訳反応の SDS-PAGE 上での解析結果を示している。

第 4 図は、D 40 c DNA の Cos 7 細胞を用いたインビトロ転写及び翻訳反応のウエスタンブロットの結果を示している。

25 第 5 図は、蛍光インサイチュアハイブリダイゼーションを用いた本発明の D 40 遺伝子の染色体上局在を示している。

第 6 図は、ノーザンブロット法による正常ヒト組織における D 40 m

R N A の発現結果を示している。

第 7 図は、R T - P C R 法による正常ヒト組織における D 4 0 m R N A の発現結果を示している。

第 8 図は、癌患者末梢血由来の T 細胞による細胞傷害活性の結果を示す図である。

発明を実施するための最良の形態

本発明の癌・精巣関連遺伝子は、酵母ツーハイブリッドシステムを用いることによって、転写制御因子 G C F と相互作用するタンパク質をコードする遺伝子として、c D N A ライブラリー又はゲノム D N A ライブラリーからスクリーニングすることができ、また、本発明の癌・精巣抗原タンパク質は、かかるスクリーニングにより得られた癌・精巣関連遺伝子を発現させることにより得ることができる。ここで、癌・精巣関連遺伝子とは、正常精巣において特異的に発現が認められ、他の正常組織には実質的にその発現が認められず、悪性腫瘍において活性化が認められ、その結果高いレベルの m R N A が検出され、かつ、悪性腫瘍における発現が組織非特異的である、と定義される。

図 1 には、転写制御因子 G C F を利用した酵母ツーハイブリッドシステムが図式化されている。転写制御因子 G C F は G a 1 4 の D N A 結合ドメインとの融合タンパク質 (G a 1 D B D - G C F) として発現し、c D N A ライブラリーに由来するタンパク質は G a 1 4 の転写活性化ドメインとの融合タンパク質として発現するが、G a 1 D B D - G C F と c D N A ライブラリーに由来するタンパク質との相互作用 (結合) によりレポーター遺伝子の転写が活性化され、H i s 3 遺伝子と L a c Z との発現が生起することになる。したがって、レポーター遺伝子が発現している酵母を単離することにより、G C F と相互作用するタンパク質を

コードする cDNA をクローニングすることができる。かかる酵母ツーハイブリッドシステムには、市販の MATCHMAKER(Clontech) や HybriZAP(Strayagene) を利用することができる。

上記酵母ツーハイブリッドシステムにより得られる転写制御因子 G C F と相互作用するタンパク質として、癌・精巣抗原タンパク質 D 4 0 を挙げることができ、この D 4 0 をコードする癌・精巣関連遺伝子としては、配列表の配列番号 1 に示される塩基配列を有するものを具体的に例示することができる。D 4 0 癌・精巣関連遺伝子には 2 つの O R F (open reading frame) が存在する。したがって、本発明の対象となるタンパク質として、具体的に、配列番号 2 に示される D 4 0 (O R F 1) タンパク質又は配列番号 3 に示される D 4 0 (O R F 2) タンパク質や、配列番号 2 又は 3 に示されるアミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ免疫誘導活性を有するタンパク質や、これらの組換えタンパク質を例示することができる。ここで免疫誘導活性とは、宿主に対して抗体産生、細胞性免疫、免疫寛容等の免疫反応を誘導する活性をいい、かかる免疫誘導活性の中でも、細胞傷害性 T リンパ球 (C T L) 前駆細胞の頻度を上昇させる T 細胞誘導活性を有するものが特に好ましい。

また、本発明の対象となるペプチドとしては、本発明のタンパク質の一部、例えば 5 個又は 6 個以上の連続したアミノ酸配列からなり、かつ組織適合抗原分子 (H L A) クラス I に結合するペプチドであればどのようなものでもよく、上記 D 4 0 (O R F 1) タンパク質由来の配列番号 4 ~ 1 1 1 のいずれかに示されるアミノ酸配列等からなるペプチド、例えば、Ser-Tyr-Thr-Ile-Glu-Ile-Asn-His-Arg-Leu (配列番号 3 6) や、上記 D 4 0 (O R F 2) タンパク質由来の配列番号 1 1 2 ~ 2 2 1 のいずれかに示されるアミノ酸配列等からなるペプチドを具体的に例示する

ことができる。また、上記HLAクラスIとしては、HLA-A3、HLA-A68、HLA-A1、HLA-A24、HLA-A0201、HLA-A0205、HLA-B7、HLA-B8、HLA-B14、HLA-B40、B1501(B62)等のHLAクラスIを具体的に挙
5 げることができる。上記本発明の対象となるタンパク質及びペプチド、
並びにこれらタンパク質及びペプチドに特異的に結合する抗体が特異的に結合する組換えタンパク質及びペプチドを総称して、以下「本件タン
パク質・ペプチド」ということがある。なお、本件タンパク質・ペプチ
ドはそのDNA配列情報等に基づき公知の方法で調製することができ、
10 かかる抗原の由来はヒトに限定されるものではない。

上記本発明の対象となる遺伝子又はDNAとして具体的には、配列番
号2に示されるアミノ酸配列からなるD40(ORF1)タンパク質を
コードする遺伝子や、配列番号2に示されるアミノ酸配列において、1
若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列
15 からなり、かつ免疫誘導活性を有するタンパク質をコードするDNAや、
配列番号3に示されるアミノ酸配列からなるD40(ORF2)タンパ
ク質をコードする遺伝子や、配列番号3に示されるアミノ酸配列におい
て、1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ
酸配列からなり、かつ免疫誘導活性を有するタンパク質をコードするD
20 NAや、配列番号1に示される塩基配列又はその相補的配列並びにこれ
らの配列の一部または全部を含むDNAを挙げるることができる。これら
はそのDNA配列情報等に基づき、例えばヒト遺伝子ライブラリーやヒ
トcDNAライブラリーなどから公知の方法により調製することができる。
またD40タンパク質をコードするcDNAの調製方法としては特
25 に制限されるものではないが、例えば、HL60やTリンパ白血病細胞
株 Jurkat 由来のmRNAに由来するcDNAライブラリーから得るこ

とができる。

また、配列番号 1 に示される塩基配列又はその相補的配列並びにこれらの配列の一部又は全部をプローブとして、各種癌細胞由来の DNA ライブラリーに対してストリンジেন্টな条件下でハイブリダイゼーションを行ない、該プローブにハイブリダイズする DNA を単離することにより、D 4 0 遺伝子と同効な目的とする免疫誘導活性を有するタンパク質をコードする DNA を得ることもできる。かかる DNA を取得するためのハイブリダイゼーションの条件としては、例えば、42℃でのハイブリダイゼーション、及び 1×SSC、0.1%の SDS を含む緩衝液による 42℃での洗浄処理を挙げることができ、65℃でのハイブリダイゼーション、及び 0.1×SSC、0.1%の SDS を含む緩衝液による 65℃での洗浄処理をより好ましく挙げることができる。なお、ハイブリダイゼーションのストリンジエンシーに影響を与える要素としては、上記温度条件以外に種々の要素があり、当業者であれば、種々の要素を適宜組み合わせ、上記例示したハイブリダイゼーションのストリンジエンシーと同等のストリンジエンシーを実現することが可能である。

本発明の融合タンパク質や融合ペプチドとしては、本件タンパク質・ペプチドとマーカートンパク質及び／又はペプチドタグとが結合しているものであればどのようなものでもよく、マーカートンパク質としては、従来知られているマーカートンパク質であれば特に制限されるものではなく、例えば、アルカリフォスファターゼ、抗体の Fc 領域、HRP、GFPなどを具体的に挙げることができ、また本発明におけるペプチドタグとしては、Mycタグ、Hisタグ、FLAGタグ、GSTタグなどの従来知られているペプチドタグを具体的に例示することができる。

かかる融合タンパク質は、常法により作製することができ、Ni-NTAとHisタグの親和性を利用したD 4 0タンパク質等の精製や、T細

胞誘導活性を有するタンパク質の検出や、D 4 0 タンパク質等に対する抗体の定量、子宮頸癌、上皮様癌、T細胞腫、前骨髄性白血病、食道癌、膵癌、悪性黒色腫、肺癌、口腔癌、乳癌、膀胱癌、子宮癌、卵巣癌、神経芽細胞腫、大腸癌等の診断用マーカーなどとして、また当該分野の研究用試薬としても有用である。

本発明の前記タンパク質やペプチドに特異的に結合する抗体としては、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、キメラ抗体、一本鎖抗体、ヒト化抗体等の免疫特異的な抗体を具体的に挙げることができ、これらは上記D 4 0等のタンパク質又はその一部を抗原として用いて常法により作製することができるが、その中でもモノクローナル抗体がその特異性の点でより好ましい。かかるモノクローナル抗体等の抗体は、例えば、子宮頸癌、上皮様癌、T細胞腫、前骨髄性白血病、食道癌、膵癌、悪性黒色腫、肺癌、口腔癌、乳癌、膀胱癌、子宮癌、卵巣癌、神経芽細胞腫、大腸癌等の診断、ミサイル療法等の治療ばかりでなく、口腔癌等の悪性腫瘍の発症機構を明らかにする上で有用である。

上記の本発明の抗体は、慣用のプロトコールを用いて、動物（好ましくはヒト以外）に本件タンパク質・ペプチド若しくはエピトープを含むその断片、又は該タンパク質を膜表面に発現した細胞を投与することにより産生され、例えばモノクローナル抗体の調製には、連続細胞系の培養物により産生される抗体をもたらす、ハイブリドーマ法（Nature 256, 495-497, 1975）、トリオーマ法、ヒトB細胞ハイブリドーマ法（Immunology Today 4, 72, 1983）及びEBV-ハイブリドーマ法（MONOCLONAL ANTIBODIES AND CANCER THERAPY, pp.77-96, Alan R.Liss, Inc., 1985）など任意の方法を用いることができる。

本発明の上記本件タンパク質・ペプチドに対する一本鎖抗体をつくるために、一本鎖抗体の調製法（米国特許第 4,946,778 号）を適用するこ

とができる。また、ヒト化抗体を発現させるために、トランスジェニックマウス又は他の哺乳動物等を利用したり、上記抗体を用いて、本件タンパク質・ペプチドを発現するクローンを単離・同定したり、アフィニティークロマトグラフィーでそのポリペプチドを精製することもできる。

- 5 本件タンパク質・ペプチドやその抗原エпитープを含むペプチドに対する抗体は、前記のように各種癌の診断や治療に使用できる可能性がある。そして、これら抗体が特異的に結合する組換えタンパク質又はペプチドも、前記のように本発明の本件タンパク質・ペプチドに包含される。

- 10 また前記モノクローナル抗体等の抗体に、例えば、FITC（フルオレセインイソシアネート）又はテトラメチルローダミンイソシアネート等の蛍光物質や、 ^{125}I 、 ^{32}P 、 ^{14}C 、 ^{35}S 又は ^3H 等のラジオアイソトープや、アルカリホスファターゼ、ペルオキシダーゼ、 β -ガラクトシダーゼ又はフィコエリトリン等の酵素で標識したものや、グリーン蛍光タンパク質（GFP）等の蛍光発光タンパク質などを融合させた融合
- 15 タンパク質を用いることによって、本件タンパク質・ペプチドの機能解析を行うことができる。また本件発明の抗体を用いる免疫学的測定方法としては、RIA法、ELISA法、蛍光抗体法、プラーク法、スポット法、血球凝集反応法、オクタロニー法等の方法を挙げることができる。

- 20 本発明はまた、上記本件タンパク質・ペプチドを発現することができる発現系を含んでなる宿主細胞に関する。かかる本件タンパク質・ペプチドをコードする遺伝子の宿主細胞への導入は、Davisら（BASIC METHODS IN MOLECULAR BIOLOGY, 1986）及び Sambrookら（MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL, 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.,
- 25 1989）などの多くの標準的な実験室マニュアルに記載される方法、例えば、リン酸カルシウムトランスフェクション、DEAE-デキストラン

媒介トランスフェクション、トランスベクション(transvection)、マイクロインジェクション、カチオン性脂質媒介トランスフェクション、エレクトロポレーション、形質導入、スクレープローディング (scrape loading)、弾丸導入(ballistic introduction)、感染等により行うことができる。そして、宿主細胞としては、大腸菌、ストレプトミセス、枯草菌、
5 ストレプトコッカス、スタフィロコッカス等の細菌原核細胞や、酵母、アスペルギルス等の真菌細胞や、ドロソフィラ S 2、スポドプテラ S f 9 等の昆虫細胞や、L細胞、CHO細胞、COS細胞、HeLa細胞、C127細胞、BALB/c3T3細胞（ジヒドロ葉酸レダクターゼや
10 チミジンキナーゼなどを欠損した変異株を含む）、BHK21細胞、HEK293細胞、Bows 悪性黒色腫細胞等の動物細胞や、植物細胞等を挙げるができる。

また、発現系としては、上記本件タンパク質・ペプチドを宿主細胞内で発現させることができる発現系であればどのようなものでもよく、
15 染色体、エピソーム及びウイルスに由来する発現系、例えば、細菌プラスミド由来、酵母プラスミド由来、SV40のようなパポバウイルス、ワクシニアウイルス、アデノウイルス、鶏痘ウイルス、仮性狂犬病ウイルス、レトロウイルス由来のベクター、バクテリオファージ由来、トランスポゾン由来及びこれらの組合せに由来するベクター、例えば、
20 コスミドやファージミドのようなプラスミドとバクテリオファージの遺伝的要素に由来するものを挙げるができる。この発現系は発現を起こさせるだけでなく発現を調節する制御配列を含んでいてもよい。

上記発現系を含んでなる宿主細胞やかかる細胞の細胞膜、またかかる細胞を培養して得られる本件タンパク質・ペプチドは、後述するように
25 本発明のスクリーニング方法に用いることができる。例えば、細胞膜を得る方法としては、F. Pietri-Rouxel (Eur. J. Biochem., 247, 1174-1179,

- 1997)らの方法などを用いることができる。また、かかる本件タンパク質・ペプチドを細胞培養物から回収し精製するには、硫酸アンモニウムまたはエタノール沈殿、酸抽出、アニオンまたはカチオン交換クロマトグラフィー、ホスホセルロースクロマトグラフィー、疎水性相互作用クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー、ハイドロキシアパタイトクロマトグラフィーおよびレクチンクロマトグラフィーを含めた公知の方法、好ましくは、高速液体クロマトグラフィーが用いられる。特に、アフィニティークロマトグラフィーに用いるカラムとしては、例えば、本件タンパク質・ペプチドに対する抗体を結合させたカラムや、
- 5 上記本件タンパク質・ペプチドに通常のペプチドタグを付加した場合は、このペプチドタグに親和性のある物質を結合したカラムを用いることにより、本件タンパク質・ペプチドを得ることができる。上記本件タンパク質・ペプチドの精製方法は、ペプチド合成の際にも適用することができる。
- 10 本発明において、上記本件タンパク質・ペプチドをコードする遺伝子機能が染色体上で欠損した非ヒト動物とは、染色体上の本件タンパク質・ペプチドをコードする遺伝子の一部若しくは全部が破壊・欠損・置換等の遺伝子変異により不活性化され、本件タンパク質・ペプチドを発現する機能を失なった非ヒト動物をいい、また、本件タンパク質・ペ
- 15 プチドを過剰発現する非ヒト動物としては、野生型非ヒト動物に比べてかかる本件タンパク質・ペプチドを大量に産生する非ヒト動物を具体的に提示することができる。そして、本発明における非ヒト動物としては、マウス、ラット等の齧歯目動物などの非ヒト動物を具体的に挙げるこ
- 20 ところ、メンデルの法則に従い出生してくるホモ接合体非ヒト動物には、本件タンパク質・ペプチド欠損型又は過剰発現型とその同腹の野
- 25

生型とが含まれ、これらホモ接合体非ヒト動物における欠損型又は過剰発現型とその同腹の野生型を同時に用いることによって個体レベルで正確な比較実験をすることができることから、野生型の非ヒト動物、すなわち本件タンパク質・ペプチドをコードする遺伝子機能が染色体上で欠損又は過剰発現する非ヒト動物と同種の動物、さらには同腹の動物を、例えば下記に記載する本発明のスクリーニングに際して併用することが好ましい。かかる本件タンパク質・ペプチドをコードする遺伝子機能が染色体上で欠損又は過剰発現する非ヒト動物の作製方法を、D40ノックアウトマウスやD40トランスジェニックマウスを例にとって以下説明する。

例えば、D40タンパク質をコードする遺伝子機能が染色体上で欠損したマウス、すなわちD40ノックアウトマウスは、マウス遺伝子ライブラリーからPCR等の方法により得られた遺伝子断片を用いて、ヒトD40と相同性を有するマウスD40をコードする遺伝子をスクリーニングし、スクリーニングされたマウスD40をコードする遺伝子をウイルスベクター等を用いてサブクローンし、DNAシーケンシングにより特定する。このクローンのマウスD40をコードする遺伝子の全部又は一部をpMC1ネオ遺伝子カセット等に置換し、3'末端側にジフテリアトキシンAフラグメント(DT-A)遺伝子や単純ヘルペスウイルスのチミジンキナーゼ(HSV-tk)遺伝子等の遺伝子を導入することによって、ターゲティングベクターを作製する。

この作製されたターゲティングベクターを線状化し、エレクトロポレーション(電気穿孔)法等によってES細胞に導入し、相同的組換えを行い、その相同的組換え体の中から、G418やガンシクロビア(GANC)等の抗生物質により相同的組換えを起こしたES細胞を選択する。また、この選択されたES細胞が目的とする組換え体かどうかをサザン

5
10
15
20
25

ブロット法等により確認することが好ましい。その確認されたES細胞のクローンをマウスの胚盤胞中にマイクロインジェクションし、かかる胚盤胞を仮親のマウスに戻し、キメラマウスを作製する。このキメラマウスを野生型のマウスとインタークロスさせると、ヘテロ接合体マウスを得ることができ、また、このヘテロ接合体マウスをインタークロスさせることによって、本発明のD40ノックアウトマウスを作製することができる。また、D40ノックアウトマウスにD40発現能が欠失しているかどうかを確認する方法としては、例えば、上記の方法により得られたマウスからRNAを単離してノーザンブロット法等により調べたり、またこのマウスにおけるD40の発現をウエスタンブロット法等により直接調べる方法がある。

15
20
25

D40のトランスジェニックマウスは、ヒト、マウス、ラット、ウサギ等に由来するD40をコードするcDNAに、チキン β -アクチン、マウスニューロフィラメント、SV40等のプロモーター、及びラビット β -グロビン、SV40等のポリA又はイントロンを融合させて導入遺伝子を構築し、該導入遺伝子をマウス受精卵の前核にマイクロインジェクションし、得られた卵細胞を培養した後、仮親のマウスの輸卵管に移植し、その後被移植動物を飼育し、産まれた仔マウスから前記cDNAを有する仔マウスを選択することにより、トランスジェニックマウスを創製することができる。また、cDNAを有する仔マウスの選択は、マウスの尻尾等より粗DNAを抽出し、導入したD40をコードする遺伝子をプローブとするドットハイブリダイゼーション法や、特異的プライマーを用いたPCR法等により行うことができる。

25

また、上記本件タンパク質・ペプチドをコードする遺伝子若しくはDNA、本件タンパク質・ペプチド、本件タンパク質・ペプチドとマーカータンパク質及び／又はペプチドタグとを結合させた融合タンパク質、

本件タンパク質・ペプチドに対する抗体、本件タンパク質・ペプチドを
発現することができる発現系を含んでなる宿主細胞等は、以下に具体的
に説明するように、子宮頸癌、上皮様癌、T細胞腫、前骨髄性白血病、
食道癌、膵癌、悪性黒色腫、肺癌、口腔癌、乳癌、膀胱癌、子宮癌、卵
5 巣癌、神経芽細胞腫、大腸癌等の治療や診断に有用であり、免疫誘導活
性の促進又は抑制物質のスクリーニングや本件タンパク質・ペプチドの
発現の促進又は抑制物質のスクリーニングに用いることができるばかり
でなく、細胞傷害性T細胞（CD4抗原陽性T細胞、CD8抗原陽性T
細胞、ヘルパーT細胞、キラーT細胞、サプレッサーT細胞等の全ての
10 T細胞を含む）の誘導等の免疫応答のメカニズムの解明にも使用すること
ができる。

本発明の免疫誘導活性促進又は抑制物質のスクリーニング方法として
は、前記本発明の本件タンパク質・ペプチド又は本件タンパク質・ペプ
チドを発現している細胞膜と、被検物質とを用いる方法や、前記本件タ
15 ンパク質・ペプチドを発現している細胞と、被検物質とを用いる方法や、
本件タンパク質・ペプチドのノックアウトマウスやトランスジェニック
マウス等の非ヒト動物と、被検物質とを用いる方法等を挙げることがで
きる。また、前記本件タンパク質・ペプチドを発現している細胞と、被
検物質とを用いる方法や、本件タンパク質・ペプチドのノックアウトマ
20 ウスやトランスジェニックマウス等の非ヒト動物と、被検物質とを用い
る方法等は本件タンパク質・ペプチドの発現促進若しくは抑制物質のス
クリーニング方法に用いることができる。

上記本件タンパク質・ペプチド又は本件タンパク質・ペプチドを発現
している細胞膜と被検物質とを用いるスクリーニング方法としては、本
25 件タンパク質・ペプチド又は細胞膜表面に発現している本件タンパク
質・ペプチドと、被検物質とを接触せしめ、該本件タンパク質・ペプチ

ドの免疫誘導活性を測定・評価する方法を具体的に挙げるができる。
また、本件タンパク質・ペプチドを発現している細胞と、被検物質とを用いるスクリーニング方法としては、本件タンパク質・ペプチドを発現している細胞と被検物質とを接触せしめ、該本件タンパク質・ペプチド
5 の免疫誘導活性や本件タンパク質・ペプチドの発現量の変化を測定・評価する方法を具体的に挙げるができる。

前記本件タンパク質・ペプチドをコードする遺伝子機能が染色体上で欠損した非ヒト動物又は本件タンパク質・ペプチドを過剰発現する非ヒト動物と、被検物質とを用いたスクリーニング方法としては、これら非
10 ヒト動物から得られる細胞又は組織と、被検物質とをインビトロで接触せしめ、該本件タンパク質・ペプチドの免疫誘導活性や本件タンパク質・ペプチドの発現量の変化を測定・評価する方法や、前記本件タンパク質・ペプチドをコードする遺伝子機能が染色体上で欠損した非ヒト動物又は
15 本件タンパク質・ペプチドを過剰発現する非ヒト動物にあらかじめ被検物質を投与した後、該非ヒト動物から得られる細胞又は組織における該本件タンパク質・ペプチドの免疫誘導活性や本件タンパク質・ペプチドの発現量の変化を測定・評価する方法や、前記本件タンパク質・ペプチドをコードする遺伝子機能が染色体上で欠損した非ヒト動物又は本件タンパク質・ペプチドを過剰発現する非ヒト動物にあらかじめ被検物質を
20 投与した後、該非ヒト動物における該本件タンパク質・ペプチドの免疫誘導活性や本件タンパク質・ペプチドの発現量の変化を測定・評価する方法などを具体的に挙げるができる。

上記被検物質と本件タンパク質・ペプチドとを用いたスクリーニング方法について、以下に具体的に例を挙げて説明するが、本発明のスクリー
25 ーニング方法はこれらに限定されるものではない。上記被検物質と本件タンパク質・ペプチドとを接触せしめ、該本件タンパク質・ペプチドの

免疫誘導活性を測定・評価する方法としては、例えば、末梢血リンパ球から通常のインターロイキン-2を用いてインビトロで多量に増殖させた腫瘍浸潤T細胞の存在下に被検物質と本件タンパク質・ペプチドとを接触せしめ、CTLなどのT細胞の誘導活性の増減を測定し、被検物質

5 5 が非存在下の対照の場合と比較・評価する方法を具体的に例示することができる。また、上記被検物質と本件タンパク質・ペプチドを発現している細胞膜又は細胞とを接触せしめ、該本件タンパク質・ペプチドの発現量の変化を測定・評価する方法としては、本件タンパク質・ペプチド発現細胞を被検物質の存在下で培養し、一定時間培養後細胞膜表面に発

10 10 現された本件タンパク質・ペプチドが減少又は増加したことを、本発明の本件タンパク質・ペプチドに特異的に結合する抗体を用いて、ELISA等による免疫化学的に検出して、あるいはmRNAの発現が抑制又は促進したことを指標として評価する方法を具体的に例示することができる。上記mRNAの検出法は、DNAチップ、ノーザンハイブリダイ

15 15 ゼーション等の方法で行なうことができる他、本件タンパク質・ペプチドをコードする遺伝子のプロモーターの下流にルシフェラーゼなどのレポーター遺伝子をつないだ遺伝子を導入した細胞を用いると、被検物質による本件タンパク質・ペプチドをコードする遺伝子の発現抑制又は促進は、前記レポーター遺伝子の活性を指標に検出することが可能となる。

20 20 また上記スクリーニング方法により得られる本発明の免疫誘導活性促進物質や発現促進物質は、免疫誘導活性の促進や本件タンパク質・ペプチドの発現の促進を必要としている患者の治療等に用いることができる。また、上記スクリーニング方法により得られる本発明の免疫誘導活性抑制物質や発現抑制物質は、免疫誘導活性の抑制や本件タンパク質・ペ

25 25 チドの発現の抑制を必要としている患者の治療等に用いることができる。本発明の本件タンパク質・ペプチド又はこれに対する抗体は、子宮頸癌、

上皮様癌、T細胞腫、前骨髄性白血病、食道癌、膵癌、悪性黒色腫、肺癌、口腔癌、乳癌、膀胱癌、子宮癌、卵巣癌、神経芽細胞腫、大腸癌等に対する抗腫瘍剤の有効成分として用いることができる。例えば、本件タンパク質・ペプチドを経口、静脈、皮内、皮下注射等により投与すると、インビボにおけるT細胞誘導活性が増大することによる抗腫瘍効果が期待できる。また上記抗体はミサイル療法に用いることができる。

本発明の細胞傷害性T細胞（活性化T細胞）又はその前駆細胞の検出方法としては、HLA分子と本件ペプチドを用いる方法であれば特に制限されるものではなく、HLAクラスI分子等のHLA分子と本件ペプチドの複合体を用いる方法や、HLAクラスI分子等のHLA分子と本件ペプチドの複合体を細胞表面又は蛍光微粒子等の担体表面に形成させる方法を例示することができ、例えば、文献（Science, 274, 94-96, 1996）に記載されている方法に準じて、HLAクラスI分子と本件ペプチドの複合体を蛍光微粒子表面に形成させ、これに癌患者末梢血由来のTリンパ球細胞を接触・結合させた後、蛍光微粒子表面に形成されたHLA-ペプチド複合体に結合したT細胞を検出する方法を挙げることができる。また、本発明の細胞傷害性T細胞（活性化T細胞）又はその前駆細胞の検出試薬としては、HLA分子と本件ペプチドを含む試薬であれば特に制限されるものではなく、HLAクラスI分子等のHLA分子と本件ペプチドの複合体を含む試薬や、HLAクラスI分子等のHLA分子と本件ペプチドの複合体と、蛍光微粒子等の担体を含む試薬を例示することができる。

また、本発明の本件タンパク質・ペプチドを用いたインビトロ刺激により活性化T細胞を誘導することもできる。例えば、末梢血リンパ球や腫瘍浸潤リンパ球にIL-2とともに本件タンパク質・ペプチドで刺激すると腫瘍反応性活性化T細胞が誘導され、この活性化されたT細胞は

養子免疫療法に有効に用いることができる。また本件タンパク質・ペプチドを強力な抗原提示細胞である樹状細胞にインビゴあるいはインビトロで発現させて、その抗原発現樹状細胞投与により免疫誘導を行うことができる。

- 5 さらに本発明の本件タンパク質・ペプチドをコードするDNA又はRNAのアンチセンス鎖の全部又は一部を癌の診断用プローブとすることができ、また、この癌の診断用プローブや本件タンパク質・ペプチドに特異的に結合する抗体を含有する本発明の診断薬を用いると、子宮頸癌、
- 10 上皮様癌、T細胞腫、前骨髄性白血病、食道癌、膵癌、悪性黒色腫、肺癌、口腔癌、乳癌、膀胱癌、子宮癌、卵巣癌、神経芽細胞腫、大腸癌等の癌を診断することができる。上記診断用プローブとしては、本件タンパク質・ペプチドをコードするDNA（cDNA）又はRNA（cRNA）のアンチセンス鎖の全部又は一部であり、プローブとして成立する
- 15 程度の長さ（少なくとも20ベース以上）を有するものが好ましい。かかる検出に用いられる検体としては、被験者の細胞、例えば血液、尿、唾液、組織等の生検から得ることができるゲノムDNAや、RNA又はcDNAを具体的に挙げるができるがこれらに限定されるものではなく、かかる検体を使用する場合、PCR等により増幅したものをを用いてもよい。

- 20 以下に、実施例を掲げて本発明を具体的に説明するが、この発明の技術的範囲はこれらの実施例に限定されるものではない。

実施例A [材料と方法]

A-1（培養細胞株と腫瘍サンプル）

- 25 培養細胞株としては表3に示されるものを用いた。これらの細胞株は10%牛胎仔血清と0.3%グルタミンを含むRPMI 1640又はDMEM（Dulbecco Modified Eagle Medium）で維持し、37℃、5%CO₂

O₂存在下で培養した。原発腫瘍サンプルは北海道大学歯学部口腔外科、同医学部産婦人科、第二外科、第一内科手術より入手し、即座に液体窒素に冷凍し、使用時まで-80℃に保存した。

表 3

細胞のタイプ	培養細胞株	発現の有無
正常胎児肺繊維芽細胞	HFL	-
子宮頸癌	HeLa	+
上皮様癌	A431	+
T細胞腫	Jurkat	+
前骨髄性白血病	HL60	+
食道癌	TE-8	+
膵臓癌	PC143c	+
悪性黒色腫	SkMEL	+
	AKI	+
	G361	+
肺癌	PI10	+
	NCIH226	+
	RERF-LC-MS	+
	RERF-LC-OK	+
口腔癌	HSC-2	+
乳癌	MCF-7	+
膀胱癌	DAB-1	+
	T-24	+
	UMUC-2	+

5

A-2 (D40のcDNAクローニング)

転写制御因子GCFのコーディング領域のカルボキシル末端2/3を、pGBT-9(Clontech)に組み入れ、得られたプラスミドpGAL-GCFを酵母ツーハイブリッドシステムのスクリーニング用のベイト

10 (bait)として使用した(図1参照)。まず、pGAL-GCFを酵母Y153株(Genes Dev. 7, 555-69, 1993)にトランスフォームし、これを用いて不死化ヒトB細胞株のcDNAライブラリーをスクリーニングした。ヒスチジン及びLacZ表現型陽性クローン1個について、GCF

との結合特異性を検討しその塩基配列を同定した。このクローンを用いて、より長いクローンを得るため、ヒト前骨髄性白血病細胞株HL 60由来のcDNAライブラリーをスクリーニングした。さらに5' / 3' RACEキット(Beohringer/Roche) に提示されたプロトコールに基づき、指定のプライマーを使用し、5' RACE (Rapid Amplification of cDNA ends) (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85, 8998-9002, 1988) 反応を行った。即ち、HL 60及びTリンパ白血病細胞株 Jurkat 由来の全RNAとD40特異的リバースプライマーMT194 (5' -GAGTCCTCGGTGTGAAGCTTTA-3' ;配列番号222)を用いて第一鎖のcDNA合成に使用した。そのcDNAの3'末端にデオキシアデノシンを付加し、オリゴdTアンカープライマーとD40特異的リバースプライマーMT195 (5' -ACAGTGTGACTTGATGTCAGGT-3' ;配列番号223)をPCRに使用した。

15 A-3 (DNAシーケンスとホモロジー検索)

プラスミドDNAはQiagenカラム(Qiagen)で精製し、サイクルシーケンス反応の鋳型として用いて、染色(Dye)ターミネーター法(Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74, 5463-5, 1977)を行い、蛍光DNAシーケンサー(373 genetic analyzer, ABI)を用いて塩基配列の決定を行い、公表されているデータベースに対してシーケンスの相同性を調べた。

A-4 (染色体マッピング)

文献 (Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T (1989): Molecular Cloning, Cold Spring Harbor Press, New York, p7.39) 記載の方法に準じて、蛍光インサイチュールハイブリダイゼーション(fluorescence in situ hybridization;FISH)を行った。中期スプレッド (Metaphase spreads)

は、EBウイルスでトランスフォームしたヒト男性由来のリンパ球をコンカナバリン-Aで刺激しブロモデオキシウリジン(BrdU)を取り込ませたものより調整した。D40 cDNA全長にわたる複数のcDNAクローンを混合したもの(200 ng)をビオチン標識した。このプローブ
5 cDNAをR-バンドで染色した中期染色体標本と37℃、48時間反応させた。その後、染色体標本を50%ホルムアミド/0.5×SSCと2×SSCとで順次洗浄した。次に、抗ビオチン抗体(3 μg/ml, Vector)及びFITC抗ヤギ抗体(40 μg/ml, American Qualex)を用いてFISHシグナルを増幅させた。さらに、抗FITC-Alexa
10 488(40 μg/ml, Molecular Probes)を用いてFISHシグナルを増幅した。

A-5 (インビトロ転写と翻訳)

pBluescript KS(-)内にD40 cDNAの全コーディング領域を持つ
15 プラスミドpBS-D40とT7RNAポリメラーゼ、TNTウサギ網状赤血球溶解液(Promega)とを用い、35S-メチオニン存在下で反応を行った。翻訳された産物はSDS-PAGE上で解析し、イメージアナライザーBAS2000(Fuji Film)を用いて検出した。

20 A-6 (ウエスタンブロット)

細胞溶解液を、TNEバッファー(10 mM Tris-Cl, pH 7.8、1% NP40、150 mM NaCl、1 mM EDTA、0.5 mM PMSF、10 mg/ml Aprotinin、10 mg/ml Leupeptin)を用いて調整し、8% SDS-PAGE上にて分
25 析し、ニトロセルロースフィルターに固定した。抗フラッグ(Flag)モノクローナル抗体(M2: Kodak)及びペルオキシダーゼ結合ヤギ抗マウス

イムノグロブリン(Jackson ImmunoRes.)をそれぞれ第一抗体、第二抗体として使用した。シグナルの検出はE C L システム(Amersham)によって行った。

5 A-7 (RNA分離)

酸性グアニディウム・チオサイアネイト・フェノール・クロロフォルム法, (Anal. Biochem. 162, 156-159, 1987) により、細胞株及び腫瘍サンプルから全RNAを分離・精製した。およそ 1×10^7 個の細胞、80mgの腫瘍組織から、2mlのTrizol試薬 (Life Technology) を用いてRNAを精製した。

A-8 (ノーザンブロット)

文献(Genomics 32, 483-484, 1996)記載の方法に準じてノーザンブロット解析を行った。ハイブリダイゼーションを、50%ホルムアミド (formamide)、5×デンハード (Denhardt) 溶液、0.5% SDSを含む溶液内で37℃下で一晩行った。フィルターメンブレンを、次第により高いストリンジェンシーにて順次洗浄した。最終的には0.2×SSC、0.1% SDS、48℃で洗浄し、シグナルをBAS2000によって検出した。

20

A-9 (RT-PCR)

1 μ gの全RNAをSuperscript II RNase H- reverse transcriptase (Life Technology)を用いてcDNAに逆転写した。PCRには0.1 μ gのcDNA、10pmolの各特異的オリゴヌクレオチドプライマー (forward: MT1149; 5'-CACATCCAGTGAGACCA-3'; 配列番号224、reverse: MT152; 5'-TCCCATCTTCTGATGTG-3'; 配列番号225、

25

or forward: MT227; 5' -CAGGAATCCAATGCTTGG-3' ; 配列番号 2
26、reverse: MT188; 5' -CTGTTGCAGGTAAGATC-3' ; 配列番号 2
27) と 0.5 unit の Taq ポリメラーゼを用い、10 mM Tris-HCl、1.5 mM MgCl₂、50 mM KCl 含有 pH 8.3
5 のバッファー中で反応を行った。RNA の integrity をチェックするために β -アクトインプライマーを用いて RT-PCR を行った。

A-10 (細胞傷害検定)

腫瘍組織における D40 遺伝子の発現が RT-PCR 法によって認め
10 られた患者の末梢血を、比重 1.082 のファイコールコンレイ溶液に
重層し、1500 rpm、30 min の遠心操作によって、上から、血
漿、リンパ球相、ファイコールコンレイ相、赤血球相に分離した。リン
パ球相を回収して、無血清培地である AIM-V で一日培養した後、培
15 養フラスコの底に接着した細胞群と浮遊細胞群を軽くフラスコを揺す
つて分離した。接着細胞群は P BMC (peripheral blood mononuclear
cells) と呼ばれる細胞群で、この中にはいわゆる抗原提示細胞 (APC)
と呼ばれる B 細胞、マクロファージ、樹状細胞が含まれているが、その
中でも特に抗原提示能が高い樹状細胞の培養条件である、AIM-V +
GM-CSF で APC を 4 日間培養した。次いで、この APC の培養液
20 中に被検ペプチドを 1 μ M の濃度で添加して 2 日間培養した後、培養液
を AIM-V + TNF- α + INF- α に交換してさらに 2 日間培養し
た。この培養後の APC の増殖能を奪うために放射線処理を行った。

他方、浮遊細胞群には主として T 細胞が含まれており、かかる浮遊細
25 胞を AIM-V + IL-2 で 4 日間培養した。次いで、抗 CD8 抗体が
固着化された磁気ビーズを用いて CD8 陽性 T 細胞を選択し、得られた

CD8陽性T細胞を4日間培養した。このCD8陽性T細胞を上記放射線処理後のAPCに加え2日間培養した。本発明者らによりMLPC (Mix lymphocyte peptide culture) と名付けられたこの操作を2~3回繰り返して、得られたCD8陽性T細胞を細胞傷害検定に用いた。細胞傷害検定には、エフェクター細胞として上記2回のMLPCを終えたCD8陽性T細胞を用い、標的細胞として ^{51}Cr を取り込ませたC1R-A24細胞を用いた。被検ペプチドを $1\mu\text{M}$ 添加した標的C1R-A24細胞 5×10^2 とエフェクターT細胞 2.5×10^3 とを6時間共培養し、標的C1R-A24細胞から放出される ^{51}Cr の放射活性を測定し、細胞傷害活性(%)を求めた。また、被検ペプチド無添加の場合を対照とした。

実施例B [結果]

B-1 (D40の同定とクローニング)

酵母ツーハイブリッドシステムを用いて、転写因子GCFに特異的に結合するタンパク質のスクリーニングを行った。上記実施例A-2に記載したように、Ga14のDNA結合ドメインとGCFとの融合タンパク質を発現させるプラスミドpGAL-GCFを酵母Y153株に導入し、これを用いてヒトB細胞由来のcDNAライブラリーをスクリーニングした。検索した120万個の酵母クローンのうち、9個のクローンはヒスチジン及びLacZ表現型陽性であった。その内の1個をD40と名付け、このD40についてGCFとの結合特異性を調べてみたところ、このクローンによってコードされるタンパク質はラミン(lamin)やp53などのタンパク質には結合しないので、D40とGCFとの結合は特異的であることがわかった。

このクローンのDNA塩基配列を決定したところ、ORFが認められ

たが、これは3'側に終止コドンをもつが、アミノ末端のメチオニンに相当するコドンの5'側には終止コドンをもたなかった。このD40 cDNAクローンをプローブとして、より長いクローンを得るために、ヒトの前骨髄性白血病細胞株HL60のcDNAライブラリーをスクリーニングした。その結果、いくつかのクローンを分離したが、それらは何れも5'側には終止コドンをもたないことが示された。そこで、HL60及びTリンパ白血病細胞株 Jurkat 由来の全RNAを用いて、5' RACE (Rapid amplification of cDNA ends) 法を行った。この方法により5'末端の読み枠に終止コドンをもつクローンを得ることに成功した(ORF1)。さらに3'末端領域を含むクローンを得て、その塩基配列を決定したところ、ORF1の3'側にもう一つのタンパク質(ORF2)をコードする配列が存在することが判明した。D40の全cDNA配列を配列番号1として、D40(ORF1)タンパク質のアミノ酸配列を配列番号2として、D40(ORF2)タンパク質のアミノ酸配列を配列番号3として、それぞれ示す。

また、D40(ORF1)cDNAの塩基配列の一部及びそれにコードされるORF1のアミノ酸配列を図2に示す。図2において、アミノ酸配列は塩基配列の下に一文字で示され、*印は終止コドンを示し、配列の右と左の数字は塩基配列とアミノ酸配列中の位置を示している。また、ロイシンジッパー(Leucine zipper)様配列(Science 240, 1759-64, 1988)は太字で、種々のヒト組織適合抗原(HLA)クラスI分子と高い親和性を示すペプチド例(表4参照)はアンダーラインで、それぞれ示されている。図2で示されるD40(ORF1)タンパク質や上記D40(ORF2)タンパク質のアミノ酸配列の中にはHLAクラスI分子に結合するペプチドモチーフ(Immunogenet. 41, 178-228, 1995)と非常によく似た配列が認められる。HLAのクラスI分子に結合するア

ミノ酸配列を予測し、それをスコアで示すプログラム (J. Immunol. 152:163. 1994. Web site; HLA Peptide Binding Predictions; http://bimas.dcrt.nih.gov/molbio/hla_bind/) を用いて、図 2 中のアンダーラインに示されている D 4 0 (O R F 1) 内のアミノ酸配列のスコアを算出した。結果を表 4 に示す。表 4 には、前記のように H L A クラス I 分子と高い親和性を示す幾つかのペプチドが示されており、これらペプチドのアミノ酸配列のスコアは、すでに H L A - A 1 分子によって結合することが示され細胞傷害性 T リンパ球に認識されることが証明されている M A G E 3 の配列のスコアと同等かあるいはより高いことが示されている。したがって、図 2 中のアンダーラインに示されている D 4 0 (O R F 1) 内のアミノ酸配列は抗原性を有することがわかる。また、D 4 0 (O R F 1) タンパク質内の配列番号 4 ~ 1 1 1 のいずれかに示されるアミノ酸配列や、D 4 0 (O R F 2) タンパク質内の配列番号 1 1 2 ~ 2 2 1 のいずれかに示されるアミノ酸配列も前記スコアが大きく、抗原性を有する可能性がきわめて大きい。

表 4

HLAクラスI	D40由来のペプチド	スコア
A1	HTEDSRMKK	225
A0201	WVLKILPYL	402
A3	LLDNPISEK	45
A24	IYGNDFMDL	240
A0205	WVLKILPYL	252
A68	DVTTGYGTK	360
A68	SVGGPKIDK	240
B7	PPRSPLQDL	120
B8	WNKDKDWVL	120
B14	ERPVERRHS	300
B40	CEITGMNTL	80

図 2 に示されるように、D 4 0 c D N A 内の O R F 1 は 8 8 7 アミノ酸をコードする。O R F 1 が正しいことを確かめるため、インビトロで

のタンパク質の合成系としてよく知られている網状赤血球溶解液 (reticulocyte lysate) を用いてインビトロ転写及び翻訳反応を前記実施例 A-5 記載の方法により行った。D40 (ORF1) タンパク質の全コード領域の cDNA を、T7 RNA プロモーターを有するプラスミドに組入れた。このプラスミドを用いて、前記実施例 A-5 に記載されているように反応を行った。結果を図 3 に示す。図 3 中、(+) と (-) は D40 cDNA を含むプラスミドの有無を示し、またゲルの右側の数字は分子量マーカを示す。かかる翻訳されたタンパク質のゲル解析の結果から、分子量 110-130 KD の間に 2 本のバンドが認められた。

- 10 次に、D40 (ORF1) によってコードされるタンパク質についてインビボにおける発現を調べてみた。D40 (ORF1) タンパク質のアミノ末端にタグ (FLAG) として Gal4 の DNA 結合ドメインを付加した D40 (ORF1) タンパク質を発現するプラスミドを、リポフェクトアミンを用いて Cos7 細胞に導入した。48 時間後に Cos7 細胞抽出液を調製し、前記実施例 A-6 に記載されているように抗フラッグ抗体を用いてウエスタンブロットを行った。結果を図 4 に示す。図 4 中、S と AS は、D40 cDNA をプラスミドにそれぞれセンスとアンチセンスにクローニングしたことを示し、またゲルの左側の数字は分子量マーカを示す。図 4 に示されているように、分子量 120 KD を示すバンドが検出された。

- 20 前記実施例 A-3 に記載されているように GenBank / EMBL / DDBJ の各データベースに対して相同性検索を行った結果、D40 (ORF1) タンパク質と高い相同性を示すタンパク質は認められなかった。しかし、高いホモロジーを示さないものの、この D40 (ORF1) タンパク質はいくつかのタンパク質、例えば、シネプトネマル複合タンパク質 1 (SCP1) やパラミオシンなどのタンパク質とわずかな

がら相同性を有していた。これら α -ヘリックスに富むタンパク質は細胞内外の構造を結合させる繊維状タンパク質であると考えられている (EMBO J 11, 5091-5100, 1992)。したがって、D 4 0 タンパク質は繊維タンパク質と関連し、精巢の細胞にのみ認められる細胞構造や、ある
5 いは癌細胞で異所性に発現したときに認められる細胞構造の構築に寄与しているタンパク質である可能性を有する。前述したように、SCP 1 は、ヒトの常染色体に存在する点においても D 4 0 との間で類似性を有する。また同様に相同性検索を行った結果、D 4 0 (ORF 2) タンパク質と高い相同性を示すタンパク質は認められなかった。

10

B-2 (D 4 0 の染色体上局在)

蛍光インサイチュハイブリダイゼーションを用いて、D 4 0 遺伝子の染色体上局在を決定した。図 5 に示すように、ヒト第 1 5 染色体のセントロメア領域の近く、すなわち長腕の q 1 4 - 1 5 に明らかなシグナルが認められた。調べた 4 9 個の細胞の内、4 つ全てのクロマチドにこの領域における蛍光シグナルが認められたのは 1 個、3 つのクロマチドに認められたのは 3 個、2 つのクロマチドに認められたのは 3 0 個、1 つのクロマチドのみに認められたのは 1 5 個の細胞であった。他の染色体には再現性ある蛍光シグナルは認められなかった。第 1 5 染色体に特
15 異的な a-satellite DNA プローブを用いて同時にハイブリダイゼーションを行った実験からも、D 4 0 遺伝子がこの染色体に局在することが確かめられた。これらの結果は、D 4 0 遺伝子がヒト染色体 1 5 q 1 4 - 1 5 に局在することを示している。

25 B-3 (正常ヒト組織における D 4 0 mRNA の発現)

正常ヒト組織における D 4 0 遺伝子の発現について、まずノーザンブ

ロット法によって調べてみた。ヒト マルチプル ティッシュ mRNA ブ
ロット メンブレン(Clontech)に対してノーザンブロット法を行った
結果を図 6 に示す。図 6 からわかるように、D 4 0 mRNA の高い発
現が見られる。また、精巣においては約 5 K b のメジャ
5 ーな転写物と約 3 . 5 K b のマイナーな転写物が検出された。精巣以外
では胎盤において、少なくとも精巣と比べて 5 0 倍以下ではあるが、わ
ずかながら D 4 0 mRNA の発現が認められた。しかし、それ以外の正
常ヒト成人の組織においては D 4 0 の発現は全く認められなかった (図
6 上)。なお、同じメンブレンからプローブを除き、 β -アクチン用プ
10 ローブでハイブリダイズしたところすべての組織に発現することを確認
した (図 6 下)。

次にノーザンブロット法よりも感度の高い RT-PCR 法を用いてノ
ーザンブロットの結果を確認した。ヒト マルチプル ティッシュ cDNA
A(Clontech)を用いて RT-PCR 法を行った結果を図 7 に示す。図 7
15 中の矢印は特異的な PCR 産物を示す。この RT-PCR の結果から、
精巣において D 4 0 の高い発現が認められた。また、その他のヒト正常
組織においては、胎盤においてわずかな発現が認められた以外には、D
4 0 の発現は認められなかった。これらの結果により、正常のヒト組織
においては、D 4 0 mRNA は精巣において選択的に発現していること
20 が示された。

B-4 (癌細胞株と原発癌における D 4 0 の発現)

癌細胞における D 4 0 の発現について調べてみた。まず、RT-PCR
法によって種々の癌細胞株における D 4 0 の発現を調べてみた。結果
25 を表 3 に示す。表 3 からわかるように、悪性黒色腫、肺癌、消化器系由
来の癌を含めて調べた全ての癌細胞株において D 4 0 の発現が認められ

た。しかし正常胎児肺線維芽細胞株では発現が認められなかった。次に、ヒトの原発癌におけるD40の発現の頻度を調べてみた。結果を表5に示す。表5からわかるように、D40のmRNAは口腔癌、子宮癌、肺癌などの原発癌サンプルの大部分においてその発現が認められた。それらの中で、口腔癌は、調べてみた症例の約63%においてD40を発現していた。これは、調べた原発癌の中では最も高い頻度であった。子宮癌(44%)、肺癌(40%)、卵巣癌(36%)、膵癌(27%)、神経芽細胞腫(20%)、大腸癌(13%)にも見られたが、胆管癌、胃癌、セミノーマには見られなかった。D40の発現はいくつかの癌細胞株と正常の精巣に認められ、この発現パターンからD40は癌・精巣に選択的に発現する遺伝子群の一つであることがわかる(Immunol. Today 18, 267-8, 1997、The Cancer J. from Scientific American, 16-7, 1999)。

表5

癌の種類	陽性例／全検討例
口腔癌	10/16 (63%)
子宮癌	8/18 (44%)
肺癌	8/20 (40%)
卵巣癌	4/11 (36%)
膵臓癌	3/11 (27%)
神経芽細胞腫	1/5 (20%)
大腸癌	1/8 (13%)
胆管癌	0/7 (0%)
胃癌	0/4 (0%)
セミノーマ	0/3 (0%)

15 B-5 (免疫誘導活性)

被検ペプチドとして、配列番号36に示されるアミノ酸配列からなるペプチド(SYTIETHRL)を用い、該ペプチドの免疫誘導活性を前記A-10に記載されている細胞傷害検定により調べた。癌患者末梢血由来のT細胞による細胞傷害活性の結果を図8に示す。図8からも

明らかなように、癌患者末梢血由来のT細胞（エフェクター細胞）は、ペプチド（SYTIEINHRL）1 μMを添加した標的C1R-A24細胞を特異的に傷害し、ペプチド（SYTIEINHRL）を添加していない対照の標的C1R-A24細胞を傷害しなかった。これらのことから、ペプチド（SYTIEINHRL）が免疫誘導活性を有することがわかる。

産業上の利用可能性

精巣にはHLAクラスI分子の発現が無いために、D40が発現していてもD40由来のペプチドとHLAクラスI分子が複合体を形成することがなく、細胞傷害性Tリンパ球により認識されない。精巣以外の正常細胞では、HLAクラスI分子の発現があるが、D40の発現が無いために、同様に細胞傷害性Tリンパ球により認識されない。しかし、癌細胞では、D40とHLAクラスI分子の両方の発現があるため、これらの複合体が細胞傷害性Tリンパ球により認識され、癌細胞は傷害される。本発明によると、D40をはじめとして、癌の診断と免疫療法に応用することができる癌・精巣抗原、すなわち精巣以外の正常組織には発現せず、かつ広範囲の種々の癌に発現し、宿主に免疫反応を惹起する癌・精巣抗原や、それをコードする癌・精巣遺伝子等を提供することができる。

請 求 の 範 囲

1. 以下の(a)又は(b)のタンパク質をコードする遺伝子。
 - (a)配列番号2に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質
 - 5 (b)配列番号2に示されるアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ免疫誘導活性を有するタンパク質
2. 以下の(a)又は(b)のタンパク質をコードする遺伝子。
 - (a)配列番号3に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質
 - 10 (b)配列番号3に示されるアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ免疫誘導活性を有するタンパク質
3. 配列番号1に示される塩基配列又はその相補的配列並びにこれらの配列の一部または全部を含むDNA。
- 15 4. 請求項3記載の遺伝子を構成するDNAとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ免疫誘導活性を有するタンパク質をコードするDNA。
5. 配列番号2に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質。
6. 配列番号2に示されるアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ免疫誘導活性を有するタンパク質。
- 20 7. 配列番号3に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質。
8. 配列番号3に示されるアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ免疫誘導活性を有するタンパク質。
- 25 9. 請求項5～8のいずれか記載のタンパク質の一部からなり、かつ組

織適合抗原分子クラス I に結合するペプチド。

10. 請求項 5 又は 6 記載のタンパク質の一部からなり、かつ組織適合抗原分子クラス I に結合する請求項 9 記載のペプチド。

5 11. 配列番号 4 ~ 111 のいずれかに示されるアミノ酸配列からなる請求項 10 記載のペプチド。

12. Ser-Tyr-Thr-Ile-Glu-Ile-Asn-His-Arg-Leu に示されるアミノ酸配列からなるペプチド。

13. 請求項 7 又は 8 記載のタンパク質の一部からなり、かつ組織適合抗原分子クラス I に結合する請求項 9 記載のペプチド。

10 14. 配列番号 112 ~ 221 のいずれかに示されるアミノ酸配列からなる請求項 13 記載のペプチド。

15. 請求項 5 若しくは 6 記載のタンパク質又は請求項 10 ~ 12 のいずれか記載のペプチドと、マーカートンパク質及び／又はペプチドタグとを結合させた融合タンパク質又は融合ペプチド。

15 16. 請求項 7 若しくは 8 記載のタンパク質又は請求項 13 若しくは 14 記載のペプチドと、マーカートンパク質及び／又はペプチドタグとを結合させた融合タンパク質又は融合ペプチド。

17. 請求項 5 若しくは 6 記載のタンパク質又は請求項 10 ~ 12 のいずれか記載のペプチドに特異的に結合する抗体。

20 18. 請求項 7 若しくは 8 記載のタンパク質又は請求項 13 若しくは 14 記載のペプチドに特異的に結合する抗体。

19. 抗体がモノクローナル抗体であることを特徴とする請求項 17 又は 18 記載の抗体。

25 20. 請求項 17 ~ 19 のいずれか記載の抗体が特異的に結合する組換えタンパク質又はペプチド。

21. 請求項 5 又は 6 記載のタンパク質を発現することができる発現系

- を含んでなる宿主細胞。
22. 請求項7又は8記載のタンパク質を発現することができる発現系を含んでなる宿主細胞。
23. 請求項5又は6記載のタンパク質をコードする遺伝子機能が染色体上で欠損した非ヒト動物。
24. 請求項7又は8記載のタンパク質をコードする遺伝子機能が染色体上で欠損した非ヒト動物。
25. 非ヒト動物が、マウス又はラットである請求項23又は24記載の非ヒト動物。
- 10 26. 請求項5又は6記載のタンパク質を過剰発現する非ヒト動物。
27. 請求項7又は8記載のタンパク質を過剰発現する非ヒト動物。
28. 非ヒト動物が、マウス又はラットであることを特徴とする請求項26又は27記載の非ヒト動物。
29. 請求項5若しくは6記載のタンパク質、請求項10～12のいずれか記載のペプチド、又は請求項5若しくは6記載のタンパク質を発現している細胞膜と、被検物質とを用いることを特徴とする免疫誘導活性促進又は抑制物質のスクリーニング方法。
- 15 30. 請求項7若しくは8記載のタンパク質、請求項13若しくは14記載のペプチド、又は請求項7若しくは8記載のタンパク質を発現している細胞膜と、被検物質とを用いることを特徴とする免疫誘導活性促進若しくは抑制物質のスクリーニング方法。
- 20 31. 請求項5又は6記載のタンパク質を発現している細胞と、被検物質とを用いることを特徴とする免疫誘導活性促進若しくは抑制物質又は該タンパク質の発現促進若しくは抑制物質のスクリーニング方法。
- 25 32. 請求項5又は6記載のタンパク質を発現している細胞が、請求項21記載の宿主細胞であることを特徴とする請求項31記載の免疫誘導

活性促進若しくは抑制物質又は該タンパク質の発現促進若しくは抑制物質のスクリーニング方法。

- 3 3. 請求項 7 又は 8 記載のタンパク質を発現している細胞と、被検物質とを用いることを特徴とする免疫誘導活性促進若しくは抑制物質又は
- 5 該タンパク質の発現促進若しくは抑制物質のスクリーニング方法。

3 4. 請求項 7 又は 8 記載のタンパク質を発現している細胞が、請求項 2 2 記載の宿主細胞であることを特徴とする請求項 3 3 記載の免疫誘導活性促進若しくは抑制物質又は該タンパク質の発現促進若しくは抑制物質のスクリーニング方法。

- 10 3 5. 請求項 2 3 ~ 2 5 のいずれか記載の非ヒト動物と、被検物質とを用いることを特徴とする免疫誘導活性促進若しくは抑制物質又は請求項 5 ~ 8 のいずれか記載のタンパク質の発現促進若しくは抑制物質のスクリーニング方法。

- 3 6. 請求項 2 6 ~ 2 8 のいずれか記載の非ヒト動物と、被検物質とを用いることを特徴とする免疫誘導活性促進若しくは抑制物質又は請求項
- 15 5 ~ 8 のいずれか記載のタンパク質の発現促進若しくは抑制物質のスクリーニング方法。

3 7. 請求項 2 9 ~ 3 6 のいずれか記載のスクリーニング方法により得られる免疫誘導活性促進物質。

- 20 3 8. 請求項 2 9 ~ 3 6 のいずれか記載のスクリーニング方法により得られる免疫誘導活性抑制物質。

3 9. 請求項 2 9 ~ 3 6 のいずれか記載のスクリーニング方法により得られる請求項 5 又は 6 記載のタンパク質の発現促進物質。

- 4 0. 請求項 2 9 ~ 3 6 のいずれか記載のスクリーニング方法により得
- 25 られる請求項 7 又は 8 記載のタンパク質の発現抑制物質。

4 1. 請求項 5 ~ 8 のいずれか記載のタンパク質、請求項 9 ~ 1 6 のい

ずれか記載のペプチド、請求項 20 記載のタンパク質若しくはペプチド、又は請求項 17～19 のいずれか記載の抗体を有効成分として含有する抗腫瘍剤。

42. 癌が、子宮頸癌、上皮様癌、T細胞腫、前骨髄性白血病、食道癌、
5 膀胱癌、悪性黒色腫、肺癌、口腔癌、乳癌、膀胱癌、子宮癌、卵巣癌、神経芽細胞腫、大腸癌から選ばれた 1 又は 2 以上の癌であることを特徴とする請求項 41 記載の抗腫瘍剤。

43. HLA 分子と、請求項 9～16 のいずれか記載のペプチド又は請求項 20 記載のペプチドを用いることを特徴とする細胞傷害性 T 細胞又はその前駆細胞の検出方法。
10

44. HLA クラス I 分子と、請求項 9～16 のいずれか記載のペプチド又は請求項 20 記載のペプチドとの複合体を蛍光微粒子表面に形成させることを特徴とする細胞傷害性 T 細胞又はその前駆細胞の検出方法。

45. HLA 分子と、請求項 9～16 のいずれか記載のペプチド又は請求項 20 記載のペプチドとを含有することを特徴とする細胞傷害性 T 細胞又はその前駆細胞の検出試薬。
15

46. HLA クラス I 分子と、請求項 9～16 のいずれか記載のペプチド又は請求項 20 記載のペプチドとの複合体と、蛍光微粒子とを含有することを特徴とする細胞傷害性 T 細胞又はその前駆細胞の検出試薬。

47. 請求項 5～8 のいずれか記載のタンパク質、請求項 9～16 のいずれか記載のペプチド、又は請求項 20 記載のタンパク質若しくはペプチドを用いることを特徴とするインビトロ刺激により誘導される細胞傷害性 T 細胞。
20

48. 請求項 5 又は 6 記載のタンパク質をコードする DNA 又は RNA のアンチセンス鎖の全部又は一部からなる癌の診断用プローブ。
25

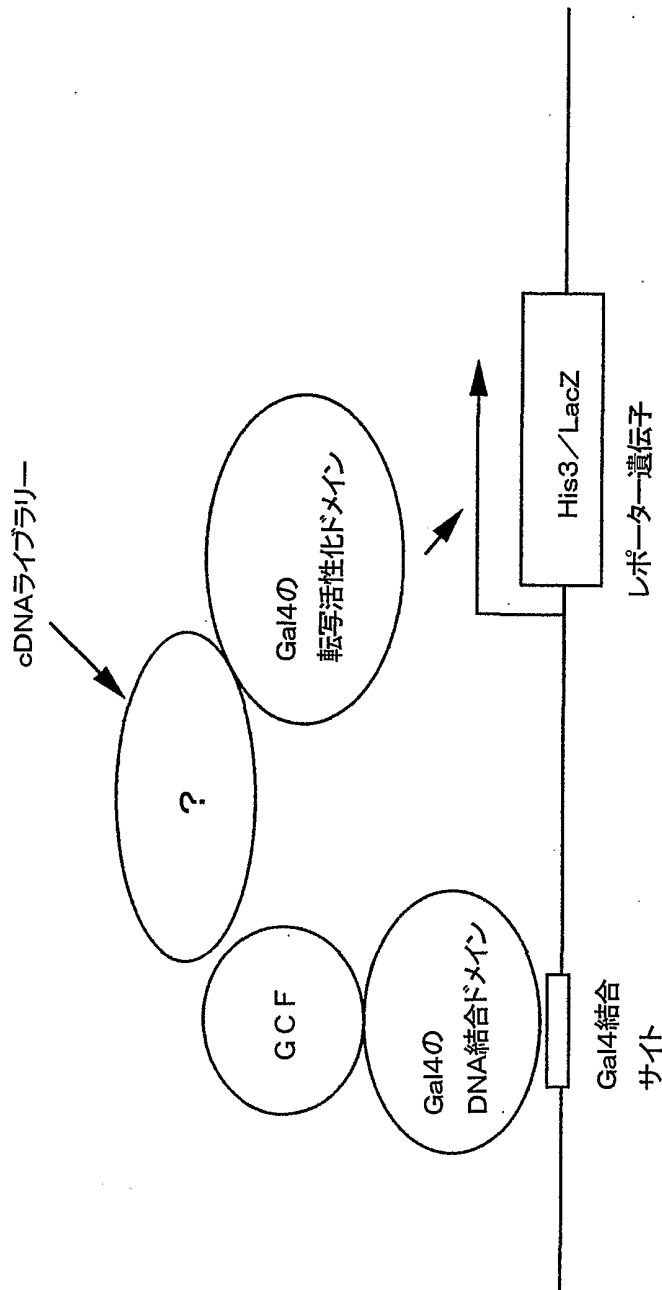
49. 請求項 7 又は 8 記載のタンパク質をコードする DNA 又は RNA

のアンチセンス鎖の全部又は一部からなる癌の診断用プローブ。

50. 請求項48又は49記載の癌の診断用プローブ及び／又は請求項17～19のいずれか記載の抗体を含有することを特徴とする癌の診断薬。

- 5 51. 癌が、子宮頸癌、上皮様癌、T細胞腫、前骨髄性白血病、食道癌、膀胱癌、悪性黒色腫、肺癌、口腔癌、乳癌、膀胱癌、子宮癌、卵巣癌、神経芽細胞腫、大腸癌から選ばれた1又は2以上の癌であることを特徴とする請求項50記載の癌の診断薬。

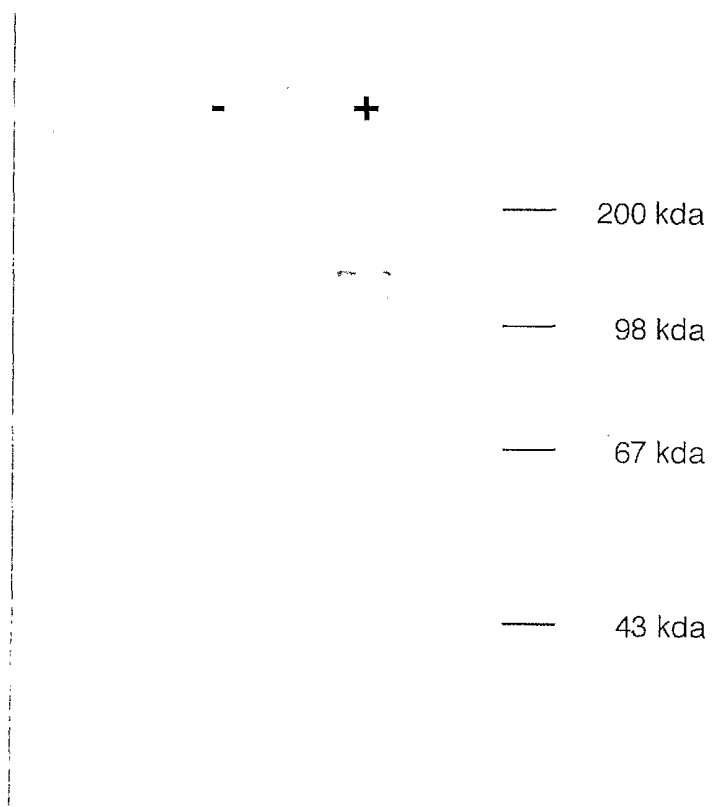
第 1 図



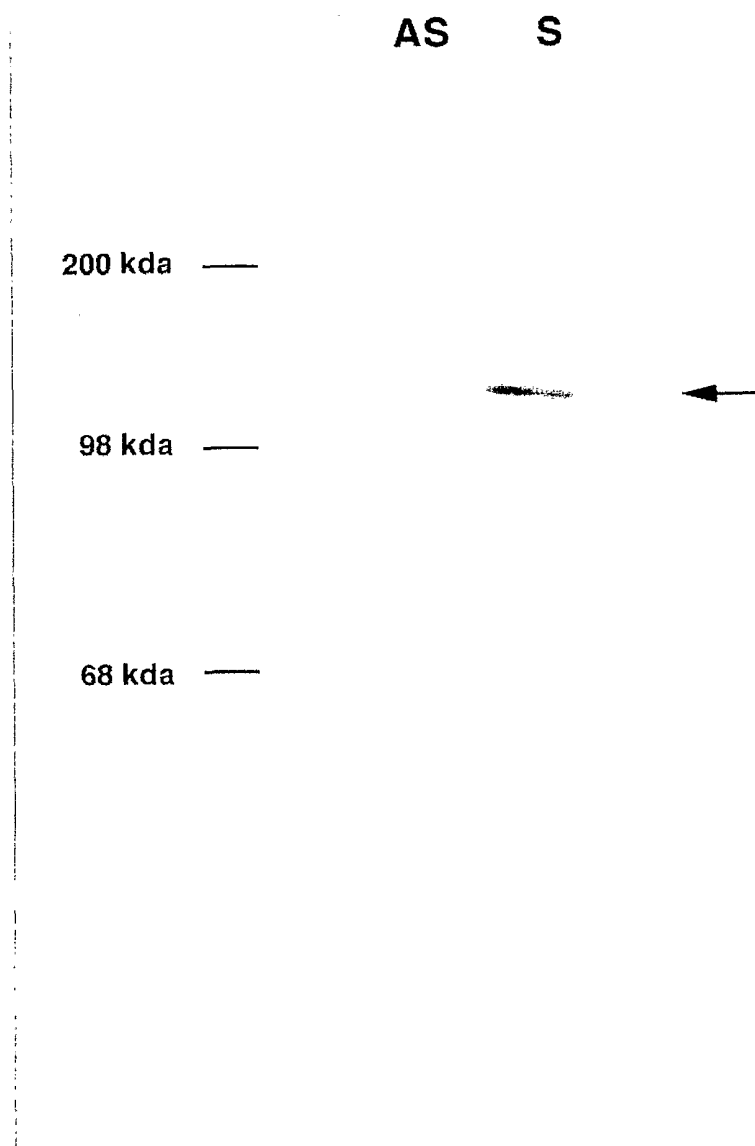
第 2 図

	GAGATTTGAATACTTCACTGAGCGGACCCGGCGTGTGTGAGCGGACTGCTAGAGCGGCTGTCTGTTCCGC	72
	TCTAAGGAAATCAGAGCGTGTGGACCCCAAACAGTCTGCACAAAATTTGTCGAGGAGTTTGCCGCGGCAGAAAAGTTTCTTCAAAA	162
1	ATGGATGGGGTGTCTTTCAGAGGCTAATGAAGAAAATGACAAATATAGAGAGACCTGTTAGAAAGCGGCATTTCAATATFGAAACCCCA	252
	AGGAGTCTCTTTCAGGACCTCAGAGGTGGGAATGAAACAGTTCAGGAATCCAATGCTTTGAGAAAATAAGAAAACCTCTCGTCGAGTCAGC	342
31	R S P L Q D L R G G N E T V Q E S N A L R N K K N S R R V S	
	TTTGCAGATACATAAAGGTATTCAGACGGAGTTCATATGAAAATAGTGAGAAAAGTCAGAAAATGGAAAGAACAGAAAGCAGGAGAAAAT	432
61	F A D T I K V F Q T E S H M K I V R K S E M E E T E A G E N	
	CTTCTTTTGATACAGAATAAGAAAATGAAAGATAATTACTGTGAAATTACTGGGATGAACACATTCCTTCTGCTCCCATCATACCAG	522
91	L L L I Q N K K L E D N Y C E I T G M N T L L S A P I H T Q	
	ATGCAACAGAAAGGATTTTCAATATAGAACATACCCGTGAAAGGAAAACATGCAAAATGACAGACAGTCATTTTTCAGATGAAAACCCAG	612
121	M Q Q K E F S I I E H T R E R K H A N D Q T V I F S D E N Q	
	ATGGACCTGACATCAAGTCACACTGTAATGATTCACAAAGGCTTTTAGATAATCCCATAGTGAAGTCCACCAAGATAGATACCACA	702
151	M D L T S S H T V M I T K G L L D N P I S E K S T K I D T T	
	TCATTTCTAGCTAATTTAAAGCTTCACACCGAGGACTCAAGAAATGAAAAGAAAGTAAATTTTCCGTGGATCAAAAACACTTCTTCAGAA	792
181	S F L A N L K L H T E D S R M K K E V N F S V D Q N T S S E	
	AATAAAATAGATTTCAATGACTTCATAAAAAGATTGAAAACAGGAAAATGTAGTGTCTTTTCTGATGTCCGTGATAAAGAAAATTTTGAG	882
211	N K I D F N D F I K R L K T G K C S A F P D V P D K E N F E	
	ATACCTATTATTCAGGAACCGAACAGTGCCTTCTACACATCAATGCGATGATCTCTTAAGGAAGATGAAAATAACAGTAAATATT	972
241	I P I Y S K E P N S A S S T H Q M H V S L K E D E N N S N I	
	ACTAGGCTCTTTAGAGAAAAGATGATGGGATGAATTTCCACCCAGTGTATACAGCAATATTCAGACATTTCCACATCCAGTGAG	1062
271	T R L F R E K D D G M N F T Q C H T A N I Q T L I P T S S E	
	ACCACTCAGGGAATCTAAAGGTAATGATATTAACAATTTATGGCAATGACTTTATGGACTTGACATTTAACCACACTTTGCAGATCTTA	1152
301	T N S R E S K G N D I T I Y G N D F M D L T F N H T Q I L	
	CCGTGCAACAGTAAATTTTCTGAAAATGAAAATCAAACTCAGAAATGCCATGGATGTAACAACAGGTTATGGAACTAAAGCTTCAGGAAAT	1242
331	P A T F N E S I E N Q T Q N A M D V T T G Y G T K A S G N	
	AAAACAGTTTTAAAGGTAACAAAATACTGCTTTTCAAGACCTTTCCATAAACTCTGCAGACAAAATACATATTACCAGAAAGTCATATT	1332
361	K T V F K S K Q N T A F Q D L S C I N S A D K I H I T R S H I	
	ATGGGGCAGAAAACACATAGTCTCAGACTTGTAAATCAGGATGCCAGAAATATGACCCAGAACTATATATTTCAATCCA	1422
391	M G A E T H I V S Q T C N Q D A R I L A M T P E S I Y N S P	
	TCATTTCAAGTTGTAAGACTGTTTCTATCTAGTTTAAATGATGCCATGGAAATGACCAAAATGCTCTCAAAATGAGAGGAGGAGAAA	1512
421	S I Q G C K T V F Y S S C N D A M E M T K C L S N M R E E K	
	AAATTTGCTAAAGCATGACAGTAATTTCTAAAATGATTTGCAATCCAGATGCTATGCTCTCTCACAGAGAAAATATTTATCCGGA	1602
451	N L L K H D S N Y S K M Y C N P D A M S S L T E K T I Y S G	
	GAGGAGAACATGGACATTAACAGATCAATAGTTCAGTTCAGAAATCAAAATTTAAACAAGATCAATCAAAATGTCAAATGTCAGACT	1692
481	E E N M D I T K S H T V A I D N Q I F F K Q D Q S N V Q I A A	
	GCACCAACACCCGAAAAGAAATGATGCTCCAAAATCTTATGACCACATCAGAAAGATGGGAAAATGAAATGTAATGTAACACTAGTCTCT	1782
511	A P T P E K E M M L Q N L M T P S E D G K M N V N C N S V P	
	CAATGATCTAAGGAAGAAATACAGCAGAGCTGTCAAAATCCCTTTGCTATTTCAATGACTGATAGAAAGACTGAACTCTTATCAGGTGAA	1872
541	H V S K E R I Q Q S L S N P L S I S L T D R K T E L L S G E	
	AAATGAGTACTGAAAGTACACAAGTAACTTAGAAGTCAAGTCTCTCTGACGCTTATAATCTAGCACCCGAGAGTACCAGTGAA	1962
571	N T D L T E S H T S N L G S Q V P L A A Y N L A P E S T S E	
	TCTCACTCTCAGAGCAAAAGCTCTTCAGATGAATGTGAAGAAATACCAAAAGTCGTAATGAACCATTTCCAGCGATCAGACATAATAGCC	2052
601	S H S Q S K S S S D E C E E I T K S R N E P F Q R S D I I A	
	AAAAACAGCTTAAACGACACTTGGAAACAAAGACAAAGATTTGGTTTTGAAGATTTTGCCCTACCTTGATAAAGATTCTCCCTCAGTCAGCT	2142
631	K N S L T D T W N K D K D W V L K I L P Y L D K D S P Q S A	
	GATTTGTAATCAGGAGATGCAACAAGCCATAATATAGTCTACTGTGGTGGAGTCTTTGATAAACAATAACTAATAGAAAATACAGTATCA	2232
661	D C N Q E I A T S H N I V Y C G G V L D K Q I T N R N T V S	
	TGGGAACAATCTTTGTTTCTTACCACAAGCCATTTTTCATCAGGACAGTCTCTATGAAAATCATGATACTGCTATATAGTAGTCAT	2322
691	W E Q S L F S T T K P L F S S G Q F S M K N H D T A I S S H	
	ACAGTGAATCTGTACTAGGCCAGAAATTTAAACTGGCTGAGCCACTGAGGAAAAGTTAAGCAATCCACACCTGACTATGCCATGAC	2412
721	T V K S V L G Q N S K L A E P L R K S L S N P T P D Y C H D	
	AAGATGATATATGTTTCAGAGGAAAGCAAAATATGGATCTAACAAAGGCCACACTGTTGTCATGGATTTGGTCTTCTGAACTACAA	2502
751	K M I I C S E E E Q N M D L T K S H T V V I G F G P S E L Q	
	GAACTTGGTAAAATAAATTTAGAACACACTACTGGCCAGCTAACCAACAATGAAACAGACAGATAGCTGAAAAGTTGAAAATGGGTTAAA	2592
781	E L G K T N L E H T T G Q L T T M N R Q I A V K V E K C G K	
	AGTCCCATAGAAAAGTGGAGTGTAAATCTAACTGATATGGATGTGTTAGAGGACGAAAAGTGTACAGAAAACCTAAATTTCCAAAG	2682
811	S P I E K S G V L K S N C I M D V L E D E S V Q K P K F P K	
	GAAAAGCAAAATGTCAAAATTTGGGGAAGGAAAAGTGTGGTGGACAAAATGATAAGACGATGATTTTCAGAAAGACGATAAGAAAT	2772
841	E K Q N V K I W G R K S V G G P K I D K T I V F S E D D K N	
	GATATGGATATCACTAAGAGTTATACAAATAGAAAATAAACCATAGACTTTTATAGAAAACCTGATGTCATTTGGTGGCTGCAAGGAA	2862
871	D M D I T K S Y T I E I N H R L Y *	
	CTTCTGAAACTATTTTATATACATGTGGCCAGGATGACATGGAGATCACTAGAAGTCACACAACCTGCCCTAGAAATGTAATAACTGTCTCAC	2952
	CAGATGAAAATAACTACTAGGCCATGAGACAAAACGTAGTGTGTTGTAAGATAATCATGTTGAACTAGAAAATGAC	3025

第 3 図



第 4 図



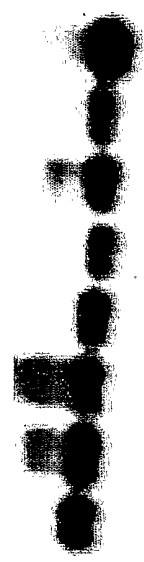
第 5 図



第 6 図

β -アクチン

D40



- 脾臓
- 胸腺
- 前立腺
- 精巣
- 卵巣
- 小腸
- 結腸
- 白血球



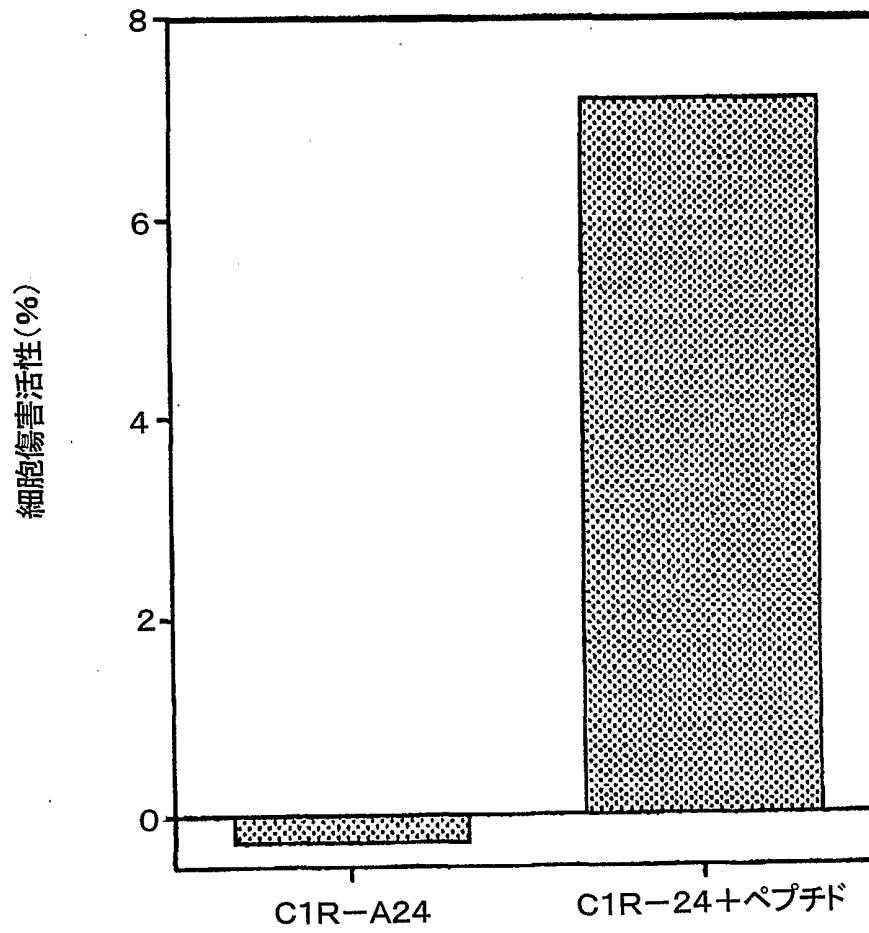
- 心臓
- 脳
- 胎盤
- 肺
- 肝臓
- 骨格筋
- 腎臓
- 膵臓

第 7 図



- 脳
- 心臓
- 肺
- 結腸
- 前立腺
- 小腸
- 腎臓
- 肝臓
- 骨格筋
- 胸腺
- 脾臓
- 白血球
- 胎盤
- 膵臓
- 卵巣
- 精巣

第 8 図



SEQUENCE LISTING

<110> JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY CORPORATION

<120> A novel human cancer/testis-associated gene

<130> YG13-22PCT

<140>

<141>

<150> JP 2000/274218

<151> 2000-09-08

<160> 227

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 5412

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 1

gagattigaa tacttcactg aggcgagccg ggcgttgtga gcggactgct agaggcggct 60
gtctgtttcc gctctaagga aacicagagc gtgtggacc caaacaagtc tgcgcaaaat 120
ttgtcgagga ggtttgccgc ggcagaaaag ttttcttcaa aaatggatgg ggtgtcttca 180
gaggctaattg aagaaaaatga caatatagag agacctgtta gaagacggca ttttcaata 240
ttgaaacccc caaggagtc tcttcaggac ctacagaggc ggaatgaaac agttcaggaa 300
tccaatgctt tgagaaataa gaaaaactct cgtcagatca gctttgcaga tactataaag 360

gtattccaga cggagtctca tatgaaaata gtgagaaagt cagaaatgga agaaacagaa 420
gcaggagaaa atcttctttt gatacagaat aagaaattag aagataatta ctgtgaaatt 480
actgggaiga acacattgct ttctgtctcc atctatccc agatgcaaca gaaggagitt 540
tcaattatag aacataccgg tgaaggaaa caigcaaatg accagacagt cattttttca 600
gatgaaaacc agatggacct gacatcaagt cacactgtaa tgattacca aggctttta 660
gataatccca taagtgaaa gtccaccaag atagatacca caicattct agctaattta 720
aagcttcaca ccgaggactc aagaatgaaa aaagaagtaa attttccgt ggatcaaac 780
acttctcag aaaataaaat agatttcaat gacttcaaa aaagattgaa aacaggaaaa 840
tgtagtgctt ttctgaigt gccigataaa gaaaattttg agatacctat ttattccaag 900
gaaccgaaca gtgctcttc tacacatcaa atgcatgtat ctcttaagga agatgaaaat 960
aacagtaata ttactaggct cttagagaa aaagaatgat ggatgaattt caccagigt 1020
catacagcca atattcagac attgattccc acatccagt agaccaactc acgggaatct 1080
aaaggtaatg atattacaat ttaiggcaat gactttatgg acttgacatt taaccacact 1140
ttgcagatct tacttgcaac aggtaatitt tctgaaatag aaaatcaaac tcagaatgcc 1200
atggatgtaa caacaggita tggaaactaa gcttcaggaa ataaaacagt tittaagagt 1260
aaacaaaata ctgcttttca agaccttcc ataaactctg cagacaaaat acatattacc 1320
agaagtcata ttatgggggc agaaactcac atagictcac agactigtaa icaggatgcc 1380
agaatattag ccatgacccc agaacttata tattctaatc catctattca aggttgtaag 1440
actgttttct attctagttg taatgatgcc atggaaatga ccaaigtct ctcaaatatg 1500
agagaggaga aaaatttgc aaagcatgac agtaattatt ctaaaatgta ttgcaatcca 1560
gatgctatgt ctctctcac agagaaaact atttattccg gagaggagaa catggacatt 1620
accaagagtc atacagttgc aatagataat caaattttta aacaagatca atcaaatgig 1680
caaatagcag ctgcaccaac accgaaaaa gaaatgatgc tccaaaatct tatgaccaca 1740
tcagaagatg ggaaaatgaa tglaaattgt aactcagttc ctcatgtatc taaggaaaga 1800
atacagcaga gcctgtcaaa tctttgtct attcattga ctgatagaaa gactgaactc 1860
ttatcaggig aaaatacggg ttgactgaa agtcacacaa gtaacttagg aagtcaggtt 1920
cctctigcag ctataatct agcaccggag agtaccagt aatctcactc icagagcaaa 1980
agctcttcag atgaatgta agaaattacc aaaagtcgta atgaaccatt tcagcgalca 2040
gacataatag ccaaaaacag cttaaccgac acctggaaca aagacaaaga ttgggttttg 2100
aagatttgc cctacctga taaagattct cctcagtcag ctgattgtaa tcaggagata 2160

gcaacaagcc ataatatagt ctactgtggt ggagticctg ataaacaaat aactaataga 2220
aatacagtat catgggaaca atctttgttt tctaccacaa agccattati ttcacagga 2280
cagttctcta tgaaaaalca tgatactgct ataagtagtc atacagtga atctgtacta 2340
ggccagaatt ctaaactggc tgagccactg aggaaaagtt taagcaatcc cacaccigac 2400
tattgccatg acaagatgat tataatgttca gaggaagagc aaaataigga tctaacaag 2460
agccacactg ttgtcattgg atttggctct tctgaactac aagaacttgg taaaactaat 2520
ttagaacaca ctactggcca gctaacaaca atgaacagac agatagctgt aaaagtigaa 2580
aaatgiggta aaagtcccat agaaaaaagt ggagtgccta aatctaactg tattatggat 2640
gtgttagagg acgaaagigt acagaaacct aaatticcaa aggaaaagca aaatgtcaaa 2700
atttggggaa ggaaaagigt ttgtggacca aaaatigata agacgattgt atttccagaa 2760
gacgalaaga atgataigga taccactaag agttatacaa tagaaataaa ccatagactt 2820
tattagagaa acgtgattgt catttgggtgc cattggcagg aacttctgaa actattttat 2880
atacatgttg gcaggatgac atggagatca ctagaagtca cacaactgcc ttagaatgta 2940
aaactgtctc accagatgaa ataactacta ggcctatgga caaaactgta gtgtttgtag 3000
ataatcatgt tgaactagaa atgacagagt cccatactgt tttcattgac taccaagaaa 3060
aggaaagaac agacagacct aactttgaac tatcccaaag gaaaagccta ggaacacca 3120
cagtgalatg tactcctact gaggagagig tttctttcc aggaaatggt gaaagtgacc 3180
gtctagtagc aaatgacagc cagctaacc cctctggagga atggtctaat aataggggcc 3240
ctgtagaggt agctgataac atggaattgt ctaaactcag cactigcaaa aacatcaaag 3300
atgtacaaag tcttggattt ctgaatgaac ctctatcaag caaaagtcag agaagaaaa 3360
gccttaagct aaaaaatgac aagaccattg tattttcaga gaatcataaa aatgataigg 3420
atattacca gagttgtatg gtggaaatag ataacgaaag tgccttggag gataaagagg 3480
acttccattt ggcaggggct tctaaaacta tttgtattc atgtgggcag gatgacatgg 3540
agatcactag gagtcacaca actgccttag aatgtaaac tctcttcca aacgaaatag 3600
ctattaggcc catggacaaa accgtattgt tcacagataa ttacagtgat ctggaagtca 3660
ccgattccca tactgttttc attgactgtc aagccacaga gaaaatactt gaagaaaacc 3720
ctaaatttg aataggaaaa ggaaaaaact tgggtgttcc ctctcctaag gataatagct 3780
gtgttcaaga aatcgtgaa aaacaagcac tggctgtagg aaacaaaata gttcttcaca 3840
ccgagcaaaa gcaacaactc ttgtctgcta ctaatagaac tactaatgaa atcatcaaat 3900
ttcatagtc tgctatggat gaaaaggtca tagggaaagt tgtagaccag gccctgacat 3960

tggaaaaagc gcaagtigaa agctgtcagt taaataatag agatagaaga aatgtggact 4020
 ttacaagtag tcaigcaact gctgttttgig gatccagtga taattattcc tgtttagcaa 4080
 atgttatttc ctgtactgat aatttggagg gtagtgccat gctcttatgt gataaagatg 4140
 aggaaaaagc ccattattgc ccagtgcaaa atgatcttgc ttatgcaaat gatittgcca 4200
 gtgaatatta cttggaatct gagggacagc ctctctctgc tccttgcct tigttagaga 4260
 aggaagaagt tattcaaac agtaccaaag gacagttaga ctgtgttata acactgcaca 4320
 aagatcaaga tctgattaa gatccacgaa atctattggc taatcaaact ttagtatata 4380
 gtcaagatct gggggagatg actaaacta attcaaagcg agtatctttt aagcttccaa 4440
 aggatcaaat gaaagtctat gtgatgaca tttatgttat tcctcagcct catttcicaa 4500
 ccgaccaacc tccattacct aaaaaaggac agagtagtat caataaagaa gaagtaatac 4560
 tgtctaaagc tggaaataag agtttaaata ttatagaaaa ttccctcga ccataigtg 4620
 aaaacaagcc caaataactc aatagtgagg aatggtttgc tgcagcctgt aaaaaagaac 4680
 tgaaggaaaa tattcaaca actaactata atacagctct agattccac agtaactcag 4740
 acgtaactaa gcaagtcatt caaactcatg tcaatgctgg agaagcacca gatcctgtaa 4800
 ttacatctaa ttttccatgt tttcatagta tcaaaccaaa tctgaataat ttgaatggaa 4860
 aaactggaga gtttttagcc tttcaaactg tttcatctacc acccttcca gagcaattac 4920
 ttgaattagg aaataaggca cacaatgata tgcataatgt gcaagctaca gaaatacata 4980
 atattaacat aatctccagc aatgctaaag atagttagaga tgaggaaaaat aaaaagctc 5040
 ataatggagc tgaaccacc tctctaccgc caagacagt ttttaaagat aaagtaagga 5100
 gatgttcttt gggaatcttt ttgcttagat tgccaacaa gagaaattgt agtgtcacig 5160
 gtattgatga cctggaacag atccagcag acacaactga tataaatcac itagaaactc 5220
 agccggtctc tagcaaagat tcaggcattg gatcigtitgc aggtlaactg aacctaaagtc 5280
 ctttcaata tataaatgag gaaaatcttc ctgtatatcc tgatgagatc aattcttcag 5340
 actctattta catagaaact gaggaaaagg ccgtgggtac aagaagaaga agatattcat 5400
 aaggagaaaa aa 5412

<210> 2

<211> 887

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Met Asp Gly Val Ser Ser Glu Ala Asn Glu Glu Asn Asp Asn Ile Glu
 1 5 10 15

Arg Pro Val Arg Arg Arg His Ser Ser Ile Leu Lys Pro Pro Arg Ser
 20 25 30

Pro Leu Gln Asp Leu Arg Gly Gly Asn Glu Thr Val Gln Glu Ser Asn
 35 40 45

Ala Leu Arg Asn Lys Lys Asn Ser Arg Arg Val Ser Phe Ala Asp Thr
 50 55 60

Ile Lys Val Phe Gln Thr Glu Ser His Met Lys Ile Val Arg Lys Ser
 65 70 75 80

Glu Met Glu Glu Thr Glu Ala Gly Glu Asn Leu Leu Leu Ile Gln Asn
 85 90 95

Lys Lys Leu Glu Asp Asn Tyr Cys Glu Ile Thr Gly Met Asn Thr Leu
 100 105 110

Leu Ser Ala Pro Ile His Thr Gln Met Gln Gln Lys Glu Phe Ser Ile
 115 120 125

Ile Glu His Thr Arg Glu Arg Lys His Ala Asn Asp Gln Thr Val Ile
 130 135 140

Asn Pro Asp Ala Met Ser Ser Leu Thr Glu Lys Thr Ile Tyr Ser Gly
 465 470 475 480

Glu Glu Asn Met Asp Ile Thr Lys Ser His Thr Val Ala Ile Asp Asn
 485 490 495

Gln Ile Phe Lys Gln Asp Gln Ser Asn Val Gln Ile Ala Ala Ala Pro
 500 505 510

Thr Pro Glu Lys Glu Met Met Leu Gln Asn Leu Met Thr Thr Ser Glu
 515 520 525

Asp Gly Lys Met Asn Val Asn Cys Asn Ser Val Pro His Val Ser Lys
 530 535 540

Glu Arg Ile Gln Gln Ser Leu Ser Asn Pro Leu Ser Ile Ser Leu Thr
 545 550 555 560

Asp Arg Lys Thr Glu Leu Leu Ser Gly Glu Asn Thr Asp Leu Thr Glu
 565 570 575

Ser His Thr Ser Asn Leu Gly Ser Gln Val Pro Leu Ala Ala Tyr Asn
 580 585 590

Leu Ala Pro Glu Ser Thr Ser Glu Ser His Ser Gln Ser Lys Ser Ser
 595 600 605

Ser Asp Glu Cys Glu Glu Ile Thr Lys Ser Arg Asn Glu Pro Phe Gln
 610 615 620

Ser Pro Asp Glu Ile Thr Thr Arg Pro Met Asp Lys Thr Val Val Phe
 20 25 30

Val Asp Asn His Val Glu Leu Glu Met Thr Glu Ser His Thr Val Phe
 35 40 45

Ile Asp Tyr Gln Glu Lys Glu Arg Thr Asp Arg Pro Asn Phe Glu Leu
 50 55 60

Ser Gln Arg Lys Ser Leu Gly Thr Pro Thr Val Ile Cys Thr Pro Thr
 65 70 75 80

Glu Glu Ser Val Phe Phe Pro Gly Asn Gly Glu Ser Asp Arg Leu Val
 85 90 95

Ala Asn Asp Ser Gln Leu Thr Pro Leu Glu Glu Trp Ser Asn Asn Arg
 100 105 110

Gly Pro Val Glu Val Ala Asp Asn Met Glu Leu Ser Lys Ser Ala Thr
 115 120 125

Cys Lys Asn Ile Lys Asp Val Gln Ser Pro Gly Phe Leu Asn Glu Pro
 130 135 140

Leu Ser Ser Lys Ser Gln Arg Arg Lys Ser Leu Lys Leu Lys Asn Asp
 145 150 155 160

Lys Thr Ile Val Phe Ser Glu Asn His Lys Asn Asp Met Asp Ile Thr
 165 170 175

Gln Ser Cys Met Val Glu Ile Asp Asn Glu Ser Ala Leu Glu Asp Lys
180 185 190

Glu Asp Phe His Leu Ala Gly Ala Ser Lys Thr Ile Leu Tyr Ser Cys
195 200 205

Gly Gln Asp Asp Met Glu Ile Thr Arg Ser His Thr Thr Ala Leu Glu
210 215 220

Cys Lys Thr Leu Leu Pro Asn Glu Ile Ala Ile Arg Pro Met Asp Lys
225 230 235 240

Thr Val Leu Phe Thr Asp Asn Tyr Ser Asp Leu Glu Val Thr Asp Ser
245 250 255

His Thr Val Phe Ile Asp Cys Gln Ala Thr Glu Lys Ile Leu Glu Glu
260 265 270

Asn Pro Lys Phe Gly Ile Gly Lys Gly Lys Asn Leu Gly Val Ser Phe
275 280 285

Pro Lys Asp Asn Ser Cys Val Gln Glu Ile Ala Glu Lys Gln Ala Leu
290 295 300

Ala Val Gly Asn Lys Ile Val Leu His Thr Glu Gln Lys Gln Gln Leu
305 310 315 320

Phe Ala Ala Thr Asn Arg Thr Thr Asn Glu Ile Ile Lys Phe His Ser
325 330 335

Ala Ala Met Asp Glu Lys Val Ile Gly Lys Val Val Asp Gln Ala Cys
340 345 350

Thr Leu Glu Lys Ala Gln Val Glu Ser Cys Gln Leu Asn Asn Arg Asp
355 360 365

Arg Arg Asn Val Asp Phe Thr Ser Ser His Ala Thr Ala Val Cys Gly
370 375 380

Ser Ser Asp Asn Tyr Ser Cys Leu Ala Asn Val Ile Ser Cys Thr Asp
385 390 395 400

Asn Leu Glu Gly Ser Ala Met Leu Leu Cys Asp Lys Asp Glu Glu Lys
405 410 415

Ala His Tyr Cys Pro Val Gln Asn Asp Leu Ala Tyr Ala Asn Asp Phe
420 425 430

Ala Ser Glu Tyr Tyr Leu Glu Ser Glu Gly Gln Pro Leu Ser Ala Pro
435 440 445

Cys Pro Leu Leu Glu Lys Glu Glu Val Ile Gln Thr Ser Thr Lys Gly
450 455 460

Gln Leu Asp Cys Val Ile Thr Leu His Lys Asp Gln Asp Leu Ile Lys
465 470 475 480

Asp Pro Arg Asn Leu Leu Ala Asn Gln Thr Leu Val Tyr Ser Gln Asp
485 490 495

Leu Gly Glu Met Thr Lys Leu Asn Ser Lys Arg Val Ser Phe Lys Leu
 500 505 510

Pro Lys Asp Gln Met Lys Val Tyr Val Asp Asp Ile Tyr Val Ile Pro
 515 520 525

Gln Pro His Phe Ser Thr Asp Gln Pro Pro Leu Pro Lys Lys Gly Gln
 530 535 540

Ser Ser Ile Asn Lys Glu Glu Val Ile Leu Ser Lys Ala Gly Asn Lys
 545 550 555 560

Ser Leu Asn Ile Ile Glu Asn Ser Ser Ala Pro Ile Cys Glu Asn Lys
 565 570 575

Pro Lys Ile Leu Asn Ser Glu Glu Trp Phe Ala Ala Ala Cys Lys Lys
 580 585 590

Glu Leu Lys Glu Asn Ile Gln Thr Thr Asn Tyr Asn Thr Ala Leu Asp
 595 600 605

Phe His Ser Asn Ser Asp Val Thr Lys Gln Val Ile Gln Thr His Val
 610 615 620

Asn Ala Gly Glu Ala Pro Asp Pro Val Ile Thr Ser Asn Val Pro Cys
 625 630 635 640

Phe His Ser Ile Lys Pro Asn Leu Asn Asn Leu Asn Gly Lys Thr Gly
 645 650 655

Glu Phe Leu Ala Phe Gln Thr Val His Leu Pro Pro Leu Pro Glu Gln
660 665 670

Leu Leu Glu Leu Gly Asn Lys Ala His Asn Asp Met His Ile Val Gln
675 680 685

Ala Thr Glu Ile His Asn Ile Asn Ile Ile Ser Ser Asn Ala Lys Asp
690 695 700

Ser Arg Asp Glu Glu Asn Lys Lys Ser His Asn Gly Ala Glu Thr Thr
705 710 715 720

Ser Leu Pro Pro Lys Thr Val Phe Lys Asp Lys Val Arg Arg Cys Ser
725 730 735

Leu Gly Ile Phe Leu Pro Arg Leu Pro Asn Lys Arg Asn Cys Ser Val
740 745 750

Thr Gly Ile Asp Asp Leu Glu Gln Ile Pro Ala Asp Thr Thr Asp Ile
755 760 765

Asn His Leu Glu Thr Gln Pro Val Ser Ser Lys Asp Ser Gly Ile Gly
770 775 780

Ser Val Ala Gly Lys Leu Asn Leu Ser Pro Ser Gln Tyr Ile Asn Glu
785 790 795 800

Glu Asn Leu Pro Val Tyr Pro Asp Glu Ile Asn Ser Ser Asp Ser Ile
805 810 815

Tyr Ile Glu Thr Glu Glu Lys Ala Val Gly Thr Arg Arg Arg Arg Tyr
820 825 830

Ser

<210> 4

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Leu Leu Asp Asn Pro Ile Ser Glu Lys

1 5

<210> 5

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

Gly Leu Leu Asp Asn Pro Ile Ser Glu Lys

1 5 10

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

Asp Val Thr Thr Gly Tyr Gly Thr Lys

1 5

<210> 7

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 7

Ser Val Gly Gly Pro Lys Ile Asp Lys

1 5

<210> 8

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 8

Asp Val Leu Glu Ala Glu Ser Val Gln Lys

1 5 10

<210> 9

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 9

Gly Val Leu Asp Lys Gln Ile Thr Asn Arg

1 5 10

<210> 10

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 10

His Thr Glu Asp Ser Arg Met Lys Lys

1 5

<210> 11

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 11

Lys Ile Asp Phe Asn Asp Phe Ile Lys

1 5

<210> 12

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 12

Thr Ile Glu Ile Asn His Arg Leu Tyr

1

5

<210> 13

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 13

Val Leu Glu Asp Glu Ser Val Gln Lys

1

5

<210> 14

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 14

Thr Ser Glu Ser His Ser Gln Ser Lys

1

5

<210> 15

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 15

Leu Thr Asp Thr Trp Asn Lys Asp Lys

1

5

<210> 16

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 16

Ile Ile Glu His Thr Arg Glu Arg Lys

1

5

<210> 17

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 17

Pro Ser Glu Leu Gln Glu Leu Gly Lys

1

5

<210> 18

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 18

Cys Asn Asp Ala Met Glu Met Thr Lys

1 5

<210> 19

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 19

Gln Thr Glu Ser His Met Lys Ile Val Arg

1 5 10

<210> 20

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 20

Ser Ser Asp Glu Cys Glu Glu Ile Thr Lys

1 5 10

<210> 21

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 21

Ser Ser Glu Thr Asn Ser Arg Glu Ser Lys
1 5 10

<210> 22

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 22

Lys Ile Asp Phe Asn Asp Phe Ile Lys Arg
1 5 10

<210> 23

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 23

Ser Gly Glu Glu Asn Met Asp Ile Thr Lys
1 5 10

<210> 24

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 24

Ala Asn Glu Glu Asn Asp Asn Ile Glu Arg

1 5 10

<210> 25

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 25

Glu Thr Glu Ala Gly Glu Asn Leu Leu Leu

1 5 10

<210> 26

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 26

Ile Tyr Gly Asn Asp Phe Met Asp Leu

1 5

<210> 27

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 27

Asp Tyr Cys His Asp Lys Met Ile Ile

1 5

<210> 28

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 28

Asp Phe Asn Asp Phe Ile Lys Arg Leu

1 5

<210> 29

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 29

Thr Phe Asn His Thr Leu Gln Ile Leu

1 5

<210> 30

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 30

Phe Tyr Ser Ser Cys Asn Asp Ala Met

1 5

<210> 31

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 31

Lys Gln Asn Thr Ala Phe Gln Asp Leu

1 5

<210> 32

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 32

Lys Ser Asn Cys Ile Met Asp Val Leu

1 5

<210> 33

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 33

Ser Phe Ala Asp Thr Ile Lys Val Phe

1 5

<210> 34

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 34

Tyr Thr Ile Glu Ile Asn His Arg Leu

1 5

<210> 35

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 35

Leu Phe Ser Thr Thr Lys Pro Leu Phe

1 5

<210> 36

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 36

Ser Tyr Thr Ile Glu Ile Asn His Arg Leu

1 5 10

<210> 37

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 37

Ile Tyr Ser Gly Glu Glu Asn Met Asp Ile

1 5 10

<210> 38

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 38

Gly Phe Gly Pro Ser Glu Leu Gln Glu Leu

1 5 10

<210> 39

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 39

Ile Phe Ser Asp Glu Asn Gln Met Asp Leu

1 5 10

<210> 40

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 40

Arg Ile Gln Gln Ser Leu Ser Asn Pro Leu

1 5 10

<210> 41

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 41

Lys Pro Pro Arg Ser Pro Leu Gln Asp Leu

1 5 10

<210> 42

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 42

Lys Ser Val Leu Gly Gln Asn Ser Lys Leu

1 5 10

<210> 43

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 43

Lys Ser Pro Ile Glu Lys Ser Gly Val Leu

1 5 10

<210> 44

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 44

Lys Leu Ala Glu Pro Leu Arg Lys Ser Leu

1 5 10

<210> 45

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 45

Val Phe Lys Ser Lys Gln Asn Thr Ala Phe

1 5 10

<210> 46

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 46

Trp Val Leu Lys Ile Leu Pro Tyr Leu

1 5

<210> 47

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 47

Lys Met Asn Val Asn Cys Asn Ser Val

1 5

<210> 48

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 48

Leu Leu Leu Ile Gln Asn Lys Lys Leu

1

5

<210> 49

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 49

Ser Leu Thr Asp Arg Lys Thr Glu Leu

1

5

<210> 50

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 50

Ser Leu Phe Ser Thr Thr Lys Pro Leu

1

5

<210> 51

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 51

Met Met Leu Gln Asn Leu Met Thr Thr

1

5

<210> 52

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 52

Gln Met Gln Gln Lys Glu Phe Ser Ile

1

5

<210> 53

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 53

Leu Leu Ser Gly Glu Asn Thr Asp Leu

1

5

<210> 54

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 54

Ile Met Gly Ala Glu Thr His Ile Val

1 5

<210> 55

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 55

Phe Leu Ala Asn Leu Lys Leu His Thr

1 5

<210> 56

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 56

Thr Leu Leu Ser Ala Pro Ile His Thr

1 5

<210> 57

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 57

Lys Gln Ile Thr Asn Arg Asn Thr Val

1 5

<210> 58

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 58

Phe Gln Thr Glu Ser His Met Lys Ile

1 5

<210> 59

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 59

Lys Met Tyr Cys Asn Pro Asp Ala Met

1 5

<210> 60

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 60

Phe Met Asp Leu Thr Phe Asn His Thr

1 5

<210> 61

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 61

Lys Leu His Thr Glu Asp Ser Arg Met

1 5

<210> 62

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 62

Lys Leu Glu Asp Asn Tyr Cys Glu Ile

1 5

<210> 63

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 63

Asn Leu Gly Ser Gln Val Pro Leu Ala

1 5

<210> 64

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 64

Phe Gln Thr Glu Ser His Met Lys Ile Val

1 5 10

<210> 65

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 65

Phe Met Asp Leu Thr Phe Asn His Thr Leu

1 5 10

<210> 66

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 66

Asn Leu Leu Leu Ile Gln Asn Lys Lys Leu

1 5 10

<210> 67

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 67

Thr Met Asn Arg Gln Ile Ala Val Lys Val

1 5 10

<210> 68

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 68

Ser Leu Thr Asp Arg Lys Thr Glu Leu Leu

1 5 10

<210> 69

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 69

Val Ser Trp Glu Gln Ser Leu Phe Ser Thr

1 5 10

<210> 70

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 70

Gln Ile Phe Lys Gln Asp Gln Ser Asn Val

1 5 10

<210> 71

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 71

Thr Gln Met Gln Gln Lys Glu Phe Ser Ile

1 5 10

<210> 72

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 72

Ala Ile Ser Ser His Thr Val Lys Ser Val

1 5 10

<210> 73

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 73

Ser Leu Ser Asn Pro Leu Ser Ile Ser Leu

1 5 10

<210> 74

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 74

Asn Met Asp Leu Thr Lys Ser His Thr Val

1 5 10

<210> 75

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 75

Asn Met Asp Ile Thr Lys Ser His Thr Val

1 5 10

<210> 76

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 76

Gln Met Asp Leu Thr Ser Ser His Thr Val

1 5 10

<210> 77

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 77

Thr Ile Tyr Gly Asn Asp Phe Met Asp Leu

1 5 10

<210> 78

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 78

Ile Met Asp Val Leu Glu Asp Glu Ser Val

1 5 10

<210> 79

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 79

Asn Val Asn Cys Asn Ser Val Pro His Val

1 5 10

<210> 80

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 80

Ser Leu Ser Asn Pro Thr Pro Asp Tyr Cys

1 5 10

<210> 81

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 81

Asn Gln Met Asp Leu Thr Ser Ser His Thr

1 5 10

<210> 82

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 82

Ser Ile Leu Lys Pro Pro Arg Ser Pro Leu

1 5 10

<210> 83

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 83

Thr Val Met Ile Thr Lys Gly Leu Leu

1 5

<210> 84

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 84

Ser Val Leu Gly Gln Asn Ser Lys Leu

1 5

<210> 85

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 85

Gln Val Pro Leu Ala Ala Tyr Asn Leu

1 5

<210> 86

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 86

Val Ile Gly Phe Gly Pro Ser Glu Leu

1 5

<210> 87

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 87

Val Val Ile Gly Phe Gly Pro Ser Glu Leu

1 5 10

<210> 88

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 88

Pro Pro Arg Ser Pro Leu Gln Asp Leu

1 5

<210> 89

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 89

Ala Pro Thr Pro Glu Lys Glu Met Met Leu

1 5 10

<210> 90

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 90

Trp Asn Lys Asp Lys Asp Trp Val Leu

1 5

<210> 91

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 91

Asn Ser Arg Glu Ser Lys Gly Asn Asp Ile

1 5 10

<210> 92

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 92

Glu Arg Pro Val Arg Arg Arg His Ser

1 5

<210> 93

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 93

Glu Arg Pro Val Arg Arg Arg His Ser Ser

1 5 10

<210> 94

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 94

Cys Glu Ile Thr Gly Met Asn Thr Leu

1 5

<210> 95

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 95

Ser Glu Ile Glu Asn Gln Thr Gln Asn Ala

1 5 10

<210> 96

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 96

Cys Glu Ile Thr Gly Met Asn Thr Leu Leu

1 5 10

<210> 97

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 97

Ile Gln Gly Cys Lys Thr Val Phe Tyr

1 5

<210> 98

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 98

Ser Leu Ser Asn Pro Thr Pro Asp Tyr

1 5

<210> 99

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 99

Asn Leu Leu Lys His Asp Ser Asn Tyr

1 5

<210> 100

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 100

Asp Leu Arg Gly Gly Asn Glu Thr Val

1 5

<210> 101

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 101

Gln Ile Leu Pro Ala Thr Gly Asn Phe

1 5

<210> 102

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 102

Ile Gln Gln Ser Leu Ser Asn Pro Leu

1 5

<210> 103

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 103

Asp Ile Thr Ile Tyr Gly Asn Asp Phe

1 5

<210> 104

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 104

Arg Leu Lys Thr Gly Lys Cys Ser Ala Phe

1 5 10

<210> 105

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 105

Ile Gln Asn Lys Lys Leu Glu Asp Asn Tyr

1 5 10

<210> 106

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 106

Leu Gln Ile Leu Pro Ala Thr Gly Asn Phe

1 5 10

<210> 107

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 107

Ile Leu Ala Met Thr Pro Glu Ser Ile Tyr

1 5 10

<210> 108

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 111

Glu Ile Thr Lys Ser Arg Asn Glu Pro Phe

1 5 10

<210> 112

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 112

Ala Met Asp Glu Lys Val Ile Gly Lys

1 5

<210> 113

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 113

Lys Leu Met Ser Lys Arg Val Ser Phe Lys

1 5 10

<210> 114

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 114

Thr Val Phe Lys Asp Lys Val Arg Arg

1 5

<210> 115

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 115

Glu Val Ala Asp Asn Met Glu Leu Ser Lys

1 5 10

<210> 116

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 116

Ser Thr Asp Gln Pro Pro Leu Pro Lys

1 5

<210> 117

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 117

Val Ala Asp Asn Met Glu Leu Ser Lys

1 5

<210> 118

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 118

Ile Asn Glu Glu Asn Leu Pro Val Tyr

1 5

<210> 119

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 119

His Thr Glu Gln Lys Gln Gln Leu Phe

1 5

<210> 120

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 120

Ala Thr Glu Ile His Asn Ile Asn Ile

1 5

<210> 121

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 121

Phe Ile Asp Cys Gln Ala Thr Glu Lys

1 5

<210> 122

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 122

Ser Thr Asp Gln Pro Pro Leu Pro Lys Lys

1 5 10

<210> 123

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 123

Gln Leu Asp Cys Val Ile Thr Leu His Lys

1 5 10

<210> 124

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 124

Val Val Asp Gln Ala Cys Thr Leu Glu Lys

1 5 10

<210> 125

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 125

Gly Ala Glu Thr Thr Ser Leu Pro Pro Lys

1 5 10

<210> 126

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 126

Glu Thr Glu Glu Lys Ala Val Gly Thr Arg

1 5 10

<210> 127

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 127

His Leu Glu Thr Gln Pro Val Ser Ser Lys

1 5 10

<210> 128

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 128

Leu Ser Ala Pro Cys Pro Leu Leu Glu Lys

1 5 10

<210> 129

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 129

His Thr Glu Gln Lys Gln Gln Leu Phe Ala

1 5 10

<210> 130

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 130

His Tyr Cys Pro Val Gln Asn Asp Leu

1 5

<210> 131

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 131

Ile Tyr Val Ile Pro Gln Pro His Phe

1 5

<210> 132

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 132

Val Tyr Val Asp Asp Ile Tyr Val Ile

1 5

<210> 133

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 133

Asn Tyr Ser Cys Leu Ala Asn Val Ile

1 5

<210> 134

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 134

Val Phe Val Asp Asn His Val Glu Leu

1 5

<210> 135

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 135

Cys Phe His Ser Ile Lys Pro Asn Leu

1 5

<210> 136

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 136

Val Tyr Ser Gln Asp Leu Gly Glu Met

1 5

<210> 137

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 137

Leu Tyr Ser Cys Gly Gln Asp Asp Met

1 5

<210> 138

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 138

Leu Phe Thr Asp Asn Tyr Ser Asp Leu

1

5

<210> 139

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 139

His Phe Ser Thr Asp Gln Pro Pro Leu

1

5

<210> 140

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 140

Lys Val Val Asp Gln Ala Cys Thr Leu

1

5

<210> 141

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 141

Arg Asn Leu Leu Ala Asn Gln Thr Leu

1

5

<210> 142

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 142

Arg Leu Val Ala Asn Asp Ser Gln Leu

1

5

<210> 143

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 143

Lys Ala Gln Val Glu Ser Cys Gln Leu

1

5

<210> 144

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 144

Val Tyr Pro Asp Glu Ile Asn Ser Ser

1 5

<210> 145

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 145

Tyr Tyr Leu Glu Ser Glu Gly Gln Pro Leu

1 5 10

<210> 146

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 146

Lys Phe Gly Ile Gly Lys Gly Lys Asn Leu

1 5 10

<210> 147

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 147

Asn Phe Glu Leu Ser Gln Arg Lys Ser Leu

1 5 10

<210> 148

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 148

Glu Phe Leu Ala Phe Gln Thr Val His Leu

1 5 10

<210> 149

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 149

Ala Phe Gln Thr Val His Leu Pro Pro Leu

1 5 10

<210> 150

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 150

Trp Phe Ala Ala Ala Cys Lys Lys Glu Leu

1 5 10

<210> 151

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 151

Lys Ser Gln Arg Arg Lys Ser Leu Lys Leu

1 5 10

<210> 152

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 152

Lys Gly Gln Leu Asp Cys Val Ile Thr Leu

1 5 10

<210> 153

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 153

Lys Val Tyr Val Asp Asp Ile Tyr Val

1 5

<210> 154

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 154

Ile Leu Asn Ser Glu Glu Trp Phe Ala

1 5

<210> 155

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 155

Asn Leu Leu Ala Asn Gln Thr Leu Val

1 5

<210> 156

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 156

Lys Leu Pro Lys Asp Gln Met Lys Val

1 5

<210> 157

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 157

Ser Leu Gly Ile Phe Leu Pro Arg Leu

1 5

<210> 158

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 158

Tyr Ile Asn Glu Glu Asn Leu Pro Val

1 5

<210> 159

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 159

Phe Leu Ala Phe Gln Thr Val His Leu

1 5

<210> 160

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 160

Gly Gln Leu Asp Cys Val Ile Thr Leu

1 5

<210> 161

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 161

Gln Leu Leu Glu Leu Gly Asn Lys Ala

1 5

<210> 162

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 162

Thr Leu Leu Pro Asn Glu Ile Ala Ile

1 5

<210> 163

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 163

Ala Leu Ala Val Gly Asn Lys Ile Val

1 5

<210> 164

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 164

Gln Leu Phe Ala Ala Thr Asn Arg Thr

1 5

<210> 165

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 165

Phe Gln Thr Val His Leu Pro Pro Leu

1 5

<210> 166

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 166

Cys Leu Ala Asn Val Ile Ser Cys Thr

1 5

<210> 167

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 167

Val Ile Pro Gln Pro His Phe Ser Thr

1 5

<210> 168

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 168

Lys Ile Leu Asn Ser Glu Glu Trp Phe Ala

1 5 10

<210> 169

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 169

Val Leu Phe Thr Asp Asn Tyr Ser Asp Leu

1 5 10

<210> 170

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 170

Lys Leu Asn Leu Ser Pro Ser Gln Tyr Ile

1 5 10

<210> 171

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 171

Arg Pro Met Asp Lys Thr Val Val Phe Val

1 5 10

<210> 172

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 172

Ile Leu Asn Ser Glu Glu Trp Phe Ala Ala

1 5 10

<210> 173

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 173

Arg Leu Pro Asn Lys Arg Asn Cys Ser Val

1 5 10

<210> 174

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 174

Asn Leu Asn Gly Lys Thr Gly Glu Phe Leu

1 5 10

<210> 175

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 175

Ile Leu Ser Lys Ala Gly Asn Lys Ser Leu

1 5 10

<210> 176

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 176

Val Leu His Thr Glu Gln Lys Gln Gln Leu

1 5 10

<210> 177

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 177

Ala Leu Glu Asp Lys Glu Asp Phe His Leu

1 5 10

<210> 178

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 178

Ala Leu Asp Phe His Ser Asn Ser Asp Val

1 5 10

<210> 179

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 179

Ile Leu Glu Glu Asn Pro Lys Phe Gly Ile

1 5 10

<210> 180

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 180

Ala Met Asp Glu Lys Val Ile Gly Lys Val

1 5 10

<210> 181

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 181

Tyr Val Ile Pro Gln Pro His Phe Ser Thr

1 5 10

<210> 182

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 182

Ser Leu Gly Thr Pro Thr Val Ile Cys Thr

1 5 10

<210> 183

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 183

Leu Leu Cys Asp Lys Asp Glu Glu Lys Ala
1 5 10

<210> 184

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 184

Gln Leu Asn Asn Arg Asp Arg Arg Asn Val
1 5 10

<210> 185

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 185

Ile Leu Tyr Ser Cys Gly Gln Asp Asp Met
1 5 10

<210> 186

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 186

Glu Met Thr Glu Ser His Thr Val Phe Ile

1 5 10

<210> 187

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 187

Val Val Phe Val Asp Asn His Val Glu Leu

1 5 10

<210> 188

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 188

Lys Val Tyr Val Asp Asp Ile Tyr Val Ile

1 5 10

<210> 189

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 189

Val Ile Gln Thr Ser Thr Lys Gly Gln Leu

1 5 10

<210> 190

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 190

Val Ile Thr Leu His Lys Asp Gln Asp Leu

1 5 10

<210> 191

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 191

Ile Gln Thr Thr Asn Tyr Asn Thr Ala Leu

1 5 10

<210> 192

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 192

Leu Val Tyr Ser Gln Asp Leu Gly Glu Met

1 5 10

<210> 193

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 193

Leu Pro Pro Leu Pro Glu Gln Leu Leu

1 5

<210> 194

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 194

Gln Pro Leu Ser Ala Pro Cys Pro Leu Leu

1 5 10

<210> 195

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 195

Ser Gln Arg Arg Lys Ser Leu Lys Leu

1 5

<210> 196

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 196

Ser Ser Lys Ser Gln Arg Arg Lys Ser Leu

1 5 10

<210> 197

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 197

Ser Lys Ser Gln Arg Arg Lys Ser Leu

1 5

<210> 198

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 198

Asp Arg Leu Val Ala Asn Asp Ser Gln Leu

1 5 10

<210> 199

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 199

Val Glu Val Ala Asp Asn Met Glu Leu

1 5

<210> 200

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 200

Val Glu Ile Asp Asn Glu Ser Ala Leu

1 5

<210> 201

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 201

Gln Glu Ile Ala Glu Lys Gln Ala Leu

1 5

<210> 202

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 202

Met Glu Ile Thr Arg Ser His Thr Thr Ala

1 5 10

<210> 203

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 203

Gln Glu Ile Ala Glu Lys Gln Ala Leu Ala

1 5 10

<210> 204

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 204

Asn Glu Ile Ile Lys Phe His Ser Ala Ala

1 5 10

<210> 205

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 205

Leu Leu Ala Asn Gln Thr Leu Val Tyr

1 5

<210> 206

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 206

Asn Leu Asn Gly Lys Thr Gly Glu Phe

1 5

<210> 207

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 207

Lys Leu Asn Leu Ser Pro Ser Gln Tyr

1

5

<210> 208

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 208

Lys Leu Asn Ser Lys Arg Val Ser Phe

1

5

<210> 209

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 209

Lys Gly Lys Asn Leu Gly Val Ser Phe

1

5

<210> 210

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 210

Ser Gln Leu Thr Pro Leu Glu Glu Trp

1

5

<210> 211

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 211

Glu Gln Lys Gln Gln Leu Phe Ala Ala

1

5

<210> 212

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 212

Lys Ile Leu Glu Glu Asn Pro Lys Phe

1

5

<210> 213

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 213

Val Ile Thr Ser Asn Val Pro Cys Phe

1 5

<210> 214

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 214

Lys Leu Lys Asn Asp Lys Thr Ile Val Phe

1 5 10

<210> 215

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 215

Asn Leu Leu Ala Asn Gln Thr Leu Val Tyr

1 5 10

<210> 216

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 216

Lys Leu Pro Lys Asp Gln Met Lys Val Tyr

1 5 10

<210> 217

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 217

Asn Ile Lys Asp Val Gln Ser Pro Gly Phe

1 5 10

<210> 218

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 218

Ser Gln Arg Lys Ser Leu Gly Thr Pro Thr

1 5 10

<210> 219

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 219

Glu Gln Lys Gln Gln Leu Phe Ala Ala Thr

1 5 10

<210> 220

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 220

Tyr Ile Asn Glu Glu Asn Leu Pro Val Tyr

1 5 10

<210> 221

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 221

Asp Ile Tyr Val Ile Pro Gln Pro His Phe

1 5 10

<210> 222

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer MT194

<400> 222

gagtcctcgg tgtgaagctt ta

22

<210> 223

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer MT195

<400> 223

acagttgtgac ttgatgtcag gt

22

<210> 224

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Forward Primer
MT1149

<400> 224

cacatccagt gagacca

17

<210> 225

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Reverse Primer

MT152

<400> 225

tcacatcttc tgaatgt

17

<210> 226

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Forward Primer

MT227

<400> 226

caggaatcca atgcttgg

18

<210> 227

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Reverse Primer

MT188

<400> 227

ctgttcagg taagatc

17

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/07784

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 Int.Cl⁷ C07K7/06, 14/82, 16/32, 19/00, A61K38/00, 39/395, 45/00, A61P35/00, 37/04, 37/06, G01N33/15, 33/50

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ C07K7/06, 14/82, 16/32, 19/00, A61K38/00, 39/395, 45/00, A61P35/00, 37/04, 37/06, G01N33/15, 33/50

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JICST FILE (JOIS) SwissProt/PIR/GeneSeq MEDLINE (DIALOG)
 Genbank/EMBL/DDBJ/GeneSeq
 WPI (DIALOG) BIOSIS (DIALOG)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	S. HAYATTE, et al., AF15p14, a novel partner gene fused to the MLL gene in an acute myeloid leukaemia with at(11;15) (q23;q14). Oncogene, 07 September, 2000, Vol.19, pages 4445-4450	1-36, 41-51
Y	Gang WEI, et al., Chromosomal assignment of a novel human gene D40. Nucleic Acids Symposium Series, 1999, No.42, pages 71-72	1-36, 41-51
Y	Masato TAKIMOTO, et al., Isolation of cDNAs that cover the entire coding region of a novel human protein D40. Nucleic Acids Symposium Series, 1999, No,42, pages 69-70	1-36, 41-51

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
14 December, 2001 (14.12.01)

Date of mailing of the international search report
25 December, 2001 (25.12.01)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/07784

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

- 1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

- 2. Claims Nos.: 37-40
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

Concerning the "substance" as described in the above claims, it is completely unknown what particular substances are involved in the scope thereof and what are not, even though the statement in the description is taken into consideration. Thus, these claims are described in an extremely unclear manner. Such being the case, no meaningful international search can be made on these claims.

- 3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

- 1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

- 2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.

- 3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

- 4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

- Remark on Protest** The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
 No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ C07K7/06, 14/82, 16/32, 19/00, A61K38/00, 39/395, 45/00, A61P35/00, 37/04, 37/06, G01N33/15, 33/50

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ C07K7/06, 14/82, 16/32, 19/00, A61K38/00, 39/395, 45/00, A61P35/00, 37/04, 37/06, G01N33/15, 33/50

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用了電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

JIGSTファイル(JOIS) SwissProt/PIR/GeneSeq MEDLINE(DIALOG) Genbank/EMBL/DDBJ/GeneSeq
WPI(DIALOG) BIOSIS(DIALOG)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	S. HAYATTE, et al., <i>AF15p14</i> , a novel partner gene fused to the <i>MLL</i> gene in an acute myeloid leukaemia with a t(11;15)(q23;q14). <i>Oncogene</i> , 7. SEP. 2000, Vol. 19, p. 4445-4450	1-36, 41-51
Y	Gang WEI, et al., Chromosomal assignment of a novel human gene D40. <i>Nucleic Acids Symposium Series</i> , 1999, No. 42, p. 71-72	1-36, 41-51

C欄の続きにも文献が列挙されている。

パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
- 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
- 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
- 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
- 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

- 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
- 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
- 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
- 「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

14.12.01

国際調査報告の発送日

25.12.01

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)
郵便番号100-8915
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

小暮 道明



4B 9358

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	Masato TAKIMOTO, et al., Isolation of cDNAs that cover the entire coding region of a novel human protein D40. Nucleic Acids Symposium Series, 1999, No,42, p.69-70	1-36, 41-51

第Ⅰ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第1ページの2の続き）

法第8条第3項（PCT17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. 請求の範囲 _____ は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、
2. 請求の範囲 37-40 は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
上記請求の範囲に記載の「物質」について、明細書の記載を参酌しても、具体的にはどのようなものが包含され、どのようなものが包含されないのかが全く不明であるから、前記請求の範囲の記載は著しく不明確である。したがって、前記請求の範囲については、有意義な国際調査をすることができない。
3. 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第Ⅱ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

1. 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。