

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2004-502414

(P2004-502414A)

(43) 公表日 平成16年1月29日(2004.1.29)

(51) Int. Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/09	C 1 2 N 15/00	Z N A A
A 6 1 K 31/7088	A 6 1 K 31/7088	2 G O 4 5
A 6 1 K 38/00	A 6 1 K 48/00	4 B O 2 4
A 6 1 K 48/00	A 6 1 P 1/04	4 B O 6 3
A 6 1 P 1/04	A 6 1 P 1/16	4 B O 6 4
	審査請求 未請求 予備審査請求 有	4 B O 6 5
		(全 824 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2002-507839 (P2002-507839)	(71) 出願人	597018381
(86) (22) 出願日	平成13年6月29日 (2001. 6. 29)		ヒューマン ジノーム サイエンス、
(85) 翻訳文提出日	平成14年11月18日 (2002. 11. 18)		インコーポレイテッド
(86) 国際出願番号	PCT/US2001/020917		Human Genome Sciences, Inc.
(87) 国際公開番号	W02002/002587		アメリカ合衆国 メリーランド 20850, ロックビル, キー ウェスト アベニュー 9410
(87) 国際公開日	平成14年1月10日 (2002. 1. 10)		9410 Key West Avenue, Rockville, Maryland 20850, United States of America
(31) 優先権主張番号	60/215, 135	(74) 代理人	100118371
(32) 優先日	平成12年6月30日 (2000. 6. 30)		弁理士 ▲駒▼谷 剛志
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
(31) 優先権主張番号	60/225, 266		
(32) 優先日	平成12年8月14日 (2000. 8. 14)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 B 7 様ポリヌクレオチド、ポリペプチドおよび抗体

(57) 【要約】

本発明は、新規なヒト B 7 様ポリペプチドに関し、そしてこのようなポリペプチドをコードする遺伝子のコード領域を含む単離された核酸に関する。本発明はまた、ヒト B 7 様ポリペプチドを産生するためのベクター、宿主細胞、抗体、および組換え方法を提供する。本発明はさらに、これらの新規なヒト B 7 様ポリペプチドに関する障害を診断および処置するために有用な診断方法に関し、そして本発明はさらにこのような障害の治療方法に関する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

単離された核酸分子であって、以下：

(a) 配列番号 X に示されるポリヌクレオチド、または A T C C 受託番号 Z に含まれる c D N A によってコードされるポリヌクレオチド；

(b) 配列番号 Y の生物学的に活性なポリペプチドフラグメント、または A T C C 受託番号 Z に含まれる c D N A 配列によってコードされる生物学的に活性なポリペプチドフラグメントをコードする、ポリヌクレオチド；

(c) 配列番号 Y のポリペプチドエピトープ、または A T C C 受託番号 Z に含まれる c D N A 配列によってコードされるポリペプチドエピトープをコードする、ポリヌクレオチド

10

；
(d) (a) ~ (c) において特定されるポリヌクレオチドのいずれか 1 つに対してストリンジェントな条件下でハイブリダイズし得るポリヌクレオチドであって、ここで、該ポリヌクレオチドは、A 残基のみまたは T 残基のみのヌクレオチド配列を有する核酸分子に、ストリンジェントな条件下でハイブリダイズしない、ポリヌクレオチド、
からなる群より選択されるポリヌクレオチドを含む、単離された核酸分子。

【請求項 2】

前記ポリヌクレオチドが、可溶性ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む、請求項 1 に記載の単離された核酸分子。

【請求項 3】

前記ポリヌクレオチドが、配列番号 Y として同定される配列をコードするヌクレオチド配列、または A T C C 受託番号 Z に含まれる c D N A 配列によってコードされるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む、請求項 1 に記載の単離された核酸分子。

20

【請求項 4】

前記ポリヌクレオチドが、配列番号 X の全体のヌクレオチド配列、または A T C C 受託番号 Z に含まれる c D N A を含む、請求項 1 に記載の単離された核酸分子。

【請求項 5】

前記ポリヌクレオチドが D N A である、請求項 2 に記載の単離された核酸分子。

【請求項 6】

前記ポリヌクレオチドが R N A である、請求項 3 に記載の単離された核酸分子。

30

【請求項 7】

請求項 1 に記載の単離された核酸分子を含む、ベクター。

【請求項 8】

請求項 7 に記載のベクターを含む、宿主細胞。

【請求項 9】

遺伝子発現を制御する異種調節エレメントに作動可能に連結されている請求項 1 に記載の核酸分子を含む、組換え宿主細胞。

【請求項 10】

請求項 9 に記載の宿主細胞からコードされたポリペプチドを発現する工程、および該ポリペプチドを回収する工程を包含する、ポリペプチドの産生方法。

40

【請求項 11】

単離されたポリペプチドであって、以下：

(a) 配列番号 Y に示されるポリペプチド、または c D N A によってコードされるポリペプチド；

(b) 配列番号 Y のポリペプチドフラグメント、または c D N A によってコードされるポリペプチド；

(c) 配列番号 Y のポリペプチドエピトープ、または c D N A によってコードされるポリペプチド；および

(d) 配列番号 Y の改変体、

からなる群より選択される配列に少なくとも 95% 同一のアミノ酸配列を含む、単離され

50

たポリペプチド。

【請求項 1 2】

配列番号 Y を有するポリペプチドを含む、請求項 1 1 に記載の単離されたポリペプチド。

【請求項 1 3】

請求項 1 1 に記載の単離されたポリペプチドに特異的に結合する、単離された抗体。

【請求項 1 4】

請求項 1 1 に記載の単離されたポリペプチドを発現する、組換え宿主細胞。

【請求項 1 5】

単離されたポリペプチドを作製する方法であって、以下：

(a) 該ポリペプチドが発現されるような条件下で、請求項 1 4 に記載の組換え宿主細胞を培養する工程；および

(b) 該ポリペプチドを回収する工程、
を包含する、方法。

【請求項 1 6】

請求項 1 5 に記載の方法によって產生される、ポリペプチド。

【請求項 1 7】

医学的状态を予防、処置、または緩和する方法であって、請求項 1 に記載のポリヌクレオチドの治療有効量を、哺乳動物被験体に投与する工程を包含する、方法。

【請求項 1 8】

被験体における病理学的状態、または病理学的状態に対する感受性を診断する方法であって、以下：

(a) 請求項 1 に記載のポリヌクレオチドにおける変異の存在または非存在を決定する工程；および

(b) 該変異の存在または非存在に基づいて、病理学的状態または病理学的状態に対する感受性を診断する工程、
を包含する、方法。

【請求項 1 9】

被験体における病理学的状態、または病理学的状態に対する感受性を診断する方法であって、以下：

(a) 生物学的サンプルにおける請求項 1 1 に記載のポリペプチドの発現の存在または量を決定する工程；および

(b) 該ポリペプチドの発現の存在または量に基づいて、病理学的状態または病理学的状態に対する感受性を診断する工程、
を包含する、方法。

【請求項 2 0】

請求項 1 1 に記載のポリペプチドに対する結合パートナーを同定する方法であって、以下：

(a) 請求項 1 1 に記載のポリペプチドを結合パートナーと接触させる工程；および

(b) 該結合パートナーが該ポリペプチドの活性をもたらすか否かを決定する工程、
を包含する、方法。

【請求項 2 1】

請求項 1 1 に記載のポリペプチドの活性を改変する分子をスクリーニングする方法であって、以下：

(a) 該ポリペプチドを、アゴニスト活性またはアンタゴニスト活性を有すると疑われる化合物と接触させる工程；および

(b) 該ポリペプチドの活性をアッセイする工程；
を包含する、方法。

【請求項 2 2】

医学的状态を予防、処置、または緩和する方法であって、請求項 1 1 に記載のポリペプチドの治療有効量を、哺乳動物被験体に投与する工程を包含する、方法。

10

20

30

40

50

【発明の詳細な説明】

【0001】

(発明の分野)

本発明は、新規B7様タンパク質に関する。より詳細には、新規B7様ポリペプチドをコードする単離された核酸分子が提供される。新規B7様ポリペプチドおよびこれのポリペプチドに結合する抗体が、提供される。ヒトB7様ポリヌクレオチドおよび/またはポリペプチドを産生するための、ベクター、宿主細胞、ならびに組換え方法および合成方法もまた、提供される。本発明はさらに、これらの新規B7様ポリペプチドに関連する障害の診断、処置、予防、および/または予後のために有用な診断方法および治療方法に関する。本発明はさらに、本発明のポリヌクレオチドおよびポリペプチドのアゴニストおよびアンタゴニストを同定するためのスクリーニング方法に関する。本発明はさらに、本発明のポリペプチドの産生および機能を阻害するための方法および/または組成物に関する。

10

【0002】

(発明の背景)

B7ファミリーリガンドとそのレセプターとの間の同時刺激相互作用は、T細胞の増殖、分化および死に重要な役割を果たしている。特異的抗体またはその天然のリガンド(B7-1およびB7-2)のいずれかによるT細胞同時刺激因子CD28の関与は、CD4+ T細胞の抗原特異的増殖を増加し、サイトカイン産生を増強し、CD8+エフェクターT細胞の成熟を誘導し、そしてT細胞生存を促進する(Chambers, C.A.ら, Curr. Opin. Immunol., 9:396-404(1997); Lenschow, D.J.ら, Annu. Rev. Immunol., 14:233-58(1996); Chen, L.ら, Immunol. Today, 14:483-86(1993); Boise, L.H.ら, Curr. Opin. Immunol., 7:620-25(1995))。しかし、活性化T細胞に対するB7-1およびB7-2の相同性CTLA-4レセプターを介したシグナル伝達は、T細胞増殖、IL-2産生、および細胞周期進行を阻害するネガティブなシグナルを送達すると考えられている(Krummel, M.F.ら, J. Exp. Med., 183:2533-540(1996); Walunas, T.L.ら, J. Exp. Med., 183:2541-550(1996))。

20

【0003】

B7-1およびB7-2は、アミノ酸レベルで約20%の相同性を共有するが、これら2つのタンパク質は、類似の三次構造および同時刺激機能を共有する(Peach, R.J.ら, J. Biol. Chem., 270:21181-187(1995); Fargeas, C.A.ら, J. Exp. Med., 182:667-75(1995); Bajorath, J.ら, Protein Sci., 3:2148-150(1994); Guo, Y.ら, Mol. Immunol., 35:215-25(1998))。

30

【0004】

近年の研究によって、B7-CD28ファミリーのタンパク質の他のメンバーもまた、細胞性免疫応答および体液性免疫応答の調節に関与し得ることが示されている。新規メンバーのうちの1つは、誘導性同時刺激因子(ICOS)、CD28様レセプターである(Hutloff, A.ら, Nature, 397:263-66(1999))。ICOSに対する天然のリガンドは未だ同定されていないが、ICOSに対するF44モノクローナル抗体(mAb)は、T細胞増殖を同時刺激し、そしていくつかのサイトカイン(IL-10、IFN-、およびIL-4を含むが、IL-2は含まない)の分泌を増加する(Hutloff, A.ら, Nature, 397:263-66(1999))。

40

【0005】

別の新規B7ファミリーのメンバーは、Swallowおよび共同研究者によって同定されたマウスB7hである(Swallow, M.M.ら, Immunity, 11:423-32(1999))。B7hは、CD28およびCTLA-4に結合せず、そして抗

50

原性シグナルの存在下でT細胞増殖を同時刺激し得る。B7hの表面発現は、3T3線維芽細胞株においてTNF- α によってアップレギュレートされ得、そしてB7h mRNAの増加はまた、LPSに曝露された非リンパ性組織中で観察される(Swallow, M.M.ら, Immunity, 11:423-32(1999))。

【0006】

ヒトB7ファミリーのタンパク質のさらなる近年報告された新規メンバーは、B7-H1(Dong, H.ら, Nature Med., 5:1365-69(1999))である。B7-H1は、IgV様細胞外ドメインおよびIgC様細胞外ドメインにおいてB7-1およびB7-2と約20%の同一なアミノ酸配列を共有するが、細胞質ドメインがB7-1およびB7-2とかなり大きく異なる。B7-H1の表面発現は、多数の活性化CD14+マクロファージ、および活性化T細胞の分画に検出され得る。B7-H1は、次善用量の抗CD3 mAbの存在下でT細胞応答を同時刺激し、同種混合リンパ球応答を増強し、そしてT細胞からのIL-10分泌を優先的に誘導する(Dong, H.ら, Nature Med., 5:1365-69(1999))。

10

【0007】

体内の特定の細胞(例えば、T細胞)の活性化は、炎症応答の開始をもたらし、炎症を引き起し得る。赤熱状態、膨大、熱、および疼痛によって特徴付けられる炎症は、組織傷害または感染後に生じる必須の免疫応答である。初期事象は、増加した局所血流、血液凝固、および脈管浸透性を生じる複雑なシグナル伝達カスケードを誘発する。これら急性の変化は、損傷部位または感染部位への食作用白血球の漸増を促進する。一旦患部において、免疫細胞は、病原体を中和し始め、そして組織修復に寄与し得る。

20

【0008】

炎症性応答に関与する多くのタンパク質クラスの間には、血液凝固因子、血管拡張物質(例えば、ヒスタミンおよびブラジキニン)、細胞接着分子、サイトカイン(例えば、インターロイキンおよびサイトカイン)、免疫系エフェクター細胞(例えば、好中球、マクロファージ、およびリンパ球)がある。

【0009】

炎症性応答は、外来物質による感染に対する重要な防御機構であるが、炎症の不適切な活性化または過剰な活性化は、組織損傷を導き得、死さえも導き得る。炎症から生じる医学的状态としては、炎症性腸疾患、多発性硬化症、関節炎、喘息、アレルギー、類肉腫症、敗血症性ショック、胃腸癌、膵炎、皮膚炎、痛風、全身性エリテマトーデス、およびグレーブズ病が挙げられるが、これらに限定されない。炎症はまた、心肺バイパス手術、腎虚血-再灌流、および外傷性損傷の潜在的に生命を脅かす合併症でもある。

30

【0010】

いくつかのステロイド性薬物および非ステロイド性薬物が使用されて、炎症を制御するか、または症状の軽減を提供している。しかし、これらの治療剤は、その有用性を制限する多数の副作用を伴ない得る。従って、炎症性応答を調節するためのより効果的かつより少ない毒性代替物についての必要性が引続き存在する。

【0011】

従って、T細胞の同時刺激に関与するポリペプチドについてのさらなる必要性が存在する。なぜなら、このような調節の攪乱は、免疫系に関連する障害および/または炎症性障害に関与し得るからである。従って、このような障害の検出、予防、改善、または補正に役割を果たし得るこのようなヒトポリペプチドおよびそのアンタゴニストの同定および特徴付けについての必要性がある。

40

【0012】

(発明の要旨)

本発明は、配列表に開示され、そして/または表1に記載されかつAmerican Type Culture Collection(ATCC)に寄託されたヒトcDNAプラスミドに含まれる、ポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはそれらからなる単離された核酸分子を含む。これらの核酸分子のフラグメント、改変体、および誘導体もまた、

50

本発明に含まれる。本発明はまた、B7様ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含むか、あるいはこれらからなる単離された核酸分子を含む。本発明は、これらのポリヌクレオチドによってコードされるB7様ポリペプチドをさらに含む。配列表に開示され、そして/または表1に記載されかつATCCに寄託されたヒトcDNAプラスミドによってコードされるようなB7様ポリペプチドを含むか、あるいはこれらからなるアミノ酸配列が、さらに提供される。これらのポリペプチドに結合する抗体もまた、本発明に含まれる。これらのアミノ酸配列のポリペプチドのフラグメント、改変体、および誘導體もまた、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドおよびこれらのポリペプチドを結合する抗体と同様に、本発明に含まれる。

【0013】

10

(詳細な説明)

(表)

表1は、本願に関連してATCCで成された寄託物のATCC寄託物、寄託日、およびATCC受託番号を要約する。表1はさらに、以下に記載される各「遺伝子番号」に属する情報を要約し、この情報には、cDNAプラスミド識別子、そのcDNAプラスミド識別子に含まれるベクターの型、ヌクレオチド配列の識別子番号、開示された配列中に含まれるヌクレオチド、開示された配列の開始コドンの5'ヌクレオチド位置、アミノ酸配列の識別子番号、および開示された配列によってコードされるORFの最後のアミノ酸が挙げられる。

【0014】

20

表2は、公開されたESTを示し、これらの公開されたEST配列のいずれか1つ以上内の少なくとも1、2、3、4、5、10、またはそれより多くは、必要に応じて本発明の特定の実施形態から除外される。

【0015】

表3は、B7-H8タンパク質のアミノ酸分析に関連する図2についての表データを示す。領域、領域、ターン領域およびコイル領域；親水性領域および疎水性領域；両親媒性領域；可撓性領域(flexible region)；抗原性指標(antigenic index)および表面可能性(surface probability)が示され、そしてこれら全ては、引用されるコンピューターアルゴリズムのデフォルト設定を用いて作製された。これらのグラフによって規定されるドメインを含むか、あるいはこれらからなるポリペプチドが、本発明によって意図され、同様に、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドも意図される。

30

【0016】

表4は、B7-H7タンパク質のアミノ酸分析に関連する図4についての表データを示す。領域、領域、ターン領域およびコイル領域；親水性領域および疎水性領域；両親媒性領域；可撓性領域；抗原性指標および表面可能性が示され、そしてこれら全ては、引用されるコンピューターアルゴリズムのデフォルト設定を用いて作製された。これらのグラフによって規定されるドメインを含むか、あるいはこれらからなるポリペプチドが、本発明によって意図され、同様に、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドも意図される。

40

【0017】

表5は、B7-H9タンパク質のアミノ酸分析に関連する図6についての表データを示す。領域、領域、ターン領域およびコイル領域；親水性領域および疎水性領域；両親媒性領域；可撓性領域；抗原性指標および表面可能性が示され、そしてこれら全ては、引用されるコンピューターアルゴリズムのデフォルト設定を用いて作製された。これらのグラフによって規定されるドメインを含むか、あるいはこれらからなるポリペプチドが、本発明によって意図され、同様に、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドも意図される。

【0018】

表6は、B7-H11タンパク質のアミノ酸分析に関連する図8についての表データを示

50

す。領域、領域、ターン領域およびコイル領域；親水性領域および疎水性領域；両親媒性領域；可撓性領域；抗原性指標および表面可能性が示され、そしてこれら全ては、引用されるコンピュータアルゴリズムのデフォルト設定を用いて作製された。これらのグラフによって規定されるドメインを含むか、あるいはこれらからなるポリペプチドが、本発明によって意図され、同様に、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドも意図される。

【0019】

表7は、B7-H10タンパク質のアミノ酸分析に関連する図10についての表データを示す。領域、領域、ターン領域およびコイル領域；親水性領域および疎水性領域；両親媒性領域；可撓性領域；抗原性指標および表面可能性が示され、そしてこれら全ては、引用されるコンピュータアルゴリズムのデフォルト設定を用いて作製された。これらのグラフによって規定されるドメインを含むか、あるいはこれらからなるポリペプチドが、本発明によって意図され、同様に、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドも意図される。

10

【0020】

表8は、B7-H12タンパク質のアミノ酸分析に関連する図12についての表データを示す。領域、領域、ターン領域およびコイル領域；親水性領域および疎水性領域；両親媒性領域；可撓性領域；抗原性指標および表面可能性が示され、そしてこれら全ては、引用されるコンピュータアルゴリズムのデフォルト設定を用いて作製された。これらのグラフによって規定されるドメインを含むか、あるいはこれらからなるポリペプチドが、本発明によって意図され、同様に、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドも意図される。

20

【0021】

表9は、B7-H13タンパク質のアミノ酸分析に関連する図14についての表データを示す。領域、領域、ターン領域およびコイル領域；親水性領域および疎水性領域；両親媒性領域；可撓性領域；抗原性指標および表面可能性が示され、そしてこれら全ては、引用されるコンピュータアルゴリズムのデフォルト設定を用いて作製された。これらのグラフによって規定されるドメインを含むか、あるいはこれらからなるポリペプチドが、本発明によって意図され、同様に、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドも意図される。

30

【0022】

表10は、表1に開示されるクローンに対応するポリヌクレオチドの発現プロフィールを要約する。第1列は、表1に開示される各コンティグ配列に関連するcDNAクローンについて、特有のクローン識別子「cDNAプラスミドV」を提供する。列2、「ライブラリーコード」は、本発明のポリヌクレオチドを発現する組織および/または細胞株ライブラリーの発現プロフィールを示す。列2の各ライブラリーコードは、表12において提供されるライブラリーコードおよびライブラリーの説明に対応する組織/細胞供給源の識別子コードを表す。これらのポリヌクレオチドの発現は、試験される他の組織および/または細胞ライブラリーにおいて観察されなかった。当業者は、本発明の対応するポリヌクレオチドの顕著な発現パターンを示す組織を同定するためか、または顕著なおよび/もしくは特異的な組織の発現を示すポリヌクレオチドを同定するために、この情報を慣用的に使用し得る。

40

【0023】

表11の第1列は、表1の第5列に開示されるヌクレオチド配列番号Xと一致する、ヌクレオチド配列識別子「配列番号X」を提供する。表11の第2列は、配列番号Xに対応するポリヌクレオチドの染色体位置「細胞学的バンドまたは染色体」を提供する。染色体位置は、ESTおよびNCBI(National Center for Biotechnology Information)UniGeneデータベースに含まれるcDNA配列に対して正確な一致を見出すことによって決定された。

【0024】

50

表12の第1列は、表10の第2列に開示されるライブラリーコードを提供する。第2列は、対応するライブラリーが誘導された組織供給源または細胞供給源の説明を提供する。疾患組織に対応するライブラリーコードは、第3列に用語「疾患」で示される。第3列における用語「疾患」の使用は、非限定である。ライブラリーの組織供給源は、特異的であるか（例えば、新生物）、または疾患関連（例えば、疾患器官の正常な部分由来の組織サンプル）であり得る。さらに、「疾患」の明示を欠くライブラリーはなおも、疾患状態または障害に直接的または間接的に関与する供給源から誘導され得、従って、それらの疾患状態または障害におけるさらなる有用性を有し得る。

【0025】

（定義）

以下の定義は、本明細書全体を通して使用される特定の用語の理解を容易にするために提供される。

【0026】

本発明において、「単離された（単離した）」とは、その本来の環境（例えば、それが天然に存在する場合は天然の環境）から取り出された物質をいい、したがって、その天然の状態から「人間の手によって」変更されている。例えば、単離されたポリヌクレオチドは、ベクターまたは組成物の一部であり得るか、あるいは細胞中に含まれ得、そしてなお「単離されている」状態であり得る。なぜなら、そのベクター、組成物、または特定の細胞は、そのポリヌクレオチドの本来の環境ではないからである。用語「単離された」は、ゲノムライブラリーまたはcDNAライブラリー、細胞全体の総RNA調製物またはmRNA調製物、ゲノムDNA調製物（電気泳動により分離され、そしてプロットへトランスファーされたものを含む）、切断された細胞全体のゲノムDNA調製物も、本発明のポリヌクレオチド/配列の識別する特徴がないことが当該分野で示されている他の組成物もいわない。

【0027】

本明細書中で使用される場合、「ポリヌクレオチド」とは、（表1の第5列に記載にされる）配列番号Xに含まれる核酸配列を有する分子、または（表1の第2列に記載され、そしてATCC受託番号ZでATCCに寄託されたプラスミドのプール内に含まれる）cDNAプラスミドVをいう。例えば、このポリヌクレオチドは、5'および3'非翻訳配列、天然または人工のシグナル配列を伴うかまたは伴わないコード領域、タンパク質コード領域、ならびにこの核酸配列のフラグメント、エピトープ、ドメイン、および改変体を含む、全長cDNA配列のヌクレオチド配列を含み得る。さらに、本明細書で使用される場合、「ポリペプチド」とは、広く定義される本発明のポリヌクレオチド（cDNAに対応する配列のポリAテールの翻訳から生じるポリフェニルアラニンペプチド配列もポリリジンペプチド配列も明らかに除く）によってコードされるアミノ酸配列を有する分子をいう。

【0028】

本発明では、配列番号Xの配列を含む代表的プラスミドが、American Type Culture Collection（「ATCC」）に寄託され、そして/また表1に記載されている。表1に示すように、各プラスミドは、cDNAクローン識別子およびATCC受託番号（ATCC受託番号Z）によって同定される。単一の寄託物としてプールし、そして寄託したプラスミドは、同じATCC受託番号を有する。ATCCは、10801 University Boulevard, Manassas, Virginia 20110-2209, USAに位置する。ATCC寄託は、特許手続上の微生物の寄託の国際的承認に関するブダペスト条約の条項に拠って行われた。

【0029】

本発明の「ポリヌクレオチド」はまた、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で、配列番号Xに含まれる配列、またはその相補体（例えば、本明細書中に記載されるポリヌクレオチドフラグメントのうちのいずれか1つ、2つ、3つ、4つ以上の相補体）、および/またはcDNAプラスミドVに含まれる配列（例えば、本明細書中に記載され

10

20

30

40

50

るポリヌクレオチドフラグメントのうちのいずれか1つ、2つ、3つ、4つ以上の相補体)にハイブリダイズし得るポリヌクレオチドを含む。「ストリンジेंटなハイブリダイゼーション条件」とは、50%ホルムアミド、5×SSC(750mM NaCl、75mMクエン酸三ナトリウム)、50mMリン酸ナトリウム(pH7.6)、5×デンハルト溶液、10%デキストラン硫酸、および20μg/ml変性剪断サケ精子DNAを含む溶液中での42℃での一晩のインキュベーション、続いて0.1×SSC中で約65℃にてフィルターを洗浄することをいう。

【0030】

本発明の「ポリヌクレオチド」には、より低いストリンジエンシーのハイブリダイゼーション条件で本発明のポリヌクレオチドにハイブリダイズする核酸分子もまた含まれる。ハイブリダイゼーションのストリンジエンシーおよびシグナル検出の変更は、主として、ホルムアミド濃度(より低い百分率のホルムアミドが、低下したストリンジエンシーを生じる);塩条件、または温度の操作を通じて達成される。例えば、より低いストリンジエンシー条件は、6×SSPE(20×SSPE=3M NaCl;0.2M NaH₂PO₄;0.02M EDTA、pH7.4)、0.5% SDS、30%ホルムアミド、100μg/mlサケ精子プロッキングDNAを含む溶液中、37℃で一晩のインキュベーション;次いで1×SSPE、0.1% SDSを用いた50℃での洗浄を含む。さらに、さらにより低いストリンジエンシーを達成するために、ストリンジेंटなハイブリダイゼーション後に行われる洗浄は、より高い塩濃度(例えば、5×SSC)で行われ得る。

10

20

【0031】

上記の条件におけるバリエーションが、ハイブリダイゼーション実験においてバックグラウンドを抑制するために使用される代替的なプロッキング試薬の含有および/または置換によって達成され得ることに留意のこと。代表的なプロッキング試薬としては、デンハルト試薬、BLOTTO、ヘパリン、変性サケ精子DNA、および市販の専売処方物が挙げられる。特異的なプロッキング試薬の含有は、適合性の問題に起因して、上記のハイブリダイゼーション条件の変更を必要とし得る。

【0032】

もちろん、ポリA+配列(例えば、配列表に示されるcDNAの任意の3'末端ポリA+領域(tract))に、またはT(もしくはU)残基の相補的ストレッチにのみハイブリダイズするポリヌクレオチドは、「ポリヌクレオチド」の定義に包含されない。なぜなら、このようなポリヌクレオチドは、ポリ(A)ストレッチまたはその相補体を含む任意の核酸分子(例えば、プライマーとしてオリゴdTを用いて生成される、事実上任意の二本鎖cDNAクローン)にハイブリダイズするからである。

30

【0033】

本発明のポリヌクレオチドは、任意のポリリボヌクレオチドまたはポリデオキシリボヌクレオチドから構成され得、これは、非改変RNAもしくは非改変DNAまたは改変RNAもしくは改変DNAであり得る。例えば、ポリヌクレオチドは、一本鎖および二本鎖のDNA、一本鎖領域と二本鎖領域との混合物であるDNA、一本鎖および二本鎖のRNA、ならびに一本鎖領域と二本鎖領域との混合物であるRNA、一本鎖、またはより代表的には二本鎖もしくは一本鎖領域と二本鎖領域との混合物であり得るDNAおよびRNAを含むハイブリッド分子から構成され得る。さらに、このポリヌクレオチドは、RNAもしくはDNAまたはRNAおよびDNAの両方を含む、三本鎖領域から構成され得る。ポリヌクレオチドはまた、安定性のために、または他の理由のために改変された、1つ以上の改変された塩基またはDNA骨格もしくはRNA骨格を含み得る。「改変された」塩基としては、例えば、トリチル化された塩基およびイノシンのような普通でない塩基が挙げられる。種々の改変が、DNAおよびRNAに対して行われ得;したがって、「ポリヌクレオチド」は、化学的、酵素的、または代謝的に改変された形態を含む。

40

【0034】

特定の実施形態においては、本発明のポリヌクレオチドは、少なくとも15の、少なくとも

50

も30の、少なくとも50の、少なくとも100の、少なくとも125の、少なくとも500の、または少なくとも1000の連続するヌクレオチドであるが、300kb未満、200kb未満、100kb未満、50kb未満、15kb未満、10kb未満、7.5kb未満、5kb未満、2.5kb未満、2.0kb未満、または1kb未満の長さである。さらなる実施形態においては、本発明のポリヌクレオチドは、本明細書中に開示されたコード配列の一部を含むが、任意のイントロンの全てまたは一部を含むわけではない。別の実施形態においては、コード配列を含むポリヌクレオチドは、ゲノム隣接遺伝子のコード配列（すなわち、ゲノムにおける目的の遺伝子に対する5'または3'）を含まない。他の実施形態において、本発明のポリヌクレオチドは、1000、500、250、100、50、25、20、15、10、5、4、3、2または1以上のゲノム隣接遺伝子のコード配列を含まない。

【0035】

「配列番号X」とは、表1の5列目に記載されるポリヌクレオチド配列をいい、一方が、「配列番号Y」とは、表1の10列目に記載されるポリペプチド配列をいう。配列番号Xは、表1の6列目において特定される整数によって同定される。配列番号Yのポリペプチド配列は、配列番号Xのポリヌクレオチドによってコードされる翻訳されたオープンリーディングフレーム（ORF）である。ポリヌクレオチド配列は、配列リストに示され、直後に全てのポリペプチド配列が続く。従って、配列番号2のポリヌクレオチド配列に対応するポリペプチド配列は、配列リストに示される第1のポリペプチド配列である。第2のポリペプチド配列は、配列番号3などとして示されるポリヌクレオチド配列に対応する。

【0036】

本発明のポリペプチドは、ペプチド結合または改変されたペプチド結合、すなわち、ペプチドアイソスター（isostere）によって互いに連結したアミノ酸から構成され得、そして遺伝子がコードする20個のアミノ酸以外のアミノ酸を含み得る。ポリペプチドは、翻訳後プロセッシングのような天然のプロセスによって、または当該技術分野で周知の化学的改変技術のいずれかによって、改変され得る。このような改変は、基本テキスト、およびより詳細な研究論文、ならびに多くの研究文献に十分に記載される。改変は、ペプチド骨格、アミノ酸側鎖、およびアミノ末端またはカルボキシル末端、を含むポリペプチドのどこにでも生じ得る。同じ型の改変が、所定のポリペプチド中のいくつかの部位で、同じまたは種々の程度で存在し得ることが理解される。また、所定のポリペプチドは多くの型の改変を含み得る。ポリペプチドは、例えば、ユビキチン化の結果として分枝状であり得、そしてそのポリペプチドは、分枝を含むかまたは含まない、環状であり得る。環状、分枝状および分枝した環状のポリペプチドは、天然の翻訳後プロセスから生じ得るか、または合成方法によって作製され得る。改変としては、アセチル化、アシル化、ADP-リボシル化、アミド化、フラビンの共有結合、ヘム部分の共有結合、ヌクレオチドまたはヌクレオチド誘導体の共有結合、脂質または脂質誘導体の共有結合、ホスファチジルイノシトール（phosphatidylinositol）の共有結合、架橋、環化、ジスルフィド結合形成、脱メチル化、共有結合架橋の形成、システインの形成、ピログルタミン酸の形成、ホルミル化、 α -カルボキシル化、グリコシル化、GPIアンカー形成、水酸化、ヨウ素化、メチル化、ミリストイル化、酸化、ペグ化（pegylation）、タンパク質分解プロセッシング、リン酸化、プレニル化、ラセミ化、セレノイル化、硫酸化、アルギニル化のようなタンパク質へのアミノ酸のトランスファーRNA媒介付加、およびユビキチン化が挙げられる。（例えば、PROTEINS - STRUCTURE AND MOLECULAR PROPERTIES、第2版、T. E. Creighton、W. H. Freeman and Company、New York（1993）；POSTTRANSLATIONAL COVALENT MODIFICATION OF PROTEINS、B. C. Johnson編、Academic Press、New York、1-12頁（1983）；Seifterら、Meth Enzymol. 182: 626-646（1990）；Rattanら、Ann. N. Y. Acad. Sci. 663: 48-62（1992）を参照のこと）。

【0037】

本発明のポリペプチドは、任意の適切な様式で調製され得る。そのようなポリペプチドとしては、単離された天然に存在するポリペプチド、組換え的に生成されたポリペプチド、合成的に生成されたポリペプチド、またはこれらの方法の組み合わせによって生成されたポリペプチドが挙げられる。このようなポリペプチドを調製するための手段は、当該分野において十分に理解されている。

【0038】

ポリペプチドは、分泌タンパク質の形態（成熟形態を含む）であり得るか、またはより大きなタンパク質（例えば、融合タンパク質）の一部であり得る（下記を参照のこと）。分泌配列またはリーダー配列、プロ配列、精製において補助する配列（例えば、多重のヒスチジン残基）、または組換え生成の間の安定性のためのさらなる配列を含むさらなるアミノ酸配列を含むことは、しばしば有利である。

10

【0039】

本発明のポリペプチドは、好ましくは単離された形態で提供され、そして好ましくは実質的に精製される。ポリペプチドの組換え的に生成されたバージョン（分泌ポリペプチドを含む）は、本明細書中で記載される技術か、または当該分野で別の公知の技術を使用して（例えば、SmithおよびJohnson（Gene 67:31-40（1988））により記載される1工程方法によって）、実質的に精製され得る。本発明のポリペプチドはまた、本明細書中で記載される技術、または当該分野における他の周知の方法を使用して（例えば、当該分野で周知の方法で本発明のポリペプチドに対して惹起された本発明の抗体を使用することによって）、天然の供給源、合成的な供給源または組換え供給源から精製され得る。

20

【0040】

「機能的活性」を示すポリペプチドとは、本発明の全長（完全）タンパク質と関連した1つ以上の公知の機能的活性を示し得るポリペプチドを意味する。このような機能的活性としては、生物学的活性、抗原性〔抗ポリペプチド抗体に結合する（または結合することについて、ポリペプチドと競合する）能力〕、免疫原性（本発明の特異的ポリペプチドに結合する抗体を生成する能力）、本発明のポリペプチドと多量体を形成する能力、およびポリペプチドについてのレセプターまたはリガンドに結合する能力が挙げられるが、これらに限定されない。

30

【0041】

「機能的活性を有するポリペプチド」とは、特定のアッセイ（例えば、生物学的アッセイのような）で測定した場合、用量依存性を伴っても伴わなくても、本発明のポリペプチド（成熟形態を含む）の活性と類似であるが、必ずしも同一ではない活性を示すポリペプチドをいう。用量依存性が存在する場合、ポリペプチドの用量依存性と同一である必要はないが、むしろ本発明のポリペプチドと比較した場合に、所定の活性における用量依存性に実質的に類似する（すなわち、候補ポリペプチドは、本発明のポリペプチドと比較して、より大きな活性を示すか、または約1/25以上、そして好ましくは約1/10以上の活性、そして最も好ましくは約1/3以上の活性を示す）。

【0042】

ポリペプチド、ならびにそれらのフラグメント、改変体、誘導體、およびアナログの機能的活性は、種々の方法によってアッセイされ得る。

40

【0043】

例えば、本発明の全長ポリペプチドの抗体への結合について全長ポリペプチドに結合するか、またはそれと競合する能力についてアッセイする、1つの実施形態では、当該分野で公知の種々の免疫アッセイが、用いられ得る。このようなアッセイとしては、放射免疫アッセイ、ELISA（酵素結合免疫吸着アッセイ）、「サンドイッチ」免疫アッセイ、免疫放射分析アッセイ、ゲル拡散沈降反応、免疫拡散アッセイ、インサイチュ免疫アッセイ（例えば、コロイド金、酵素または放射性同位体標識を用いる）、ウェスタンブロット、沈降反応、凝集アッセイ（例えば、ゲル凝集アッセイ、血球凝集アッセイ）、補体固着ア

50

ッセイ、免疫蛍光アッセイ、プロテインAアッセイ、および免疫電気泳動アッセイなどのような技術を用いる競合および非競合アッセイ系が挙げられるが、これらに限定されない。1つの実施形態では、抗体結合が、一次抗体上の標識を検出することによって検出される。別の実施形態では、この一次抗体は、この一次抗体に対する二次抗体または試薬の結合を検出することによって検出される。さらなる実施形態では、この二次抗体が標識される。多くの手段が、免疫アッセイにおける結合の検出について当該分野で公知であり、そして本発明の範囲内である。

【0044】

別の実施形態では、同定されたリガンド、または本発明のポリペプチドフラグメント、改変体、または誘導体が多量体化する能力が評価される場合、結合が、例えば、還元および非還元ゲルクロマトグラフィー、タンパク質アフィニティークロマトグラフィー、ならびにアフィニティープロットングのような当該分野で周知の手段によって、アッセイされ得る。一般には、Phizicky、E.ら、Microbiol. Rev. 59: 94-123 (1995)を参照のこと。別の実施形態では、その基質への本発明のポリペプチドの結合の生理学的相関(シグナル伝達)がアッセイされ得る。

10

【0045】

さらに、本明細書中に記載のアッセイ(実施例を参照のこと)および当該分野で公知の他のアッセイは、本発明のポリペプチドならびにそれらのフラグメント、改変体、誘導体、およびアナログが、ポリペプチドの生物学的活性が関連した生物学的活性を(インビトロまたはインビボのいずれかで)誘発する能力を測定するために、慣用的に適用され得る。他の方法は、当業者に公知であり、そして本発明の範囲内である。

20

【0046】

(遺伝子番号1によってコードされるタンパク質の特徴)

本願の目的に関して、この遺伝子および対応する翻訳産物は、B7-H8遺伝子およびB7-H8タンパク質として公知である。このタンパク質は、細胞表面分子として存在すると考えられ、そしてこのタンパク質の膜貫通ドメインは、以下の好ましいアミノ酸残基でおおよそ具体化されると考えられる: SKASLCVSSFFAISWALLPL(配列番号26)。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドもまた、本発明によって含まれ、同様に、これらのペプチドの1つ以上に結合する抗体も含まれる。当業者に理解されるように、膜貫通ドメインは、コンピューター分析を用いて推定され、そして膜貫通ドメインは、推定膜貫通ドメインのN末端およびC末端から、1、2、3、4、5、6、7、8、9、および/または10アミノ酸異なり得る。B7-H8遺伝子は、B7ファミリーのリガンドのメンバー(すなわち、B7-2(Genbank登録番号AAF25807を参照のこと)と配列相同性を共有する。これらのタンパク質およびその対応するレセプターは、T細胞の増殖、分化、活性化、増殖および死に重大な役割を果たす。例えば、このファミリーのいくつかのメンバー(すなわち、B7-H1)は、T細胞応答の同時刺激に関与し、同様に、増加したサイトカイン産生の誘導にも関与するが、ファミリーの他のメンバーは、T細胞応答のネガティブな調節に関与する。従って、アゴニストおよびアンタゴニスト(例えば、B7-H8遺伝子の翻訳産物に対する抗体または小分子)は、T細胞媒介免疫系障害、ならびに他の免疫系細胞(例えば、好中球、マクロファージ、および白血球)の障害の処置に有用である。

30

40

【0047】

本発明の好ましいポリペプチドは、配列番号14において、残基Lys-84~Glu-95およびSer-243~Ser-249として示される免疫原性エピートプの1つまたは両方を含むか、あるいはこれからなる。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドもまた、これらのポリペプチドの1つ以上に結合する抗体がそうであるように、本発明により包含される。さらに、これらのポリペプチドのフラグメントおよび改変体(例えば、本明細書に記載のフラグメント、これらのポリペプチドに少なくとも、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるポリペプチド、およびこれらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドにストリンジェントな条件

50

下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによりコードされるポリペプチド、またはその相補体など)もまた、本発明により包含される。本発明のこれらのフラグメントおよび改変体に結合する抗体もまた、本発明により包含される。これらのフラグメントおよび改変体をコードするポリヌクレオチドもまた、本発明により包含される。

【0048】

非排他的な実施形態において、本発明のポリペプチドは、以下：

B7 - H8タンパク質の細胞外ドメイン：

【0049】

【化1】

MASLGQILFWSIISIIILAGAIALIIGFGISGRHSITVTTVASAGNIGEDGILSCTFEPDIKL
SDIVIQWLKEGVLGLVHEFKGKDELSEQDEMFRGRTAVFADQVIVGNASLRLKNV
QLTDAGTYKCYIITSKGGKGNANLEYKGTGAFSMPEVNVDYNASSETLRCEAPRWFPQP
TVVWASQVDQGANFSEVSNTSFELNSENVTMKVVSVLNVNTINNTYSCMIENDIAK
ATGDIKVTSEIKRRSHLQLLN

10

(配列番号27)

B7 - H8タンパク質の成熟細胞外ドメイン：

【0050】

【化2】

LIIGFGISGRHSITVTTVASAGNIGEDGILSCTFEPDIKLSDIVIQWLKEGVLGLVHEFKE
GKDELSEQDEMFRGRTAVFADQVIVGNASLRLKNVQLTDAGTYKCYIITSKGGKNA
NLEYKGTGAFSMPEVNVDYNASSETLRCEAPRWFPQPTVVWASQVDQGANFSEVSNT
SFELNSENVTMKVVSVLNVNTINNTYSCMIENDIAKATGDIKVTSEIKRRSHLQLLN

20

(配列番号28)

および/またはB7 - H8タンパク質のリーダー配列：

【0051】

【化3】

MASLGQILFWSIISIIILAGAIA

30

(配列番号29)からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むか、あるいはこれらからなる。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドもまた、本発明によって含まれ、同様に、これらのポリペプチドの1つ以上に結合する抗体も含まれる。さらに、これらのポリペプチドのフラグメントおよび改変体(例えば、本明細書中に開示されるフラグメント、これらのポリペプチドに少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であるポリペプチド、ならびにこれらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドにストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド、またはその相補体)が、本発明によって含まれる。本発明のこれらのフラグメントおよび改変体に結合する抗体もまた、本発明によって含まれる。これらのフラグメントおよび改変体をコードするポリヌクレオチドもまた、本発明によって含まれる。

40

【0052】

機能的活性を示すB7 - H8タンパク質の成熟細胞外部分(配列番号28)のフラグメントを含むか、あるいはこれらからなるポリペプチドもまた、好ましい。これらのポリペプチドのフラグメントおよび/または改変体(例えば、本明細書中に開示されるフラグメントおよび/または改変体など)が、本発明によって含まれる。これらのポリペプチド(フラグメントおよび/または改変体を含む)をコードするポリヌクレオチドもまた、本発明によって含まれ、同様にこれらのポリペプチドに結合する抗体もまた、含まれる。

【0053】

50

機能的活性によって、全長（完全）B7-H8タンパク質と関連する1つ以上の既知の機能的活性を示し得るポリペプチドフラグメントを意味する。このような機能的活性としては、生物学的活性、例えば、T細胞同時刺激活性、ICOS、CD28もしくはCTLA4に結合する能力、およびサイトカイン産生を誘導もしくは阻害する能力）、抗原性〔抗B7-H8抗体に結合する能力（または結合することについて、B7-H8ポリペプチドと競合する）能力〕、および免疫原性（B7-H8ポリペプチドに結合する抗体を生成する能力）、本発明のB7-H8ポリペプチドと多量体を形成する能力、およびB7-H8ポリペプチドに対するレセプターに結合する能力が挙げられるが、これらに限定されない。

【0054】

図1A～Dは、この遺伝子に対応するヌクレオチド配列（配列番号2）および推定アミノ酸配列（配列番号14）を示す。図2は、アミノ酸配列（配列番号14）の分析を示す。

領域、領域、ターン領域およびコイル領域；親水性領域および疎水性領域；両親媒性領域；可撓性領域；抗原性指標および表面可能性が示され、そしてこれら全ては、引用されるコンピューターアルゴリズムのデフォルト設定を用いて作製された。「抗原性指標またはJameson-Wolf」グラフにおいて、陽性のピークは、このタンパク質の高い抗原性領域の位置（すなわち、本発明のエピトープ保有ペプチドが入手され得る領域）を示す。これらのグラフによって規定されるドメインを含むか、あるいはこれらからなるポリペプチドが、本発明によって意図され、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドも同様に意図される。図2に示されるデータはまた、表3に表形式で示される。列は、見出し「残基」、「位置」およびローマ数字I～XIVで分類されている。この列の見出しは、図2および表3に示されるアミノ酸配列の以下の特徴をいう：「残基」；配列番号14および図1A～Dのアミノ酸残基；「位置」：配列番号14および図1A～D内の対応する残基の位置；I：領域-Garnier-Robson；II：領域-Chou-Fasman；III：領域-Garnier-Robson；IV：領域-Chou-Fasman；V：ターン領域-Garnier-Robson；VI：ターン領域-Chou-Fasman；VII：コイル領域-Garnier-Robson；VIII：親水性プロット-Kyte-Doolittle；IX：疎水性プロット-Hopp-Woods；X：両親媒性領域-Eisenberg；XI：両親媒性領域-Eisenberg；XII：可撓性領域-Karplus-Schulz；XIII：抗原性指標-Jameson-Wolf；ならびにXIV：表面可能性プロット-Emini。この点における本発明の好ましい実施形態は、以下の領域の1つ以上を含むか、あるいはこれらからなるフラグメントを含む：ヘリックスおよびヘリックス形成領域（「領域」）、シートおよびシート形成領域（「領域」）、ターンおよびターン形成領域（「ターン領域」）、コイルおよびコイル形成領域（「コイル形成」）、親水性領域、疎水性領域、両親媒性領域、両親媒性領域、可撓性領域、表面形成領域および高い抗原性指標領域。上記のように、図2および/または表3に示されるタンパク質の構造的特性または機能的特性を示すデータは、デフォルトパラメーターを設定されたDNA*STARの種々のモジュールおよびアルゴリズムを用いて作製された。好ましい実施形態において、表3の列VIII、IX、XIIIおよびXIVに示されるデータは、抗原性について高い程度の可能性を示すタンパク質の領域を決定するための使用され得る。高い抗原性の領域は、免疫応答の開始プロセスにおいて、抗原認識が生じ得る環境中のポリペプチドの表面上に曝されるようであるポリペプチドの領域を表す値を選択することによって、列VIII、IX、および/またはXIVに示されるデータから決定される。これらの点に関して特に好ましい領域が図2に示されるが、表3に示されるように、図2に示されるデータの表の提示によって示され得るかまたは同定され得る。図2を作製するために使用されるDNA*STARコンピューターアルゴリズム（オリジナルのデフォルトパラメーターを使用する）を使用して、図2中のデータを、表形式で示した（表3を参照のこと）。図2中のデータの表形式を使用して（表3を参照のこと）、好ましい領域の特異的な境界を容易に決定した。

10

20

30

40

50

【0055】

本発明はさらに、本明細書中に開示されるポリヌクレオチド配列のフラグメントに関する。例えば、寄託されたcDNAのポリヌクレオチド配列または配列番号2に示されるヌクレオチド配列のポリヌクレオチド配列のフラグメントによって、本明細書中に考察されるように診断プローブまたはプライマーとして有用である、少なくとも約15nt、より好ましくは少なくとも約20nt、少なくとも約25nt、なおより好ましくは少なくとも約30nt、少なくとも約35nt、およびなおより好ましくは、少なくとも約40nt長、少なくとも約45nt長、少なくとも約50nt長、少なくとも約60nt長、少なくとも約70nt長、少なくとも約80nt長、少なくとも約90nt長、少なくとも約100nt長、少なくとも約125nt長、少なくとも約150nt長、少なくとも約175nt長のポリヌクレオチドフラグメントが意図される。当然、200~1500nt長のより長いフラグメントもまた、本発明に従って有用であり、同様に、寄託されたcDNAまたは配列番号2に示されるヌクレオチド配列のほとんど(全てではない)に対応するフラグメントが、有用である。例えば、少なくとも20nt長のフラグメントによって、寄託されたcDNAのヌクレオチド配列または配列番号2に示されるヌクレオチド配列由来の20以上の連続塩基を含むフラグメントが意図される。この状況において、「約(およそ)」は、いずれかの末端または両末端において、数個(5、4、3、2、または1)のヌクレオチドだけ大きいかまたは小さなサイズを特に示す。本発明のポリヌクレオチドフラグメントの代表的な例としては、例えば、配列番号2のヌクレオチド、またはその相補鎖、あるいは寄託されたクローン中に含まれるcDNAのヌクレオチドの以下：1~50、の約1~約50、約51~約100、約101~約150、約151~約200、約201~約250、約251~約300、約301~約350、約351~約400、約401~約450、約451~約500、約501~約550、約551~約600、約651~約700、約701~約750、約751~約800、約801~約860の配列を含むか、あるいはこれらからなるフラグメントが挙げられる。この文脈において、「おおよそ(約)」は、特に記載された範囲、またはいずれかの末端もしくは両方の末端において、これより数個(5、4、3、2、または1)のヌクレオチドだけ大きいか、または小さな範囲を含む。さらなる実施形態において、本発明のポリヌクレオチドは、対応するタンパク質の機能的特徴をコードする。

【0056】

本発明の好ましいポリペプチドフラグメントは、連続した一連の残基がアミノ末端もしくはカルボキシ末端またはその両方から欠失した分泌タンパク質を含むかまたはこのタンパク質からなる。特に、このポリペプチドのN末端欠失は、一般式m-282によって記載され得、ここで、mは、2~277の整数であり、mは、配列番号14において同定されるアミノ酸残基の位置に対応する。さらに特に、本発明は、以下の群から選択されるアミノ酸配列を含むかあるいはこのアミノ酸配列からなるポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する：配列番号14のA-2~K-282；S-3~K-282；L-4~K-282；G-5~K-282；Q-6~K-282；I-7~K-282；L-8~K-282；F-9~K-282；W-10~K-282；S-11~K-282；I-12~K-282；I-13~K-282；S-14~K-282；I-15~K-282；I-16~K-282；I-17~K-282；I-18~K-282；L-19~K-282；A-20~K-282；G-21~K-282；A-22~K-282；I-23~K-282；A-24~K-282；L-25~K-282；I-26~K-282；I-27~K-282；G-28~K-282；F-29~K-282；G-30~K-282；I-31~K-282；S-32~K-282；G-33~K-282；R-34~K-282；H-35~K-282；S-36~K-282；I-37~K-282；T-38~K-282；V-39~K-282；T-40~K-282；T-41~K-282；V-42~K-282；A-43~K-282；S-44~K-282；A-45~K-282；G-46~K-282；N-47~K-282；I-48~K-282；G-49~K-282；E-50~K-282；D-51~K-282；G

- 5 2 ~ K - 2 8 2 ; I - 5 3 ~ K - 2 8 2 ; L - 5 4 ~ K - 2 8 2 ; S - 5 5 ~ K - 2
 8 2 ; C - 5 6 ~ K - 2 8 2 ; T - 5 7 ~ K - 2 8 2 ; F - 5 8 ~ K - 2 8 2 ; E - 5 9
 ~ K - 2 8 2 ; P - 6 0 ~ K - 2 8 2 ; D - 6 1 ~ K - 2 8 2 ; I - 6 2 ~ K - 2 8 2 ;
 K - 6 3 ~ K - 2 8 2 ; L - 6 4 ~ K - 2 8 2 ; S - 6 5 ~ K - 2 8 2 ; D - 6 6 ~ K -
 2 8 2 ; I - 6 7 ~ K - 2 8 2 ; V - 6 8 ~ K - 2 8 2 ; I - 6 9 ~ K - 2 8 2 ; Q - 7
 0 ~ K - 2 8 2 ; W - 7 1 ~ K - 2 8 2 ; L - 7 2 ~ K - 2 8 2 ; K - 7 3 ~ K - 2 8 2
 ; E - 7 4 ~ K - 2 8 2 ; G - 7 5 ~ K - 2 8 2 ; V - 7 6 ~ K - 2 8 2 ; L - 7 7 ~ K
 - 2 8 2 ; G - 7 8 ~ K - 2 8 2 ; L - 7 9 ~ K - 2 8 2 ; V - 8 0 ~ K - 2 8 2 ; H -
 8 1 ~ K - 2 8 2 ; E - 8 2 ~ K - 2 8 2 ; F - 8 3 ~ K - 2 8 2 ; K - 8 4 ~ K - 2 8
 2 ; E - 8 5 ~ K - 2 8 2 ; G - 8 6 ~ K - 2 8 2 ; K - 8 7 ~ K - 2 8 2 ; D - 8 8 ~ 10
 K - 2 8 2 ; E - 8 9 ~ K - 2 8 2 ; L - 9 0 ~ K - 2 8 2 ; S - 9 1 ~ K - 2 8 2 ; E
 - 9 2 ~ K - 2 8 2 ; Q - 9 3 ~ K - 2 8 2 ; D - 9 4 ~ K - 2 8 2 ; E - 9 5 ~ K - 2
 8 2 ; M - 9 6 ~ K - 2 8 2 ; F - 9 7 ~ K - 2 8 2 ; R - 9 8 ~ K - 2 8 2 ; G - 9 9
 ~ K - 2 8 2 ; R - 1 0 0 ~ K - 2 8 2 ; T - 1 0 1 ~ K - 2 8 2 ; A - 1 0 2 ~ K - 2
 8 2 ; V - 1 0 3 ~ K - 2 8 2 ; F - 1 0 4 ~ K - 2 8 2 ; A - 1 0 5 ~ K - 2 8 2 ; D
 - 1 0 6 ~ K - 2 8 2 ; Q - 1 0 7 ~ K - 2 8 2 ; V - 1 0 8 ~ K - 2 8 2 ; I - 1 0 9
 ~ K - 2 8 2 ; V - 1 1 0 ~ K - 2 8 2 ; G - 1 1 1 ~ K - 2 8 2 ; N - 1 1 2 ~ K - 2
 8 2 ; A - 1 1 3 ~ K - 2 8 2 ; S - 1 1 4 ~ K - 2 8 2 ; L - 1 1 5 ~ K - 2 8 2 ; R
 - 1 1 6 ~ K - 2 8 2 ; L - 1 1 7 ~ K - 2 8 2 ; K - 1 1 8 ~ K - 2 8 2 ; N - 1 1 9
 ~ K - 2 8 2 ; V - 1 2 0 ~ K - 2 8 2 ; Q - 1 2 1 ~ K - 2 8 2 ; L - 1 2 2 ~ K - 2 20
 8 2 ; T - 1 2 3 ~ K - 2 8 2 ; D - 1 2 4 ~ K - 2 8 2 ; A - 1 2 5 ~ K - 2 8 2 ; G
 - 1 2 6 ~ K - 2 8 2 ; T - 1 2 7 ~ K - 2 8 2 ; Y - 1 2 8 ~ K - 2 8 2 ; K - 1 2 9
 ~ K - 2 8 2 ; C - 1 3 0 ~ K - 2 8 2 ; Y - 1 3 1 ~ K - 2 8 2 ; I - 1 3 2 ~ K - 2
 8 2 ; I - 1 3 3 ~ K - 2 8 2 ; T - 1 3 4 ~ K - 2 8 2 ; S - 1 3 5 ~ K - 2 8 2 ; K
 - 1 3 6 ~ K - 2 8 2 ; G - 1 3 7 ~ K - 2 8 2 ; K - 1 3 8 ~ K - 2 8 2 ; G - 1 3 9
 ~ K - 2 8 2 ; N - 1 4 0 ~ K - 2 8 2 ; A - 1 4 1 ~ K - 2 8 2 ; N - 1 4 2 ~ K - 2
 8 2 ; L - 1 4 3 ~ K - 2 8 2 ; E - 1 4 4 ~ K - 2 8 2 ; Y - 1 4 5 ~ K - 2 8 2 ; K
 - 1 4 6 ~ K - 2 8 2 ; T - 1 4 7 ~ K - 2 8 2 ; G - 1 4 8 ~ K - 2 8 2 ; A - 1 4 9
 ~ K - 2 8 2 ; F - 1 5 0 ~ K - 2 8 2 ; S - 1 5 1 ~ K - 2 8 2 ; M - 1 5 2 ~ K - 2
 8 2 ; P - 1 5 3 ~ K - 2 8 2 ; E - 1 5 4 ~ K - 2 8 2 ; V - 1 5 5 ~ K - 2 8 2 ; N 30
 - 1 5 6 ~ K - 2 8 2 ; V - 1 5 7 ~ K - 2 8 2 ; D - 1 5 8 ~ K - 2 8 2 ; Y - 1 5 9
 ~ K - 2 8 2 ; N - 1 6 0 ~ K - 2 8 2 ; A - 1 6 1 ~ K - 2 8 2 ; S - 1 6 2 ~ K - 2
 8 2 ; S - 1 6 3 ~ K - 2 8 2 ; E - 1 6 4 ~ K - 2 8 2 ; T - 1 6 5 ~ K - 2 8 2 ; L
 - 1 6 6 ~ K - 2 8 2 ; R - 1 6 7 ~ K - 2 8 2 ; C - 1 6 8 ~ K - 2 8 2 ; E - 1 6 9
 ~ K - 2 8 2 ; A - 1 7 0 ~ K - 2 8 2 ; P 1 7 1 ~ K - 2 8 2 ; R - 1 7 2 ~ K - 2 8
 2 ; W - 1 7 3 ~ K - 2 8 2 ; F - 1 7 4 ~ K - 2 8 2 ; P - 1 7 5 ~ K - 2 8 2 ; Q -
 1 7 6 ~ K - 2 8 2 ; P - 1 7 7 ~ K - 2 8 2 ; T - 1 7 8 ~ K - 2 8 2 ; V - 1 7 9 ~
 K - 2 8 2 ; V - 1 8 0 ~ K - 2 8 2 ; W - 1 8 1 ~ K - 2 8 2 ; A - 1 8 2 ~ K - 2 8
 2 ; S - 1 8 3 ~ K - 2 8 2 ; Q - 1 8 4 ~ K - 2 8 2 ; V - 1 8 5 ~ K - 2 8 2 ; D -
 1 8 6 ~ K - 2 8 2 ; Q - 1 8 7 ~ K - 2 8 2 ; G - 1 8 8 ~ K - 2 8 2 ; A - 1 8 9 ~ 40
 K - 2 8 2 ; N - 1 9 0 ~ K - 2 8 2 ; F - 1 9 1 ~ K - 2 8 2 ; S - 1 9 2 ~ K - 2 8
 2 ; E - 1 9 3 ~ K - 2 8 2 ; V - 1 9 4 ~ K - 2 8 2 ; S - 1 9 5 ~ K - 2 8 2 ; N -
 1 9 6 ~ K - 2 8 2 ; T - 1 9 7 ~ K - 2 8 2 ; S - 1 9 8 ~ K - 2 8 2 ; F - 1 9 9 ~
 K - 2 8 2 ; E - 2 0 0 ~ K - 2 8 2 ; L - 2 0 1 ~ K - 2 8 2 ; N - 2 0 2 ~ K - 2 8
 2 ; S - 2 0 3 ~ K - 2 8 2 ; E - 2 0 4 ~ K - 2 8 2 ; N - 2 0 5 ~ K - 2 8 2 ; V -
 2 0 6 ~ K - 2 8 2 ; T - 2 0 7 ~ K - 2 8 2 ; M - 2 0 8 ~ K - 2 8 2 ; K - 2 0 9 ~
 K - 2 8 2 ; V - 2 1 0 ~ K - 2 8 2 ; V - 2 1 1 ~ K - 2 8 2 ; S - 2 1 2 ~ K - 2 8
 2 ; V - 2 1 3 ~ K - 2 8 2 ; L - 2 1 4 ~ K - 2 8 2 ; Y - 2 1 5 ~ K - 2 8 2 ; N -
 2 1 6 ~ K - 2 8 2 ; V - 2 1 7 ~ K - 2 8 2 ; T - 2 1 8 ~ K - 2 8 2 ; I - 2 1 9 ~
 K - 2 8 2 ; N - 2 2 0 ~ K - 2 8 2 ; N - 2 2 1 ~ K - 2 8 2 ; T - 2 2 2 ~ K - 2 8 50

2 ; Y - 2 2 3 ~ K - 2 8 2 ; S - 2 2 4 ~ K - 2 8 2 ; C - 2 2 5 ~ K - 2 8 2 ; M -
 2 2 6 ~ K - 2 8 2 ; I - 2 2 7 ~ K - 2 8 2 ; E - 2 2 8 ~ K - 2 8 2 ; N - 2 2 9 ~
 K - 2 8 2 ; D - 2 3 0 ~ K - 2 8 2 ; I - 2 3 1 ~ K - 2 8 2 ; A - 2 3 2 ~ K - 2 8
 2 ; K - 2 3 3 ~ K - 2 8 2 ; A - 2 3 4 ~ K - 2 8 2 ; T - 2 3 5 ~ K - 2 8 2 ; G -
 2 3 6 ~ K - 2 8 2 ; D - 2 3 7 ~ K - 2 8 2 ; I - 2 3 8 ~ K - 2 8 2 ; K - 2 3 9 ~
 K - 2 8 2 ; V - 2 4 0 ~ K - 2 8 2 ; T - 2 4 1 ~ K - 2 8 2 ; E - 2 4 2 ~ K - 2 8
 2 ; S - 2 4 3 ~ K - 2 8 2 ; E - 2 4 4 ~ K - 2 8 2 ; I - 2 4 5 ~ K - 2 8 2 ; K -
 2 4 6 ~ K - 2 8 2 ; R - 2 4 7 ~ K - 2 8 2 ; R - 2 4 8 ~ K - 2 8 2 ; S - 2 4 9 ~
 K - 2 8 2 ; H - 2 5 0 ~ K - 2 8 2 ; L - 2 5 1 ~ K - 2 8 2 ; Q - 2 5 2 ~ K - 2 8
 2 ; L - 2 5 3 ~ K - 2 8 2 ; L - 2 5 4 ~ K - 2 8 2 ; N - 2 5 5 ~ K - 2 8 2 ; S - 10
 2 5 6 ~ K - 2 8 2 ; K - 2 5 7 ~ K - 2 8 2 ; A - 2 5 8 ~ K - 2 8 2 ; S - 2 5 9 ~
 K - 2 8 2 ; L - 2 6 0 ~ K - 2 8 2 ; C - 2 6 1 ~ K - 2 8 2 ; V - 2 6 2 ~ K - 2 8
 2 ; S - 2 6 3 ~ K - 2 8 2 ; S - 2 6 4 ~ K - 2 8 2 ; F - 2 6 5 ~ K - 2 8 2 ; F -
 2 6 6 ~ K - 2 8 2 ; A - 2 6 7 ~ K - 2 8 2 ; I - 2 6 8 ~ K - 2 8 2 ; S - 2 6 9 ~
 K - 2 8 2 ; W - 2 7 0 ~ K - 2 8 2 ; A - 2 7 1 ~ K - 2 8 2 ; L - 2 7 2 ~ K - 2 8
 2 ; L - 2 7 3 ~ K - 2 8 2 ; P - 2 7 4 ~ K - 2 8 2 ; L - 2 7 5 ~ K - 2 8 2 ; S -
 2 7 6 ~ K - 2 8 2 ; および/または P - 2 7 7 ~ K - 2 8 2 。 1 以上のこれらのポリペ
 プチドに結合する抗体と同様に、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドも
 また本発明によって包含される。さらに、これらのポリペプチドのフラグメントおよび改
 変体（例えば、本明細書中に記載される通りのフラグメント、これらのポリペプチドに対
 して少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 % または 9 9 %
 同一のポリペプチド、およびストリンジェントな条件下で、これらのポリペプチドをコー
 ドするポリヌクレオチドまたはその相補体に対してハイブリダイズするポリヌクレオチド
 によってコードされるポリペプチド）は、本発明によって包含される。本発明のこれらの
 フラグメントおよび改変体を結合する抗体もまた、本発明によって包含される。これらの
 フラグメントおよび改変体をコードするポリヌクレオチドもまた本発明によって包含され
 る。

【 0 0 5 7 】

従って、本発明は、一般式 1 ~ n によって記載されるような、図 1 A ~ 図 1 D (配列番号
 1 4) に示されるポリペプチドのアミノ酸配列のカルボキシ末端から 1 以上の残基が欠失
 したポリペプチドをさらに提供し、ここで、n は、7 ~ 2 8 1 の整数であり、n は、配列
 番号 1 4 において同定されるアミノ酸残基の位置に対応する。さらに、本発明は、以下の
 C 末端欠失物の群から選択されるアミノ酸配列を含むかあるいはこのアミノ酸配列からな
 るポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する：配列番号 1 4 の M - 1 ~ L -
 2 8 1 ; M - 1 ~ M - 2 8 0 ; M - 1 ~ L - 2 7 9 ; M - 1 ~ Y - 2 7 8 ; M - 1 ~ P -
 2 7 7 ; M - 1 ~ S - 2 7 6 ; M - 1 ~ L - 2 7 5 ; M - 1 ~ P - 2 7 4 ; M - 1 ~ L -
 2 7 3 ; M - 1 ~ L - 2 7 2 ; M - 1 ~ A - 2 7 1 ; M - 1 ~ W - 2 7 0 ; M - 1 ~ S -
 2 6 9 ; M - 1 ~ I - 2 6 8 ; M - 1 ~ A - 2 6 7 ; M - 1 ~ F - 2 6 6 ; M - 1 ~ F -
 2 6 5 ; M - 1 ~ S - 2 6 4 ; M - 1 ~ S - 2 6 3 ; M - 1 ~ V - 2 6 2 ; M - 1 ~ C -
 2 6 1 ; M - 1 ~ L - 2 6 0 ; M - 1 ~ S - 2 5 9 ; M - 1 ~ A - 2 5 8 ; M - 1 ~ K - 40
 2 5 7 ; M - 1 ~ S - 2 5 6 ; M - 1 ~ N - 2 5 5 ; M - 1 ~ L - 2 5 4 ; M - 1 ~ L -
 2 5 3 ; M - 1 ~ Q - 2 5 2 ; M - 1 ~ L - 2 5 1 ; M - 1 ~ H - 2 5 0 ; M - 1 ~ S -
 2 4 9 ; M - 1 ~ R - 2 4 8 ; M - 1 ~ R - 2 4 7 ; M - 1 ~ K - 2 4 6 ; M - 1 ~ I -
 2 4 5 ; M - 1 ~ E - 2 4 4 ; M - 1 ~ S - 2 4 3 ; M - 1 ~ E - 2 4 2 ; M - 1 ~ T -
 2 4 1 ; M - 1 ~ V - 2 4 0 ; M - 1 ~ K - 2 3 9 ; M - 1 ~ I - 2 3 8 ; M - 1 ~ D -
 2 3 7 ; M - 1 ~ G - 2 3 6 ; M - 1 ~ T - 2 3 5 ; M - 1 ~ A - 2 3 4 ; M - 1 ~ K -
 2 3 3 ; M - 1 ~ A - 2 3 2 ; M - 1 ~ I - 2 3 1 ; M - 1 ~ D - 2 3 0 ; M - 1 ~ N -
 2 2 9 ; M - 1 ~ E - 2 2 8 ; M - 1 ~ I - 2 2 7 ; M - 1 ~ M - 2 2 6 ; M - 1 ~ C -
 2 2 5 ; M - 1 ~ S - 2 2 4 ; M - 1 ~ Y - 2 2 3 ; M - 1 ~ T - 2 2 2 ; M - 1 ~ N -
 2 2 1 ; M - 1 ~ N - 2 2 0 ; M - 1 ~ I - 2 1 9 ; M - 1 ~ T - 2 1 8 ; M - 1 ~ V - 50

2 1 7 ; M - 1 ~ N - 2 1 6 ; M - 1 ~ Y - 2 1 5 ; M - 1 ~ L - 2 1 4 ; M - 1 ~ V -
 2 1 3 ; M - 1 ~ S - 2 1 2 ; M - 1 ~ V - 2 1 1 ; M - 1 ~ V - 2 1 0 ; M - 1 ~ K -
 2 0 9 ; M - 1 ~ M - 2 0 8 ; M - 1 ~ T - 2 0 7 ; M - 1 ~ V - 2 0 6 ; M - 1 ~ N -
 2 0 5 ; M - 1 ~ E - 2 0 4 ; M - 1 ~ S - 2 0 3 ; M - 1 ~ N - 2 0 2 ; M - 1 ~ L -
 2 0 1 ; M - 1 ~ E - 2 0 0 ; M - 1 ~ F - 1 9 9 ; M - 1 ~ S - 1 9 8 ; M - 1 ~ T -
 1 9 7 ; M - 1 ~ N - 1 9 6 ; M - 1 ~ S - 1 9 5 ; M - 1 ~ V - 1 9 4 ; M - 1 ~ E -
 1 9 3 ; M - 1 ~ S - 1 9 2 ; M - 1 ~ F - 1 9 1 ; M - 1 ~ N - 1 9 0 ; M - 1 ~ A -
 1 8 9 ; M - 1 ~ G - 1 8 8 ; M - 1 ~ Q - 1 8 7 ; M - 1 ~ D - 1 8 6 ; M - 1 ~ V -
 1 8 5 ; M - 1 ~ Q - 1 8 4 ; M - 1 ~ S - 1 8 3 ; M - 1 ~ A - 1 8 2 ; M - 1 ~ W -
 1 8 1 ; M - 1 ~ V - 1 8 0 ; M - 1 ~ V - 1 7 9 ; M - 1 ~ T - 1 7 8 ; M - 1 ~ P - 10
 1 7 7 ; M - 1 ~ Q - 1 7 6 ; M - 1 ~ P - 1 7 5 ; M - 1 ~ F - 1 7 4 ; M - 1 ~ W -
 1 7 3 ; M - 1 ~ R - 1 7 2 ; M - 1 ~ P - 1 7 1 ; M - 1 ~ A - 1 7 0 ; M - 1 ~ E -
 1 6 9 ; M - 1 ~ C - 1 6 8 ; M - 1 ~ R - 1 6 7 ; M - 1 ~ L - 1 6 6 ; M - 1 ~ T -
 1 6 5 ; M - 1 ~ E - 1 6 4 ; M - 1 ~ 5 - 1 6 3 ; M - 1 ~ S - 1 6 2 ; M - 1 ~ A -
 1 6 1 ; M - 1 ~ N - 1 6 0 ; M - 1 ~ Y - 1 5 9 ; M - 1 ~ D - 1 5 8 ; M - 1 ~ V -
 1 5 7 ; M - 1 ~ N - 1 5 6 ; M - 1 ~ V - 1 5 5 ; M - 1 ~ E - 1 5 4 ; M - 1 ~ P -
 1 5 3 ; M - 1 ~ M - 1 5 2 ; M - 1 ~ S - 1 5 1 ; M - 1 ~ F - 1 5 0 ; M - 1 ~ A -
 1 4 9 ; M - 1 ~ G - 1 4 8 ; 1 v 1 - 1 ~ T - 1 4 7 ; M - 1 ~ K - 1 4 6 ; M - 1 ~
 Y - 1 4 5 ; M - 1 ~ E - 1 4 4 ; M - 1 ~ L - 1 4 3 ; M - 1 ~ N - 1 4 2 ; M - 1 ~
 A - 1 4 1 ; M - 1 ~ N - 1 4 0 ; M - 1 ~ G - 1 3 9 ; M - 1 ~ K - 1 3 8 ; M - 1 ~ 20
 G - 1 3 7 ; M - 1 ~ K - 1 3 6 ; M - 1 ~ S - 1 3 5 ; M - 1 ~ T - 1 3 4 ; M - 1 ~
 I - 1 3 3 ; M - 1 ~ I - 1 3 2 ; M - 1 ~ Y - 1 3 1 ; M - 1 ~ C - 1 3 0 ; M - 1 ~
 K - 1 2 9 ; M - 1 ~ Y - 1 2 8 ; M - 1 ~ T - 1 2 7 ; M - 1 ~ G - 1 2 6 ; M - 1 ~
 A - 1 2 5 ; M - 1 ~ D - 1 2 4 ; M - 1 ~ T - 1 2 3 ; M - 1 ~ L - 1 2 2 ; M - 1 ~
 Q - 1 2 1 ; M - 1 ~ V - 1 2 0 ; M - 1 ~ N - 1 1 9 ; M - 1 ~ K - 1 1 8 ; M - 1 ~
 L - 1 1 7 ; M - 1 ~ R - 1 1 6 ; M - 1 ~ L - 1 1 5 ; M - 1 ~ S - 1 1 4 ; M - 1 ~
 A - 1 1 3 ; M - 1 ~ N - 1 1 2 ; M - 1 ~ G - 1 1 1 ; M - 1 ~ V - 1 1 0 ; M - 1 ~
 I - 1 0 9 ; M - 1 ~ V - 1 0 8 ; M - 1 ~ Q - 1 0 7 ; M - 1 ~ D - 1 0 6 ; M - 1 ~
 A - 1 0 5 ; M - 1 ~ F - 1 0 4 ; M - 1 ~ V - 1 0 3 ; M - 1 ~ A - 1 0 2 ; M - 1 ~
 T - 1 0 1 ; M - 1 ~ R - 1 0 0 ; M - 1 ~ G - 9 9 ; M - 1 ~ R - 9 8 ; M - 1 ~ F - 30
 9 7 ; M - 1 ~ M - 9 6 ; M - 1 ~ E - 9 5 ; M - 1 ~ D - 9 4 ; M - 1 ~ Q - 9 3 ; M
 - 1 ~ E - 9 2 ; M - 1 ~ S - 9 1 ; M - 1 ~ L - 9 0 ; M - 1 ~ E - 8 9 ; M - 1 ~ D
 - 8 8 ; M - 1 ~ K - 8 7 ; M - 1 ~ G - 8 6 ; M - 1 ~ E - 8 5 ; M - 1 ~ K - 8 4 ;
 M - 1 ~ F - 8 3 ; M - 1 ~ E - 8 2 ; M - 1 ~ H - 8 1 ; M - 1 ~ V - 8 0 ; M - 1 ~
 L - 7 9 ; M - 1 ~ G - 7 8 ; M - 1 ~ L - 7 7 ; M - 1 ~ V - 7 6 ; M - 1 ~ G - 7 5
 ; M - 1 ~ E - 7 4 ; M - 1 ~ K - 7 3 ; M - 1 ~ L - 7 2 ; M - 1 ~ W - 7 1 ; M - 1
 ~ Q - 7 0 ; M - 1 ~ I - 6 9 ; M - 1 ~ V - 6 8 ; M - 1 ~ I - 6 7 ; M - 1 ~ D - 6
 6 ; M - 1 ~ S - 6 5 ; M - 1 ~ L - 6 4 ; M - 1 ~ K - 6 3 ; M - 1 ~ I - 6 2 ; M -
 1 ~ D - 6 1 ; M - 1 ~ P - 6 0 ; M - 1 ~ E - 5 9 ; M - 1 ~ F - 5 8 ; M - 1 ~ T -
 5 7 ; M - 1 ~ C - 5 6 ; M - 1 ~ S - 5 5 ; M - 1 ~ L - 5 4 ; M - 1 ~ I - 5 3 ; M 40
 - 1 ~ G - 5 2 ; M - 1 ~ D - 5 1 ; M - 1 ~ E - 5 0 ; M - 1 ~ G - 4 9 ; M - 1 ~ I
 - 4 8 ; M - 1 ~ N - 4 7 ; M - 1 ~ G - 4 6 ; M - 1 ~ A - 4 5 ; M - 1 ~ S - 4 4 ;
 M - 1 ~ A - 4 3 ; M - 1 ~ V - 4 2 ; M - 1 ~ T - 4 1 ; M - 1 ~ T - 4 0 ; M - 1 ~
 V - 3 9 ; M - 1 ~ T - 3 8 ; M - 1 ~ I - 3 7 ; M - 1 ~ S - 3 6 ; M - 1 ~ H - 3 5
 ; M - 1 ~ R - 3 4 ; M - 1 ~ G - 3 3 ; M - 1 ~ S - 3 2 ; M - 1 ~ I - 3 1 ; M - 1
 ~ G - 3 0 ; M - 1 ~ F - 2 9 ; M - 1 ~ G - 2 8 ; M - 1 ~ I - 2 7 ; M - 1 ~ I - 2
 6 ; M - 1 ~ L - 2 5 ; M - 1 ~ A - 2 4 ; M - 1 ~ I - 2 3 ; M - 1 ~ A - 2 2 ; M -
 1 ~ G - 2 1 ; M - 1 ~ A - 2 0 ; M - 1 ~ L - 1 9 ; M - 1 ~ I - 1 8 ; M - 1 ~ I -
 1 7 ; M - 1 ~ I - 1 6 ; M - 1 ~ I - 1 5 ; M - 1 ~ S - 1 4 ; M - 1 ~ I - 1 3 ; M
 - 1 ~ I - 1 2 ; M - 1 ~ S - 1 1 ; M - 1 ~ W - 1 0 ; M - 1 ~ F - 9 ; M - 1 ~ L - 50

8 ; および / または M - 1 ~ I - 7 。 1 以上のこれらのポリペプチドに結合する抗体と同様に、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドもまた本発明によって包含される。さらに、これらのポリペプチドのフラグメントおよび改変体（例えば、本明細書中に記載される通りのフラグメント、これらのポリペプチドに対して少なくとも 80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 % または 99 % 同一のポリペプチド、およびストリンジентな条件下で、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドまたはその相補体に対してハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド）は、本発明によって包含される。本発明のこれらのフラグメントおよび改変体を結合する抗体もまた、本発明によって包含される。これらのフラグメントおよび改変体をコードするポリヌクレオチドもまた本発明によって包含される。

10

【 0 0 5 8 】

また、上記のように、たとえ、タンパク質の C 末端からの 1 以上のアミノ酸の欠失が、このタンパク質の 1 以上の生物学的機能（例えば、混合リンパ球反応を阻害する能力）の喪失の改変をもたらしたとしても、他の機能的活性（例えば、生物学的活性、多量体を形成する能力、レセプターを結合する能力、抗体を誘導する能力、抗体を結合する能力）は依然として保持され得る。例えば、短縮化されたポリペプチドが、完全形態または成熟形態のこのポリペプチドを認識する抗体を誘導する能力および / またはこの抗体に結合する能力は一般に、完全ポリペプチドまたは成熟ポリペプチドの大多数よりも少ない残基が C 末端から除去された場合、保持される。完全ポリペプチドの C 末端残基を欠く特定のポリペプチドがこのような免疫学的活性を保持するか否かは、本明細書中に記載され、かつ当該分野で他に公知である、慣用的方法によって容易に決定され得る。おそらく、多数の C 末端アミノ酸残基が欠失したポリペプチドは、いくつかの生物学的活性または免疫学的活性を保持し得るようである。実際、6 アミノ酸程度の少ない残基から構成されるペプチドはしばしば、免疫応答を惹起し得る。

20

【 0 0 5 9 】

さらに特に、本発明は、B7-HS タンパク質の成熟細胞外部分（配列番号 28）の以下の N 末端欠失物の群から選択されるアミノ酸配列を含むかあるいはこのアミノ酸配列からなるポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する：配列番号 14 の I - 26 ~ N - 255 ; I - 27 ~ N - 255 ; G - 28 ~ N - 255 ; F - 29 ~ N - 255 ; G - 30 ~ N - 255 ; I - 31 ~ N - 255 ; S - 32 ~ N - 255 ; G - 33 ~ N - 255 ; R - 34 ~ N - 255 ; H - 35 ~ N - 255 ; S - 36 ~ N - 255 ; I - 37 ~ N - 255 ; T - 38 ~ N - 255 ; V - 39 ~ N - 255 ; T - 40 ~ N - 255 ; T - 41 ~ N - 255 ; V - 42 ~ N - 255 ; A - 43 ~ N - 255 ; S - 44 ~ N - 255 ; A - 45 ~ N - 255 ; G - 46 ~ N - 255 ; N - 47 ~ N - 255 ; I - 48 ~ N - 255 ; G - 49 ~ N - 255 ; E - 50 ~ N - 255 ; D - 51 ~ N - 255 ; G - 52 ~ N - 255 ; I - 53 ~ N - 255 ; L - 54 ~ N - 255 ; S - 55 ~ N - 255 ; C - 56 ~ N - 255 ; T - 57 ~ N - 255 ; F - 58 ~ N - 255 ; E - 59 ~ N - 255 ; P - 60 ~ N - 255 ; D - 61 ~ N - 255 ; I - 62 ~ N - 255 ; K - 63 ~ N - 255 ; L - 64 ~ N - 255 ; S - 65 ~ N - 255 ; D - 66 ~ N - 255 ; I - 67 ~ N - 255 ; V - 68 ~ N - 255 ; I - 69 ~ N - 255 ; Q - 70 ~ N - 255 ; W - 71 ~ N - 255 ; L - 72 ~ N - 255 ; K - 73 ~ N - 255 ; E - 74 ~ N - 255 ; G - 75 ~ N - 255 ; V - 76 ~ N - 255 ; L - 77 ~ N - 255 ; G - 78 ~ N - 255 ; L - 79 ~ N - 255 ; V - 80 ~ N - 255 ; H - 81 ~ N - 255 ; E - 82 ~ N - 255 ; F - 83 ~ N - 255 ; K - 84 ~ N - 255 ; E - 85 ~ N - 255 ; G - 86 ~ N - 255 ; K - 87 ~ N - 255 ; D - 88 ~ N - 255 ; E - 89 ~ N - 255 ; L - 90 ~ N - 255 ; S - 91 ~ N - 255 ; E - 92 ~ N - 255 ; Q - 93 ~ N - 255 ; D - 94 ~ N - 255 ; E - 95 ~ N - 255 ; M - 96 ~ N - 255 ; F - 97 ~ N - 255 ; R - 98 ~ N - 255 ; G - 99 ~ N - 255 ; R - 100 ~ N - 255 ; T - 101 ~ N - 255 ; A - 102 ~ N - 255 ; V - 103 ~ N - 255 ; F - 104 ~ N - 255 ; A - 105 ~ N - 255

30

40

50

; D - 1 0 6 ~ N - 2 5 5 ; Q - 1 0 7 ~ N - 2 5 5 ; V - 1 0 8 ~ N - 2 5 5 ; I - 1
 0 9 ~ N - 2 5 5 ; V - 1 1 0 ~ N - 2 5 5 ; G - 1 1 1 ~ N - 2 5 5 ; N - 1 1 2 ~ N
 - 2 5 5 ; A - 1 1 3 ~ N - 2 5 5 ; S - 1 1 4 ~ N - 2 5 5 ; L - 1 1 5 ~ N - 2 5 5
 ; R - 1 1 6 ~ N - 2 5 5 ; L - 1 1 7 ~ N - 2 5 5 ; K - 1 1 8 ~ N - 2 5 5 ; N - 1
 1 9 ~ N - 2 5 5 ; V - 1 2 0 ~ N - 2 5 5 ; Q - 1 2 1 ~ N - 2 5 5 ; L - 1 2 2 ~ N
 - 2 5 5 ; T - 1 2 3 ~ N - 2 5 5 ; D - 1 2 4 ~ N - 2 5 5 ; A - 1 2 5 ~ N - 2 5 5
 ; G - 1 2 6 ~ N - 2 5 5 ; T - 1 2 7 ~ N - 2 5 5 ; Y - 1 2 8 ~ N - 2 5 5 ; K - 1
 2 9 ~ N - 2 5 5 ; C - 1 3 0 ~ N - 2 5 5 ; Y - 1 3 1 ~ N - 2 5 5 ; I - 1 3 2 ~ N
 - 2 5 5 ; I - 1 3 3 ~ N - 2 5 5 ; T - 1 3 4 ~ N - 2 5 5 ; S - 1 3 5 ~ N - 2 5 5
 ; K - 1 3 6 ~ N - 2 5 5 ; G - 1 3 7 ~ N - 2 5 5 ; K - 1 3 8 ~ N - 2 5 5 ; G - 1 10
 3 9 ~ N - 2 5 5 ; N - 1 4 0 ~ N - 2 5 5 ; A - 1 4 1 ~ N - 2 5 5 ; N - 1 4 2 ~ N
 - 2 5 5 ; L - 1 4 3 ~ N - 2 5 5 ; E - 1 4 4 ~ N - 2 5 5 ; Y - 1 4 5 ~ N - 2 5 5
 ; K - 1 4 6 ~ N - 2 5 5 ; T - 1 4 7 ~ N - 2 5 5 ; G - 1 4 8 ~ N - 2 5 5 ; A - 1
 4 9 ~ N - 2 5 5 ; F - 1 5 0 ~ N - 2 5 5 ; S - 1 5 1 ~ N - 2 5 5 ; M - 1 5 2 ~ N
 - 2 5 5 ; P - 1 5 3 ~ N - 2 5 5 ; E - 1 5 4 ~ N - 2 5 5 ; V - 1 5 5 ~ N - 2 5 5
 ; N - 1 5 6 ~ N - 2 5 5 ; V - 1 5 7 ~ N - 2 5 5 ; D - 1 5 8 ~ N - 2 5 5 ; Y - 1
 5 9 ~ N - 2 5 5 ; N - 1 6 0 ~ N - 2 5 5 ; A - 1 6 1 ~ N - 2 5 5 ; S - 1 6 2 ~ N
 - 2 5 5 ; S - 1 6 3 ~ N - 2 5 5 ; E - 1 6 4 ~ N - 2 5 5 ; T - 1 6 5 ~ N - 2 5 5
 ; L - 1 6 6 ~ N - 2 5 5 ; R - 1 6 7 ~ N - 2 5 5 ; C - 1 6 8 ~ N - 2 5 5 ; E - 1
 6 9 ~ N - 2 5 5 ; A - 1 7 0 ~ N - 2 5 5 ; P - 1 7 1 ~ N - 2 5 5 ; R - 1 7 2 ~ N 20
 - 2 5 5 ; W - 1 7 3 ~ N - 2 5 5 ; F - 1 7 4 ~ N - 2 5 5 ; P - 1 7 5 ~ N - 2 5 5
 ; Q - 1 7 6 ~ N - 2 5 5 ; P - 1 7 7 ~ N - 2 5 5 ; T - 1 7 8 ~ N - 2 5 5 ; V - 1
 7 9 ~ N - 2 5 5 ; V - 1 8 0 ~ N - 2 5 5 ; W - 1 8 1 ~ N - 2 5 5 ; A - 1 8 2 ~ N
 - 2 5 5 ; S - 1 8 3 ~ N - 2 5 5 ; Q - 1 8 4 ~ N - 2 5 5 ; V - 1 8 5 ~ N - 2 5 5
 ; D - 1 8 6 ~ N - 2 5 5 ; Q - 1 8 7 ~ N - 2 5 5 ; G - 1 8 8 ~ N - 2 5 5 ; A - 1
 8 9 ~ N - 2 5 5 ; N - 1 9 0 ~ N - 2 5 5 ; F - 1 9 1 ~ N - 2 5 5 ; S - 1 9 2 ~ N
 - 2 5 5 ; E - 1 9 3 ~ N - 2 5 5 ; V - 1 9 4 ~ N - 2 5 5 ; S - 1 9 5 ~ N - 2 5 5
 ; N - 1 9 6 ~ N - 2 5 5 ; T - 1 9 7 ~ N - 2 5 5 ; S - 1 9 8 ~ N - 2 5 5 ; F - 1
 9 9 ~ N - 2 5 5 ; E - 2 0 0 ~ N - 2 5 5 ; L - 2 0 1 ~ N - 2 5 5 ; N - 2 0 2 ~ N
 - 2 5 5 ; S - 2 0 3 ~ N - 2 5 5 ; E - 2 0 4 ~ N - 2 5 5 ; N - 2 0 5 ~ N - 2 5 5 30
 ; V - 2 0 6 ~ N - 2 5 5 ; T - 2 0 7 ~ N - 2 5 5 ; M - 2 0 8 ~ N - 2 5 5 ; K - 2
 0 9 ~ N - 2 5 5 ; V - 2 1 0 ~ N - 2 5 5 ; V - 2 1 1 ~ N - 2 5 5 ; S - 2 1 2 ~ N
 - 2 5 5 ; V - 2 1 3 ~ N - 2 5 5 ; L - 2 1 4 ~ N - 2 5 5 ; Y - 2 1 5 ~ N - 2 5 5
 ; N - 2 1 6 ~ N - 2 5 5 ; V - 2 1 7 ~ N - 2 5 5 ; T - 2 1 8 ~ N - 2 5 5 ; I - 2
 1 9 ~ N - 2 5 5 ; N - 2 2 0 ~ N - 2 5 5 ; N - 2 2 1 ~ N - 2 5 5 ; T - 2 2 2 ~ N
 - 2 5 5 ; Y - 2 2 3 ~ N - 2 5 5 ; S - 2 2 4 ~ N - 2 5 5 ; C - 2 2 5 ~ N - 2 5 5
 ; M - 2 2 6 ~ N - 2 5 5 ; I - 2 2 7 ~ N - 2 5 5 ; E - 2 2 8 ~ N - 2 5 5 ; N - 2
 2 9 ~ N - 2 5 5 ; D - 2 3 0 ~ N - 2 5 5 ; I - 2 3 1 ~ N - 2 5 5 ; A - 2 3 2 ~ N
 - 2 5 5 ; K - 2 3 3 ~ N - 2 5 5 ; A - 2 3 4 ~ N - 2 5 5 ; T - 2 3 5 ~ N - 2 5 5
 ; G - 2 3 6 ~ N - 2 5 5 ; D - 2 3 7 ~ N - 2 5 5 ; I - 2 3 8 ~ N - 2 5 5 ; K - 2 40
 3 9 ~ N - 2 5 5 ; V - 2 4 0 ~ N - 2 5 5 ; T - 2 4 1 ~ N - 2 5 5 ; E - 2 4 2 ~ N
 - 2 5 5 ; S - 2 4 3 ~ N - 2 5 5 ; E - 2 4 4 ~ N - 2 5 5 ; I - 2 4 5 ~ N - 2 5 5
 ; K - 2 4 6 ~ N - 2 5 5 ; R - 2 4 7 ~ N - 2 5 5 ; R - 2 4 8 ~ N - 2 5 5 ; S - 2
 4 9 ~ N - 2 5 5 ; および / または H - 2 5 0 ~ N - 2 5 5 。 1 以上のこれらのポリペプ
 チドに結合する抗体と同様に、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドもま
 た本発明によって包含される。さらに、これらのポリペプチドのフラグメントおよび改変
 体（例えば、本明細書中に記載される通りのフラグメント、これらのポリペプチドに対し
 て少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 % または 9 9 % 同
 一のポリペプチド、およびストリンジェントな条件下で、これらのポリペプチドをコード
 するポリヌクレオチドまたはその相補体に対してハイブリダイズするポリヌクレオチドに 50

よってコードされるポリペプチド)は、本発明によって包含される。本発明のこれらのフラグメントおよび改変体を結合する抗体もまた、本発明によって包含される。これらのフラグメントおよび改変体をコードするポリヌクレオチドもまた本発明によって包含される。

【0060】

さらに、本発明は、B7-HSタンパク質の成熟細胞外部分(配列番号28)の以下のC末端欠失物の群から選択されるアミノ酸配列を含むかあるいはこのアミノ酸配列からなるポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する：配列番号14のL-25~L-254；L-25~L-253；L-25~Q-252；L-25~L-251；L-25~H-250；L-25~S-249；L-25~R-248；L-25~R-247；L-25~K-246；L-25~I-245；L-25~E-244；L-25~S-243；L-25~E-242；L-25~T-241；L-25~V-240；L-25~K-239；L-25~I-238；L-25~D-237；L-25~G-236；L-25~T-235；L-25~A-234；L-25~K-233；L-25~A-232；L-25~I-231；L-25~D-230；L-25~N-229；L-25~E-228；L-25~I-227；L-25~M-226；L-25~C-225；L-25~S-224；L-25~Y-223；L-25~T-222；L-25~N-221；L-25~N-220；L-25~I-219；L-25~T-218；L-25~V-217；L-25~N-216；L-25~Y-215；L-25~L-214；L-25~V-213；L-25~S-212；L-25~V-211；L-25~V-210；L-25~K-209；L-25~M-208；L-25~T-207；L-25~V-206；L-25~N-205；L-25~E-204；L-25~S-203；L-25~N-202；L-25~L-201；L-25~E-200；L-25~F-199；L-25~S-198；L-25~T-197；L-25~N-196；L-25~S-195；L-25~V-194；L-25~E-193；L-25~S-192；L-25~F-191；L-25~N-190；L-25~A-189；L-25~G-188；L-25~Q-187；L-25~D-186；L-25~V-185；L-25~Q-184；L-25~S-183；L-25~A-182；L-25~W-181；L-25~V-180；L-25~V-179；L-25~T-178；L-25~P-177；L-25~Q-176；L-25~P-175；L-25~F-174；L-25~W-173；L-25~R-172；L-25~P-171；L-25~A-170；L-25~E-169；L-25~C-168；L-25~R-167；L-25~L-166；L-25~T-165；L-25~E-164；L-25~S-163；L-25~S-162；L-25~A-161；L-25~N-160；L-25~Y-159；L-25~D-158；L-25~V-157；L-25~N-156；L-25~V-155；L-25~E-154；L-25~P-153；L-25~M-152；L-25~S-151；L-25~F-150；L-25~A-149；L-25~G-148；L-25~T-147；L-25~K-146；L-25~Y-145；L-25~E-144；L-25~L-143；L-25~N-142；L-25~A-141；L-25~N-140；L-25~G-139；L-25~K-138；L-25~G-137；L-25~K-136；L-25~S-135；L-25~T-134；L-25~I-133；L-25~I-132；L-25~Y-131；L-25~C-130；L-25~K-129；L-25~Y-128；L-25~T-127；L-25~G-126；L-25~A-125；L-25~D-124；L-25~T-123；L-25~L-122；L-25~Q-121；L-25~V-120；L-25~N-119；L-25~K-118；L-25~L-117；L-25~R-116；L-25~L-115；L-25~S-114；L-25~A-113；L-25~N-112；L-25~G-111；L-25~V-110；L-25~I-109；L-25~V-108；L-25~Q-107；L-25~D-106；L-25~A-105；L-25~F-104；L-25~V-103；L-25~A-102；L-25

10

20

30

40

50

~ T - 1 0 1 ; L - 2 5 ~ R - 1 0 0 ; L - 2 5 ~ G - 9 9 ; L - 2 5 ~ R - 9 8 ; L -
 2 5 ~ F - 9 7 ; L - 2 5 ~ M - 9 6 ; L - 2 5 ~ E - 9 5 ; L - 2 5 ~ D - 9 4 ; L -
 2 5 ~ Q - 9 3 ; L - 2 5 ~ E - 9 2 ; L - 2 5 ~ S - 9 1 ; L - 2 5 ~ L - 9 0 ; L -
 2 5 ~ E - 8 9 ; L - 2 5 ~ D - 8 8 ; L - 2 5 ~ K - 8 7 ; L - 2 5 ~ G - 8 6 ; L -
 2 5 ~ E - 8 5 ; L - 2 5 ~ K - 8 4 ; L - 2 5 ~ F - 8 3 ; L - 2 5 ~ E - 8 2 ; L -
 2 5 ~ H - 8 1 ; L - 2 5 ~ V - 8 0 ; L - 2 5 ~ L - 7 9 ; L - 2 5 ~ G - 7 8 ; L -
 2 5 ~ L - 7 7 ; L - 2 5 ~ V - 7 6 ; L - 2 5 ~ G - 7 5 ; L - 2 5 ~ E - 7 4 ; L -
 2 5 ~ K - 7 3 ; L - 2 5 ~ L - 7 2 ; L - 2 5 ~ W - 7 1 ; L - 2 5 ~ Q - 7 0 ; L -
 2 5 ~ I - 6 9 ; L - 2 5 ~ V - 6 8 ; L - 2 5 ~ I - 6 7 ; L - 2 5 ~ D - 6 6 ; L -
 2 5 ~ S - 6 5 ; L - 2 5 ~ L - 6 4 ; L - 2 5 ~ K - 6 3 ; L - 2 5 ~ I - 6 2 ; L - 10
 2 5 ~ D - 6 1 ; L - 2 5 ~ P - 6 0 ; L - 2 5 ~ E - 5 9 ; L - 2 5 ~ F - 5 8 ; L -
 2 5 ~ T - 5 7 ; L - 2 5 ~ C - 5 6 ; L - 2 5 ~ S - 5 5 ; L - 2 5 ~ L - 5 4 ; L -
 2 5 ~ I - 5 3 ; L - 2 5 ~ G - 5 2 ; L - 2 5 ~ D - 5 1 ; L - 2 5 ~ E - 5 0 ; L -
 2 5 ~ G - 4 9 ; L - 2 5 ~ I - 4 8 ; L - 2 5 ~ N - 4 7 ; L - 2 5 ~ G - 4 6 ; L -
 2 5 ~ A - 4 5 ; L - 2 5 ~ S - 4 4 ; L - 2 5 ~ A - 4 3 ; L - 2 5 ~ V - 4 2 ; L -
 2 5 ~ T - 4 1 ; L - 2 5 ~ T - 4 0 ; L - 2 5 ~ V - 3 9 ; L - 2 5 ~ T - 3 8 ; L -
 2 5 ~ I - 3 7 ; L - 2 5 ~ S - 3 6 ; L - 2 5 ~ H - 3 5 ; L - 2 5 ~ R - 3 4 ; L -
 2 5 ~ G - 3 3 ; L - 2 5 ~ S - 3 2 ; および / または L - 2 5 ~ I - 3 1 。 1 以上のこ
 れらのポリペプチドに結合する抗体と同様に、これらのポリペプチドをコードするポリヌ
 クレオチドもまた本発明によって包含される。さらに、これらのポリペプチドのフラグメン
 トおよび改変体（例えば、本明細書中に記載される通りのフラグメント、これらのポリ
 ペプチドに対して少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%
 または99%同一のポリペプチド、およびストリンジェントな条件下で、これらのポリペ
 プチドをコードするポリヌクレオチドまたはその相補体に対してハイブリダイズするポリ
 ヌクレオチドによってコードされるポリペプチド）は、本発明によって包含される。本発
 明のこれらのフラグメントおよび改変体を結合する抗体もまた、本発明によって包含され
 る。これらのフラグメントおよび改変体をコードするポリヌクレオチドもまた本発明によ
 って包含される。 20

【0061】

さらに、上記に列挙したN末端欠失またはC末端欠失のいずれかを組み合わせて、N末端
 欠失ポリペプチドおよびC末端欠失ポリペプチドを産生し得る。本発明はまた、アミノ末
 端およびカルボキシル末端の両方から1以上のアミノ酸が欠失したポリペプチドを含むか
 あるいはそのポリペプチドからなるポリペプチドを提供し、ここで、このポリペプチドは
 、配列番号14の残基m - nと有すると一般的に記載され得、ここで、nおよびmは、上
 記に記載した通りの整数である。これらのポリペプチドのフラグメントおよび / または改
 変体（例えば、本明細書中に記載された通りのフラグメントおよび / または改変体）は、
 本発明によって包含される。これらのポリペプチド（フラグメントおよび / または改変体
 を含む）をコードするポリヌクレオチドもまた、これらのポリペプチドを結合する抗体と
 同様に、本発明によって包含される。 30

【0062】

本発明はまた、m - nとして本明細書中に示されるポリペプチド配列に対して少なくとも
 80%、85%、90%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%ま
 たは99%同一のポリペプチドを含むタンパク質に関する。好ましい実施形態では、本出
 願は、本明細書中に記載される特定のN末端欠失およびC末端欠失のアミノ酸配列を有す
 るポリペプチドに対して少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、
 98%または99%同一のポリペプチドを含むタンパク質に関する。これらのポリペプチ
 ドのフラグメントおよび / または改変体（例えば、本明細書中に記載される通りのフラグ
 メントおよび / または改変体）は、本発明によって包含される。これらのポリペプチド（
 フラグメントおよび / または改変体を含む）をコードするポリヌクレオチドもまた、これ
 らのポリペプチドを結合する抗体と同様に、本発明によって包含される。 40
 50

【0063】

また含まれるのは、ATCC受託番号PTA-2332に含まれるcDNAクローンによってコードされる完全アミノ酸配列の一部からなるポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列であり、ここで、この部分は、ATCC受託番号PTA-2332に含まれるcDNAクローンによってコードされる完全アミノ酸配列のアミノ末端から1～約276アミノ酸の任意の整数のアミノ酸残基、もしくはカルボキシ末端の1～約276アミノ酸の任意の整数のアミノ酸残基、またはATCC受託番号PTA-2332に含まれるcDNAクローンによってコードされる完全アミノ酸配列の上記のアミノ末端欠失およびカルボキシ末端欠失の任意の組合せを排除する。これらのポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドもまた、本発明によって包含される。

10

【0064】

本明細書中で記載される場合、さもなければ当該分野で公知の場合、本発明のポリヌクレオチドは、染色体同定、染色体マッピングおよび連鎖解析においてプローブまたはプライマーとして供されることを含むがこれらに限定されない用途を有する。

【0065】

この遺伝子は、樹状細胞、T細胞および胎児脳組織において発現されることが見出された。

【0066】

この遺伝子に対応するポリヌクレオチド、翻訳産物および抗体は、生物学的試料中に存在する免疫系の組織または細胞型の示差的同定のため、ならびに、免疫系活性化、免疫刺激および/または免疫監視機構に関与する疾患および/または障害(樹状細胞、好中球および白血球のような他の免疫系の細胞に加えて、特にT細胞に関与する)を含むが、これらに限定されない疾患および障害状態、ならびに神経系の疾患および/または障害の診断のための試薬として有用である。同様に、ポリペプチドおよびこれらのポリペプチドに対する抗体は、組織または細胞型の示差的同定のための免疫学的プローブを提供することに有用である。B7-H8タンパク質の活性についてのアンタゴニストとして作用する、このタンパク質の細胞外部分に対する抗体の使用が特に意図される。このようなアンタゴニスト性抗体は、本明細書に記載されるような生物学的活性(例えば、T細胞調節活性)の予防および/または阻害に有用である。

20

【0067】

上記組織または細胞(特に免疫系の組織および細胞)の多数の障害について、標準の遺伝子発現レベル(すなわち、この障害を有さない個体由来の健常組織または体液中の発現レベル)と比較して有意により高いまたはより低いレベルのこの遺伝子の発現が、このような障害を有する個体から採取された特定の組織もしくは細胞型(例えば、免疫組織、神経組織、癌性組織および創傷組織)または体液(例えば、リンパ、血清、血漿、尿、滑液および髄液)または別の組織もしくは細胞サンプルの中で、慣用的に検出され得る。

30

【0068】

免疫細胞(例えば、T細胞および樹状細胞)における組織分布、およびB7ファミリーのリガンドのメンバーに対する相同性は、この遺伝子に対応するポリヌクレオチド、翻訳産物および抗体が、免疫系の活性化、刺激および/または監視機構(特に、T細胞、好中球、樹状細胞、白血球および他の免疫系の細胞に関与するもの)に関与する疾患および/または障害の診断、検出および/または処置に有用であることを示す。特に、B7-H8遺伝子の翻訳産物は、T細胞の補助刺激、ICOSへの結合に関与し得、そして/または例えば、特定のサイトカインの発現の調節に役割を果たし得る。

40

【0069】

より一般的には、免疫系の細胞における組織分布は、この遺伝子産物が、サイトカイン産生、抗原提示、または(例えば、免疫応答をブーストすることにより)癌の処置における有用性をも示唆し得る他のプロセスの調節に関与し得ることを示す。この遺伝子は免疫系起源の細胞で発現されるので、この遺伝子に対応するポリヌクレオチド、翻訳産物および抗体は、免疫系の細胞および組織についての腫瘍マーカーおよび/または免疫療法標的と

50

しての有用性を示し得る。

【0070】

この遺伝子に対応するポリヌクレオチド、翻訳産物および抗体はまた、関節炎、喘息、AIDSのような免疫不全疾患、白血病、慢性関節リウマチ、炎症性腸疾患、敗血症、挫傷および乾癬を含む、免疫学的障害のための薬剤として使用され得る。さらに、この遺伝子産物は、種々の血液系列の幹細胞および方向付けられた前駆体の増大において、ならびに種々の細胞型の分化および/または増殖において商業的有用性を有し得る。さらに、このタンパク質はまた、その栄養補給剤としての使用に加えて、生物学的活性を決定するために、抗体を惹起するために、組織マーカーとして、同族のリガンドまたはレセプターを単離するために、それらの相互作用を調節する薬剤を同定するために使用され得る。

10

【0071】

乳児脳組織における発現は、このクローンに対応するポリヌクレオチド、翻訳産物および抗体が、神経変性疾患状態および行動障害（例えば、アルツハイマー病、パーキンソン病、ハンチントン病、ツレット症候群、精神分裂病、躁病、痴呆、妄想症、強迫性障害、恐慌性障害、学習障害、ALS、精神病、自閉および行動変化（栄養補給、睡眠パターン、平衡および知覚の障害を含む）の検出および/または処置に有用であることを示唆する。さらに、この遺伝子または遺伝子産物はまた、発生中の胚に関連する発生障害または伴性障害の処置および/または検出において役割を果たし得る。さらに、この遺伝子に対応するポリヌクレオチド、翻訳産物および抗体は、上記に列挙した組織についての腫瘍マーカーおよび/または免疫療法標的としての有用性を示し得る。

20

【0072】

（遺伝子番号2によってコードされるタンパク質の特徴）

本出願の目的のために、この遺伝子およびその対応する翻訳産物は、B7-H7遺伝子およびB7-H7タンパク質として知られる。このタンパク質は、細胞表面分子として存在すると考えられ、そしてこのタンパク質の膜貫通ドメインは、以下の好ましいアミノ酸残基をほぼ具体化すると考えられる：PTWLLHIFIPSCIIAIFIFIATVIALRKQLC（配列番号30）。1以上のこれらのペプチドに結合する抗体と同様に、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドもまた、本発明によって包含される。当業者が理解するように、膜貫通ドメインは、コンピュータ分析を用いて予測された。そして、この膜貫通ドメインは、推定された膜貫通ドメインのN末端およびC末端から1、

30

【0073】

B7-H7遺伝子は、B7ファミリーのリガンドのメンバー（すなわち、B7-H1（Genbank登録番号AAF25807を参照のこと））と配列相同性を共有する。これらのタンパク質およびそれらの対応するレセプターは、T細胞の増殖、分化、活性化、増殖および死において生存維持に必要な役割を果たす。例えば、このファミリーのいくつかのメンバー（すなわち、B7-H1）は、T細胞応答の補助刺激、ならびにのサイトカイン産生の増大の誘導に関与し、一方、ファミリーの他のメンバーは、T細胞応答の負の調節に関与する。それゆえ、B7-H7遺伝子に対するアゴニストおよびアンタゴニスト（例えば、抗体または低分子）は、T細胞媒介免疫系障害ならびに他の免疫系細胞（例えば、好中球、マクロファージおよび白血球）の障害を処置するために有用である。

40

【0074】

本発明の好ましいポリペプチドは、配列番号15に以下の残基として示される、B7-H7タンパク質の免疫原性エピトープのうち1、2、3、4、5、6、7、または7個全てを含むあるいはこれらからなる：Lys-61~Arg-72、Arg-95~Tyr-100、Ala-121~Ile-126、Asn-163~Gly-172、Lys-183~Asn-189、Ser-211~His-218およびLeu-251~Val-269。1以上のこれらのポリペプチドに結合する抗体と同様に、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドもまた本発明によって包含される。さらに、これらのポリペプチドのフラグメントおよび改変体（例えば、本明細書中に記載される通りのフ

50

ラグメント、これらのポリペプチドに対して少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%または99%同一のポリペプチド、およびストリンジェントな条件下で、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドまたはその相補体に対してハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド)は、本発明によって包含される。本発明のこれらのフラグメントおよび改変体を結合する抗体もまた、本発明によって包含される。これらのフラグメントおよび改変体をコードするポリヌクレオチドもまた本発明によって包含される。

【0075】

さらなる非排他的な実施形態では、本発明のポリペプチドは、以下からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むかあるいはこのアミノ酸配列からなる：

【0076】

【化4】

B7-H7タンパク質の細胞外ドメイン：

MIFLLLMLSLELQLHQIAALFTVTVPKELYIIEHGSNVTLECNFDTGSHVNLGAITASLQKVENDTSPHRERATLLEEQLPLGKASFHIPQVQVRDEGQYQCIIYGVAWDYKYLT
LKVKASYRKINTHILKVPETDEVELTCQATGYPLAEVSWPNVSPANTSHSRTPEGLYQVTSVLRLKPPPGRNFSCVFWNTHVRELTLASIDLQSQMEPRTH (配列番号 31),

B7-H7タンパク質の成熟細胞外ドメイン：

LFTVTVPKELYIIEHGSNVTLECNFDTGSHVNLGAITASLQKVENDTSPHRERATLLEEQLPLGKASFHIPQVQVRDEGQYQCIIYGVAWDYKYLT
LKVKASYRKINTHILKVPETDEVELTCQATGYPLAEVSWPNVSPANTSHSRTPEGLYQVTSVLRLKPPPGRNFSCVFWNTHVRELTLASIDLQSQMEPRTH (配列番号 32) および/または

B7-H7タンパク質のリーダー配列：MIFLLLMLSLELQLHQIAA (配列番号 33).

1以上のこれらのポリペプチドに結合する抗体と同様に、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドもまた本発明によって包含される。さらに、これらのポリペプチドのフラグメントおよび改変体(例えば、本明細書中に記載される通りのフラグメント、これらのポリペプチドに対して少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%または99%同一のポリペプチド、およびストリンジェントな条件下で、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドまたはその相補体に対してハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド)は、本発明によって包含される。本発明のこれらのフラグメントおよび改変体を結合する抗体もまた、本発明によって包含される。これらのフラグメントおよび改変体をコードするポリヌクレオチドもまた本発明によって包含される。

【0077】

特定の実施形態では、本発明のポリペプチドは、B7-H7タンパク質の免疫グロブリン様領域の対から選択されるアミノ酸配列を含むかあるいはこのアミノ酸配列からなる：

【0078】

【化5】

ELYIIEHGSNVTLECNFDTGSHVNLGAITASLQKVENDTSPHRERATLLEEQLPLGKASFHIPQVQVRDEGQYQCIIYGVAWDYKYLT
LKVK (配列番号 34) および/または
SYRKINTHILKVPETDEVELTCQATGYPLAEVSWPNVSPANTSHSRTPEGLYQVTSVLRLKPPPGRNFSCVFWNTHVRELTLASIDLQSQMEP (配列番号 35).

1以上のこれらのポリペプチドに結合する抗体と同様に、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドもまた本発明によって包含される。さらに、これらのポリペプチドのフラグメントおよび改変体(例えば、本明細書中に記載される通りのフラグメント、こ

10

20

30

40

50

これらのポリペプチドに対して少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%または99%同一のポリペプチド、およびストリンジентな条件下で、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドまたはその相補体に対してハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド)は、本発明によって包含される。本発明のこれらのフラグメントおよび改変体を結合する抗体もまた、本発明によって包含される。これらのフラグメントおよび改変体をコードするポリヌクレオチドもまた本発明によって包含される。

【0079】

また好ましいのは、機能的活性を実証する、B7-H7タンパク質の成熟細胞外部分のフラグメント(配列番号32)を含むかまたはこのフラグメントからなるポリペプチドである。これらのポリペプチドのフラグメントおよび/または改変体(例えば、本明細書中に記載された通りのフラグメントおよび/または改変体)は、本発明によって包含される。これらのポリペプチド(フラグメントおよび/または改変体を含む)をコードするポリヌクレオチドもまた、これらのポリペプチドを結合する抗体と同様に、本発明によって包含される。

【0080】

機能的活性によって、全長(完全)B7-H7タンパク質に関連した1以上の公知の機能的活性を提示し得るポリペプチドフラグメントが意味される。このような機能的活性としては、生物学的活性(例えば、T細胞補助刺激活性、ICOS、CD25もしくはCTLA4に結合する能力、およびサイトカイン産生を誘導もしくは阻害する能力)、抗原性[抗B7-H7抗体に結合する(またはB7-H7ポリペプチドと結合について競合する)能力]、免疫原性(B7-H7ポリペプチドに結合する抗体を生成する能力)、本発明のB7-H7ポリペプチドと多量体を形成する能力、およびB7-H7ポリペプチドについてのレセプターに結合する能力が挙げられるがこれらに限定されない。

【0081】

図3A~図3Cは、この遺伝子に対応するヌクレオチド配列(配列番号3)および推定アミノ酸配列(配列番号15)を示す。

【0082】

図4は、アミノ酸配列(配列番号15)の分析を示す。領域、領域、ターン領域およびコイル領域;親水性両親媒性領域および疎水性両親媒性領域;可撓性領域;抗原性指数および表面確率を示し、そしてこれら全てを、記載されたコンピュータアルゴリズムのデフォルト設定を用いて作成した。「抗原性指数-Jameson-Wolf」のグラフにおいて、正のピークは、このタンパク質の高度に抗原性の領域(すなわち、本発明のエピトープ保有ペプチドが入手され得る領域)の位置を示す。これらのグラフによって規定されるドメインを含むかあるいはこのドメインからなるポリペプチドは、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドと同様に、本発明によって意図される。図4に提示されるデータもまた、表4において表の形式で提示される。欄を、見出し「Res」「Position」およびローマ数字のI~XIVで標記する。欄の見出しは、図4および表4に示されるアミノ酸配列の以下の特徴をいう:「Res」:配列番号15および図3A~3Cのアミノ酸残基;「Position」:配列番号15および図3A~3Cの対応する残基の位置;I:領域-Garnier-Robson;II:領域-Chou-Fasman;III:領域-Garnier-Robson;IV:領域-Chou-Fasman;V:ターン、領域-Garnier-Robson;VI:ターン、領域-Chou-Fasman;VII:コイル領域-Garnier-Robson;VIII:親水性プロット-Kyte-Doolittle;IX:親水性プロット-Hopp-Woods;X:両親媒性領域-Eisenberg;XI:両親媒性領域-Eisenberg;XII:可撓性領域-Karplus-Schulz;XIII:抗原性指数-Jameson-Wolf;およびXIV:表面確率プロット-Emini。これに関して、本発明の好ましい実施形態としては、以下の領域のうち1以上を含むかあるいはこれからなるフラグメントが挙げられる: -ヘリックス

および - ヘリックス形成領域(「 - 領域」)、 - シートおよび - シート形成領域(「 - 領域」)、ターンおよびターン形成領域(「ターン領域」)、コイルおよびコイル形成領域(「コイル領域」)、親水性領域、疎水性領域、両親媒性領域、両親媒性領域、可撓性領域、表面形成領域、ならびに高抗原性指数領域。上記のように、図4および/または表4に示されるタンパク質の構造的特性または機能的特性を表わすデータを、デフォルトパラメータに設定されたDNA*STARの種々のモジュールおよびアルゴリズムを使用して作製した。好ましい実施形態において、表4の欄VII I、IX、X I I、およびX I Vに示されるデータを使用して、高度の抗原性可能性を示すタンパク質領域を決定し得る。高抗原性の領域は、抗原認識が免疫応答の開始のプロセスにおいて生じ得る環境で、ポリペプチドの表面に露出されるようであるポリペプチドの領域を示す値を選択することによって、欄VII I、IX、X I I、および/またはI Vに示されるデータから決定される。これらに関して特定の好ましい領域は、図4に示されるが、表4に示されるように、図4に示されるデータの表形式を用いて表され得るかまたは同定され得る。図4(元のデフォルトパラメータに対して設定される)を作製するために使用されるDNA*STARコンピュータアルゴリズムを使用して、図4において表形式のデータ(表4を参照のこと)を示した。図4における表形式のデータ(表4を参照のこと)を使用して、好ましい領域の特定の境界を容易に決定し得る。

10

【0083】

本発明はさらに、本明細書中に記載されるポリヌクレオチド配列のフラグメントに関する。例えば、寄託されたcDNAのポリヌクレオチド配列または配列番号3に示されるヌクレオチド配列のフラグメントとは、本明細書中で考察される診断プローブおよびプライマーとして有用である、15nt、そしてより好ましくは少なくとも約20nt、少なくとも約25nt、さらにより好ましくは少なくとも約30nt、少なくとも約35nt、そしてなおより好ましくは少なくとも約40nt、少なくとも約45nt長、少なくとも約50nt長、少なくとも約60nt長、少なくとも約70nt長、少なくとも約80nt長、少なくとも約90nt長、少なくとも約100nt長、少なくとも約125nt長、少なくとも約150nt長、少なくとも約175nt長のポリヌクレオチドフラグメントを意図する。もちろん、より長いフラグメント200~1500nt長もまた、寄託されたcDNAまたは配列番号3に示されるヌクレオチド配列の、全てではなくても大部分に対応するフラグメントと同様に、本発明に従って有用である。例えば、少なくとも20nt長のフラグメントによって、寄託されたcDNAのヌクレオチド配列または配列番号3に示されるヌクレオチド配列由来の20以上連続した塩基を含むフラグメントが意図される。この文脈において「約」は、特に記載された大きさ、またはいずれかの末端もしくは両方の末端でそれより数個(5、4、3、2もしくは1)のヌクレオチドだけ大きいかもしれないかもしくは小さな大きさを含む。本発明のポリヌクレオチドフラグメントの代表例としては、例えば、以下の配列を含むかあるいはこの配列からなるフラグメントが挙げられる：配列番号3もしくはこれに相補的な鎖または寄託されたクローンに含まれるcDNAの約ヌクレオチド1~約50、約51~約100、約101~約150、約151~約200、約201~約250、約251~約300、約301~約350、約351~約400、約401~約450、約451~約500および約501~約550、そして約551~約600、約601~約650、約651~約700、約701~約750、約751~約800、および約801~約860。この文脈において「約」は、特に記載された範囲、およびいずれかの末端もしくは両方の末端でそれより数個(5、4、3、2もしくは1)のヌクレオチドだけ大きいかもしれないかもしくは小さな範囲を含む。さらなる実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、対応するタンパク質の機能的性質をコードする。

20

30

40

【0084】

本発明の好ましいポリペプチドフラグメントは、アミノ末端もしくはカルボキシ末端またはその両方から連続した一連の残基が欠失した分泌タンパク質を含むかあるいはこの分泌タンパク質からなる。特に、このポリペプチドのN末端欠失物は、一般式m-283によって記載され得、ここで、mは2~278の整数であり、mは、配列番号15において同

50

定されるアミノ酸残基の位置に対応する。さらに特に、本発明は、以下の群より選択されるアミノ酸配列を含むかあるいはこのアミノ酸配列からなるポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する：配列番号15のI - 2 ~ G - 283 ; F - 3 ~ G - 283 ; L - 4 ~ G - 283 ; L - 5 ~ G - 283 ; L - 6 ~ G - 283 ; M - 7 ~ G - 283 ; L - 8 ~ G - 283 ; S - 9 ~ G - 283 ; L - 10 ~ G - 283 ; E - 11 ~ G - 283 ; L - 12 ~ G - 283 ; Q - 13 ~ G - 283 ; L - 14 ~ G - 283 ; H - 15 ~ G - 283 ; Q - 16 ~ G - 283 ; I - 17 ~ G - 283 ; A - 18 ~ G - 283 ; A - 19 ~ G - 283 ; L - 20 ~ G - 283 ; F - 21 ~ G - 283 ; T - 22 ~ G - 283 ; V - 23 ~ G - 283 ; T - 24 ~ G - 283 ; V - 25 ~ G - 283 ; P - 26 ~ G - 283 ; K - 27 ~ G - 283 ; E - 28 ~ G - 283 ; L - 29 ~ G - 283 ; Y - 30 ~ G - 283 ; I - 31 ~ G - 283 ; I - 32 ~ G - 283 ; E - 33 ~ G - 283 ; H - 34 ~ G - 283 ; G - 35 ~ G - 283 ; S - 36 ~ G - 283 ; N - 37 ~ G - 283 ; V - 38 ~ G - 283 ; T - 39 ~ G - 283 ; L - 40 ~ G - 283 ; E - 41 ~ G - 283 ; C - 42 ~ G - 283 ; N - 43 ~ G - 283 ; F - 44 ~ G - 283 ; D - 45 ~ G - 283 ; T - 46 ~ G - 283 ; G - 47 ~ G - 283 ; S - 48 ~ G - 283 ; H - 49 ~ G - 283 ; V - 50 ~ G - 283 ; N - 51 ~ G - 283 ; L - 52 ~ G - 283 ; G - 53 ~ G - 283 ; A - 54 ~ G - 283 ; I - 55 ~ G - 283 ; T - 56 ~ G - 283 ; A - 57 ~ G - 283 ; S - 58 ~ G - 283 ; L - 59 ~ G - 283 ; Q - 60 ~ G - 283 ; K - 61 ~ G - 283 ; V - 62 ~ G - 283 ; E - 63 ~ G - 283 ; N - 64 ~ G - 283 ; D - 65 ~ G - 283 ; T - 66 ~ G - 283 ; S - 67 ~ G - 283 ; F - 68 ~ G - 283 ; H - 69 ~ G - 283 ; R - 70 ~ G - 283 ; E - 71 ~ G - 283 ; R - 72 ~ G - 283 ; A - 73 ~ G - 283 ; T - 74 ~ G - 283 ; L - 75 ~ G - 283 ; L - 76 ~ G - 283 ; E - 77 ~ G - 283 ; E - 78 ~ G - 283 ; Q - 79 ~ G - 283 ; L - 80 ~ G - 283 ; P - 81 ~ G - 283 ; L - 82 ~ G - 283 ; G - 83 ~ G - 283 ; K - 84 ~ G - 283 ; A - 85 ~ G - 283 ; S - 86 ~ G - 283 ; F - 87 ~ G - 283 ; H - 88 ~ G - 283 ; I - 89 ~ G - 283 ; P - 90 ~ G - 283 ; Q - 91 ~ G - 283 ; V - 92 ~ G - 283 ; Q - 93 ~ G - 283 ; V - 94 ~ G - 283 ; R - 95 ~ G - 283 ; D - 96 ~ G - 283 ; E - 97 ~ G - 283 ; G - 98 ~ G - 283 ; Q - 99 ~ G - 283 ; Y - 100 ~ G - 283 ; Q - 101 ~ G - 283 ; C - 102 ~ G - 283 ; I - 103 ~ G - 283 ; I - 104 ~ G - 283 ; I - 105 ~ G - 283 ; Y - 106 ~ G - 283 ; G - 107 ~ G - 283 ; V - 108 ~ G - 283 ; A - 109 ~ G - 283 ; W - 110 ~ G - 283 ; D - 111 ~ G - 283 ; Y - 112 ~ G - 283 ; K - 113 ~ G - 283 ; Y - 114 ~ G - 283 ; L - 115 ~ G - 283 ; T - 116 ~ G - 283 ; L - 117 ~ G - 283 ; K - 118 ~ G - 283 ; V - 119 ~ G - 283 ; K - 120 ~ G - 283 ; A - 121 ~ G - 283 ; S - 122 ~ G - 283 ; Y - 123 ~ G - 283 ; R - 124 ~ G - 283 ; K - 125 ~ G - 283 ; I - 126 ~ G - 283 ; N - 127 ~ G - 283 ; T - 128 ~ G - 283 ; H - 129 ~ G - 283 ; I - 130 ~ G - 283 ; L - 131 ~ G - 283 ; K - 132 ~ G - 283 ; V - 133 ~ G - 283 ; P - 134 ~ G - 283 ; E - 135 ~ G - 283 ; T - 136 ~ G - 283 ; D - 137 ~ G - 283 ; E - 138 ~ G - 283 ; V - 139 ~ G - 283 ; E - 140 ~ G - 283 ; L - 141 ~ G - 283 ; T - 142 ~ G - 283 ; C - 143 ~ G - 283 ; Q - 144 ~ G - 283 ; A - 145 ~ G - 283 ; T - 146 ~ G - 283 ; G - 147 ~ G - 283 ; Y - 148 ~ G - 283 ; P - 149 ~ G - 283 ; L - 150 ~ G - 283 ; A - 151 ~ G - 283 ; E - 152 ~ G - 283 ; V - 153 ~ G - 283 ; S - 154 ~ G - 283 ; W - 155 ~ G - 283 ; P - 156 ~ G - 283 ; N - 157 ~ G - 283 ; V - 158 ~ G - 283 ; S - 159 ~ G - 283 ; V - 160 ~ G - 283 ; P - 161 ~ G - 283 ; A - 162 ~ G - 283 ; N - 163 ~ G - 283 ; T - 164 ~ G - 283 ; S - 165 ~ G - 283 ; H - 166 ~ G - 283 ; S - 167 ~ G - 283 ; R - 168 ~ G - 283 ; T -

169 ~ G - 283 ; P - 170 ~ G - 283 ; E - 171 ~ G - 283 ; G - 172 ~
 G - 283 ; L - 173 ~ G - 283 ; Y - 174 ~ G - 283 ; Q - 175 ~ G - 28
 3 ; V - 176 ~ G - 283 ; T - 177 ~ G - 283 ; S - 178 ~ G - 283 ; V -
 179 ~ G - 283 ; L - 180 ~ G - 283 ; R - 181 ~ G - 283 ; L - 182 ~
 G - 283 ; K - 183 ~ G - 283 ; P - 184 ~ G - 283 ; P - 185 ~ G - 28
 3 ; P - 186 ~ G - 283 ; G - 187 ~ G - 283 ; R - 188 ~ G - 283 ; N -
 189 ~ G - 283 ; F - 190 ~ G - 283 ; S - 191 ~ G - 283 ; C - 192 ~
 G - 283 ; V - 193 ~ G - 283 ; F - 194 ~ G - 283 ; W - 195 ~ G - 28
 3 ; N - 196 ~ G - 283 ; T - 197 ~ G - 283 ; H - 198 ~ G - 283 ; V -
 199 ~ G - 283 ; R - 200 ~ G - 283 ; E - 201 ~ G - 283 ; L - 202 ~ 10
 G - 283 ; T - 203 ~ G - 283 ; L - 204 ~ G - 283 ; A - 205 ~ G - 28
 3 ; S - 206 ~ G - 283 ; I - 207 ~ G - 283 ; D - 208 ~ G - 283 ; L -
 209 ~ G - 283 ; Q - 210 ~ G - 283 ; S - 211 ~ G - 283 ; Q - 212 ~
 G - 283 ; M - 213 ~ G - 283 ; E - 214 ~ G - 283 ; P - 215 ~ G - 28
 3 ; R - 216 ~ G - 283 ; T - 217 ~ G - 283 ; H - 218 ~ G - 283 ; P -
 219 ~ G - 283 ; T - 220 ~ G - 283 ; W - 221 ~ G - 283 ; L - 222 ~
 G - 283 ; L - 223 ~ G - 283 ; H - 224 ~ G - 283 ; I - 225 ~ G - 28
 3 ; F - 226 ~ G - 283 ; I - 227 ~ G - 283 ; P - 228 ~ G - 283 ; S -
 229 ~ G - 283 ; C - 230 ~ G - 283 ; I - 231 ~ G - 283 ; I - 232 ~
 G - 283 ; A - 233 ~ G - 283 ; F - 234 ~ G - 283 ; I - 235 ~ G - 28 20
 3 ; F - 236 ~ G - 283 ; I - 237 ~ G - 283 ; A - 238 ~ G - 283 ; T -
 239 ~ G - 283 ; V - 240 ~ G - 283 ; I - 241 ~ G - 283 ; A - 242 ~
 G - 283 ; L - 243 ~ G - 283 ; R - 244 ~ G - 283 ; K - 245 ~ G - 28
 3 ; Q - 246 ~ G - 283 ; L - 247 ~ G - 283 ; C - 248 ~ G - 283 ; Q -
 249 ~ G - 283 ; K - 250 ~ G - 283 ; L - 251 ~ G - 283 ; Y - 252 ~
 G - 283 ; S - 253 ~ G - 283 ; S - 254 ~ G - 283 ; K - 255 ~ G - 28
 3 ; D - 256 ~ G - 283 ; T - 257 ~ G - 283 ; T - 258 ~ G - 283 ; K -
 259 ~ G - 283 ; R - 260 ~ G - 283 ; P - 261 ~ G - 283 ; V - 262 ~
 G - 283 ; T - 263 ~ G - 283 ; T - 264 ~ G - 283 ; T - 265 ~ G - 28
 3 ; K - 266 ~ G - 283 ; R - 267 ~ G - 283 ; E - 268 ~ G - 283 ; V - 30
 269 ~ G - 283 ; N - 270 ~ G - 283 ; S - 271 ~ G - 283 ; A - 272 ~
 G - 283 ; V - 273 ~ G - 283 ; N - 274 ~ G - 283 ; L - 275 ~ G - 28
 3 ; N - 276 ~ G - 283 ; L - 277 ~ G - 283 ; および/または W - 278 ~ G
 - 283。1以上のこれらのポリペプチドに結合する抗体と同様に、これらのポリペプチ
 ドをコードするポリヌクレオチドもまた本発明によって包含される。さらに、これらのポリ
 ペプチドのフラグメントおよび改変体（例えば、本明細書中に記載される通りのフラグ
 メント、これらのポリペプチドに対して少なくとも80%、85%、90%、95%、9
 6%、97%、98%または99%同一のポリペプチド、およびストリンジェントな条件
 下で、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドまたはその相補体に対してハ
 イブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド）は、本発明によ
 って包含される。本発明のこれらのフラグメントおよび改変体を結合する抗体もまた、本
 発明によって包含される。これらのフラグメントおよび改変体をコードするポリヌクレオ
 チドもまた本発明によって包含される。

【0085】

従って、本発明は、一般式1~nによって記載されるような、図3A~図3C（配列番号
 15）に示されるポリペプチドのアミノ酸配列のカルボキシ末端から1以上の残基が欠失
 したポリペプチドをさらに提供し、ここで、nは、7~282の整数であり、nは、配列
 番号15において同定されるアミノ酸残基の位置に対応する。さらに、本発明は、以下の
 C末端欠失物の群から選択されるアミノ酸配列を含むかあるいはこのアミノ酸配列からな
 るポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する：配列番号15のM-1~P- 50

2 8 2 ; M - 1 ~ E - 2 8 1 ; M - 1 ~ W - 2 8 0 ; M - 1 ~ S - 2 7 9 ; M - 1 ~ W -
 2 7 8 ; M - 1 ~ L - 2 7 7 ; M - 1 ~ N - 2 7 6 ; M - 1 ~ L - 2 7 5 ; M - 1 ~ N -
 2 7 4 ; M - 1 ~ V - 2 7 3 ; M - 1 ~ A - 2 7 2 ; M - 1 ~ S - 2 7 1 ; M - 1 ~ N -
 2 7 0 ; M - 1 ~ V - 2 6 9 ; M - 1 ~ E - 2 6 8 ; M - 1 ~ R - 2 6 7 ; M - 1 ~ K -
 2 6 6 ; M - 1 ~ T - 2 6 5 ; M - 1 ~ T - 2 6 4 ; M - 1 ~ T - 2 6 3 ; M - 1 ~ V -
 2 6 2 ; M - 1 ~ P - 2 6 1 ; M - 1 ~ R - 2 6 0 ; M - 1 ~ K - 2 5 9 ; M - 1 ~ T -
 2 5 8 ; M - 1 ~ T - 2 5 7 ; M - 1 ~ D - 2 5 6 ; M - 1 ~ K - 2 5 5 ; M - 1 ~ S -
 2 5 4 ; M - 1 ~ S - 2 5 3 ; M - 1 ~ Y - 2 5 2 ; M - 1 ~ L - 2 5 1 ; M - 1 ~ K -
 2 5 0 ; M - 1 ~ Q - 2 4 9 ; M - 1 ~ C - 2 4 8 ; M - 1 ~ L - 2 4 7 ; M - 1 ~ Q -
 2 4 6 ; M - 1 ~ K - 2 4 5 ; M - 1 ~ R - 2 4 4 ; M - 1 ~ L - 2 4 3 ; M - 1 ~ A - 10
 2 4 2 ; M - 1 ~ I - 2 4 1 ; M - 1 ~ V - 2 4 0 ; M - 1 ~ T - 2 3 9 ; M - 1 ~ A -
 2 3 8 ; M - 1 ~ I - 2 3 7 ; M - 1 ~ F - 2 3 6 ; M - 1 ~ I - 2 3 5 ; M - 1 ~ F -
 2 3 4 ; M - 1 ~ A - 2 3 3 ; M - 1 ~ I - 2 3 2 ; M - 1 ~ I - 2 3 1 ; M - 1 ~ C -
 2 3 0 ; M - 1 ~ S - 2 2 9 ; M - 1 ~ P - 2 2 8 ; M - 1 ~ I - 2 2 7 ; M - 1 ~ F -
 2 2 6 ; M - 1 ~ I - 2 2 5 ; M - 1 ~ H - 2 2 4 ; M - 1 ~ L - 2 2 3 ; M - 1 ~ L -
 2 2 2 ; M - 1 ~ W - 2 2 1 ; M - 1 ~ T - 2 2 0 ; M - 1 ~ P - 2 1 9 ; M - 1 ~ H -
 2 1 8 ; M - 1 ~ T - 2 1 7 ; M - 1 ~ R - 2 1 6 ; M - 1 ~ P - 2 1 5 ; M - 1 ~ E -
 2 1 4 ; M - 1 ~ M - 2 1 3 ; M - 1 ~ Q - 2 1 2 ; M - 1 ~ 5 - 2 1 1 ; M - 1 ~ Q -
 2 1 0 ; M - 1 ~ L - 2 0 9 ; M - 1 ~ D - 2 0 8 ; M - 1 ~ I - 2 0 7 ; M - 1 ~ S -
 2 0 6 ; M - 1 ~ A - 2 0 5 ; M - 1 ~ L - 2 0 4 ; M - 1 ~ T - 2 0 3 ; M - 1 ~ I - 20
 2 0 2 ; M - 1 ~ E - 2 0 1 ; M - 1 ~ R - 2 0 0 ; M - 1 ~ V - 1 9 9 ; M - 1 ~ H -
 1 9 8 ; M - 1 ~ T - 1 9 7 ; M - 1 ~ N - 1 9 6 ; M - 1 ~ W - 1 9 5 ; M - 1 ~ F -
 1 9 4 ; M - 1 ~ V - 1 9 3 ; M - 1 ~ C - 1 9 2 ; M - 1 ~ S - 1 9 1 ; M - 1 ~ F -
 1 9 0 ; M - 1 ~ N - 1 8 9 ; M - 1 ~ R - 1 8 8 ; M - 1 ~ G - 1 8 7 ; M - 1 ~ P -
 1 8 6 ; M - 1 ~ P - 1 8 5 ; M - 1 ~ P - 1 8 4 ; M - 1 ~ K - 1 8 3 ; M - 1 ~ L -
 1 8 2 ; M - 1 ~ R - 1 8 1 ; M - 1 ~ L - 1 8 0 ; M - 1 ~ V - 1 7 9 ; M - 1 ~ S -
 1 7 8 ; M - 1 ~ T - 1 7 1 ; M - 1 ~ Y - 1 7 6 ; M - 1 ~ Q - 1 7 5 ; M - 1 ~ Y -
 1 7 4 ; M - 1 ~ L - 1 7 3 ; M - 1 ~ G - 1 7 2 ; M - 1 ~ E - 1 7 1 ; M - 1 ~ P -
 1 7 0 ; M - 1 ~ T - 1 6 9 ; M - 1 ~ R - 1 6 8 ; M - 1 ~ S - 1 6 7 ; M - 1 ~ H -
 1 6 6 ; M - 1 ~ S - 1 6 5 ; M - 1 ~ T - 1 6 4 ; M - 1 ~ N - 1 6 3 ; M - 1 ~ A - 30
 1 6 2 ; M - 1 ~ P - 1 6 1 ; M - 1 ~ V - 1 6 0 ; M - 1 ~ S - 1 5 9 ; M - 1 ~ V -
 1 5 8 ; M - 1 ~ N - 1 5 7 ; M - 1 ~ P - 1 5 6 ; M - 1 ~ W - 1 5 5 ; M - 1 ~ S -
 1 5 4 ; M - 1 ~ V - 1 5 3 ; M - 1 ~ E - 1 5 2 ; M - 1 ~ A - 1 5 1 ; M - 1 ~ L -
 1 5 0 ; M - 1 ~ P 1 4 9 ; M - 1 ~ Y - 1 4 8 ; M - 1 ~ G - 1 4 7 ; M - 1 ~ T - 1
 4 6 ; M - 1 ~ A - 1 4 5 ; M - 1 ~ Q - 1 4 4 ; M - 1 ~ C - 1 4 3 ; M - 1 ~ T - 1
 4 2 ; M - 1 ~ L - 1 4 1 ; M - 1 ~ E - 1 4 0 ; M - 1 ~ V - 1 3 9 ; M - 1 ~ E - 1
 3 8 ; M - 1 ~ D - 1 3 7 ; M - 1 ~ T - 1 3 6 ; M - 1 ~ E - 1 3 5 ; M - 1 ~ P - 1
 3 4 ; M - 1 ~ V - 1 3 3 ; M - 1 ~ K - 1 3 2 ; M - 1 ~ L - 1 3 1 ; M - 1 ~ I - 1
 3 0 ; M - 1 ~ H - 1 2 9 ; M - 1 ~ T - 1 2 8 ; M - 1 ~ N - 1 2 7 ; M - 1 ~ I - 1
 2 6 ; M - 1 ~ K - 1 2 5 ; M - 1 ~ R - 1 2 4 ; M - 1 ~ Y - 1 2 3 ; M - 1 ~ S - 1 40
 2 2 ; M - 1 ~ A - 1 2 1 ; M - 1 ~ K - 1 2 0 ; M - 1 ~ V - 1 1 9 ; M - 1 ~ K - 1
 1 8 ; M - 1 ~ L - 1 1 7 ; M - 1 ~ T - 1 1 6 ; M - 1 ~ L - 1 1 5 ; M - 1 ~ Y - 1
 1 4 ; M - 1 ~ K - 1 1 3 ; M - 1 ~ Y - 1 1 2 ; M - 1 ~ D - 1 1 1 ; M - 1 ~ W - 1
 1 0 ; M - 1 ~ A - 1 0 9 ; M - 1 ~ V - 1 0 8 ; M - 1 ~ G - 1 0 7 ; M - 1 ~ Y - 1
 0 6 ; M - 1 ~ I - 1 0 5 ; M - 1 ~ I - 1 0 4 ; M - 1 ~ I - 1 0 3 ; M - 1 ~ C - 1
 0 2 ; M - 1 ~ Q - 1 0 1 ; M - 1 ~ Y - 1 0 0 ; M - 1 ~ Q - 9 9 ; M - 1 ~ G - 9 8
 ; M - 1 ~ E - 9 7 ; M - 1 ~ D - 9 6 ; M - 1 ~ R - 9 5 ; M - 1 ~ V - 9 4 ; M - 1
 ~ Q - 9 3 ; M - 1 ~ V - 9 2 ; M - 1 ~ Q - 9 1 ; M - 1 ~ P - 9 0 ; M - 1 ~ I - 8
 9 ; M - 1 ~ H - 8 8 ; M - 1 ~ F - 8 7 ; M - 1 ~ S - 8 6 ; M - 1 ~ A - 8 5 ; M -
 1 ~ K - 8 4 ; M - 1 ~ G - 8 3 ; M - 1 ~ L - 8 2 ; M - 1 ~ P - 8 1 ; M - 1 ~ L - 50

80 ; M - 1 ~ Q - 79 ; M - 1 ~ E - 78 ; M - 1 ~ E - 77 ; M - 1 ~ L - 76 ; M - 1 ~ L - 75 ; M - 1 ~ T - 74 ; M - 1 ~ A - 73 ; M - 1 ~ R - 72 ; M - 1 ~ E - 71 ; M - 1 ~ R - 70 ; M - 1 ~ H - 69 ; M - 1 ~ P - 68 ; M - 1 ~ S - 67 ; M - 1 ~ T - 66 ; M - 1 ~ D - 65 ; M - 1 ~ N - 64 ; M - 1 ~ E - 63 ; M - 1 ~ V - 62 ; M - 1 ~ K - 61 ; M - 1 ~ Q - 60 ; M - 1 ~ L - 59 ; M - 1 ~ S - 58 ; M - 1 ~ A - 57 ; M - 1 ~ T - 56 ; M - 1 ~ I - 55 ; M - 1 ~ A - 54 ; M - 1 ~ G - 53 ; M - 1 ~ L - 52 ; M - 1 ~ N - 51 ; M - 1 ~ V - 50 ; M - 1 ~ H - 49 ; M - 1 ~ S - 48 ; M - 1 ~ G - 47 ; M - 1 ~ T - 46 ; M - 1 ~ D - 45 ; M - 1 ~ F - 44 ; M - 1 ~ N - 43 ; M - 1 ~ C - 42 ; M - 1 ~ E - 41 ; M - 1 ~ L - 40 ; M - 1 ~ T - 39 ; M - 1 ~ V - 38 ; M - 1 ~ N - 37 ; M - 1 ~ S - 36 ; M - 1 ~ G - 35 ; M - 1 ~ H - 34 ; M - 1 ~ E - 33 ; M - 1 ~ I - 32 ; M - 1 ~ I - 31 ; M - 1 ~ Y - 30 ; M - 1 ~ L - 29 ; M - 1 ~ E - 28 ; M - 1 ~ K - 27 ; M - 1 ~ P - 26 ; M - 1 ~ V - 25 ; M - 1 ~ T - 24 ; M - 1 ~ V - 23 ; M - 1 ~ T - 22 ; M - 1 ~ F - 21 ; M - 1 ~ L - 20 ; M - 1 ~ A - 19 ; M - 1 ~ A - 18 ; M - 1 ~ I - 17 ; M - 1 ~ Q - 16 ; M - 1 ~ H - 15 ; M - 1 ~ L - 14 ; M - 1 ~ Q - 13 ; M - 1 ~ L - 12 ; M - 1 ~ E - 11 ; M - 1 ~ L - 10 ; M - 1 ~ S - 9 ; M - 1 ~ L - 8 ; および/または M - 1 ~ M - 7。1以上のこれらのポリペプチドに結合する抗体と同様に、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドもまた本発明によって包含される。さらに、これらのポリペプチドのフラグメントおよび改変体（例えば、本明細書中に記載される通りのフラグメント、これらのポリペプチドに対して少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%または99%同一のポリペプチド、およびストリンジェントな条件下で、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドまたはその相補体に対してハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド）は、本発明によって包含される。本発明のこれらのフラグメントおよび改変体を結合する抗体もまた、本発明によって包含される。これらのフラグメントおよび改変体をコードするポリヌクレオチドもまた本発明によって包含される。

【0086】

また、上記のように、たとえ、タンパク質のC末端からの1以上のアミノ酸の欠失が、このタンパク質の1以上の生物学的機能（例えば、混合リンパ球反応を阻害する能力）の喪失の改変をもたらしたとしても、他の機能的活性（例えば、生物学的活性、多量体を形成する能力、レセプターを結合する能力、抗体を生成する能力、抗体を結合する能力）は依然として保持され得る。例えば、短縮化されたポリペプチドが、完全形態または成熟形態のこのポリペプチドを認識する抗体を誘導する能力および/またはこの抗体に結合する能力は一般に、完全ポリペプチドまたは成熟ポリペプチドの大多数よりも少ない残基がC末端から除去された場合、保持される。完全ポリペプチドのC末端残基を欠く特定のポリペプチドがこのような免疫学的活性を保持するか否かは、本明細書中に記載され、かつ当該分野で他に公知である、慣用的方法によって容易に決定され得る。おそらく、多数のC末端アミノ酸残基が欠失したポリペプチドは、いくつかの生物学的活性または免疫学的活性を保持し得るようである。実際、6アミノ酸程度の少ない残基から構成されるペプチドはしばしば、免疫応答を惹起し得る。

【0087】

さらに特に、本発明は、B7-HSタンパク質の成熟細胞外部分（配列番号32）の以下のN末端欠失物の群から選択されるアミノ酸配列を含むかあるいはこのアミノ酸配列からなるポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する：配列番号15のF-21~H-218；T-22~H-218；V-23~H-218；T-24~H-218；V-25~H-218；P-26~H-218；K-27~H-218；E-28~H-218；L-29~H-218；Y-30~H-218；I-31~H-218；I-32~H-218；E-33~H-218；H-34~H-218；G-35~H-218；S-36~H-218；N-37~H-218；V-38~H-218；T-39~H-218；L-40~H-218；E-41~H-218；C-42~H-218；N-4

3 ~ H - 2 1 8 ; F - 4 4 ~ H - 2 1 8 ; D - 4 5 ~ H - 2 1 8 ; T - 4 6 ~ H - 2 1 8
 ; G - 4 7 ~ H - 2 1 8 ; S - 4 8 ~ H - 2 1 8 ; H - 4 9 ~ H - 2 1 8 ; V - 5 0 ~ H
 - 2 1 8 ; N - 5 1 ~ H - 2 1 8 ; L - 5 2 ~ H - 2 1 8 ; G - 5 3 ~ H - 2 1 8 ; A -
 5 4 ~ H - 2 1 8 ; I - 5 5 ~ H - 2 1 8 ; T - 5 6 ~ H - 2 1 8 ; A - 5 7 ~ H - 2 1
 8 ; S - 5 8 ~ H - 2 1 8 ; L - 5 9 ~ H - 2 1 8 ; Q - 6 0 ~ H - 2 1 8 ; K - 6 1 ~
 H - 2 1 8 ; V - 6 2 ~ H - 2 1 8 ; E - 6 3 ~ H - 2 1 8 ; N - 6 4 ~ H - 2 1 8 ; D
 - 6 5 ~ H - 2 1 8 ; T - 6 6 ~ H - 2 1 8 ; S - 6 7 ~ H - 2 1 8 ; P - 6 8 ~ H - 2
 1 8 ; H - 6 9 ~ H - 2 1 8 ; R - 7 0 ~ H - 2 1 8 ; E - 7 1 ~ H - 2 1 8 ; R - 7 2
 ~ H - 2 1 8 ; A - 7 3 ~ H - 2 1 8 ; T - 7 4 ~ H - 2 1 8 ; L - 7 5 ~ H - 2 1 8 ;
 L - 7 6 ~ H - 2 1 8 ; E - 7 7 ~ H - 2 1 8 ; E - 7 8 ~ H - 2 1 8 ; Q - 7 9 ~ H - 10
 2 1 8 ; L - 8 0 ~ H - 2 1 8 ; P - 8 1 ~ H - 2 1 8 ; L - 8 2 ~ H - 2 1 8 ; G - 8
 3 ~ H - 2 1 8 ; K - 8 4 ~ H - 2 1 8 ; A - 8 5 ~ H - 2 1 8 ; S - 8 6 ~ H - 2 1 8
 ; F - 8 7 ~ H - 2 1 8 ; H - 8 8 ~ H - 2 1 8 ; I - 8 9 ~ H - 2 1 8 ; P - 9 0 ~ H
 - 2 1 8 ; Q - 9 1 ~ H - 2 1 8 ; V - 9 2 ~ H - 2 1 8 ; Q - 9 3 ~ H - 2 1 8 ; V -
 9 4 ~ H - 2 1 8 ; R - 9 5 ~ H - 2 1 8 ; D - 9 6 ~ H - 2 1 8 ; E - 9 7 ~ H - 2 1
 8 ; G - 9 8 ~ H - 2 1 8 ; Q - 9 9 ~ H - 2 1 8 ; Y - 1 0 0 ~ H - 2 1 8 ; Q - 1 0
 1 ~ H - 2 1 8 ; C - 1 0 2 ~ H - 2 1 8 ; I - 1 0 3 ~ H - 2 1 8 ; I - 1 0 4 ~ H -
 2 1 8 ; I - 1 0 5 ~ H - 2 1 8 ; Y - 1 0 6 ~ H - 2 1 8 ; G - 1 0 7 ~ H - 2 1 8 ;
 V - 1 0 8 ~ H - 2 1 8 ; A - 1 0 9 ~ H - 2 1 8 ; W - 1 1 0 ~ H - 2 1 8 ; D - 1 1
 1 ~ H - 2 1 8 ; Y - 1 1 2 ~ H - 2 1 8 ; K - 1 1 3 ~ H - 2 1 8 ; Y - 1 1 4 ~ H - 20
 2 1 8 ; L - 1 1 5 ~ H - 2 1 8 ; T - 1 1 6 ~ H - 2 1 8 ; L - 1 1 7 ~ H - 2 1 8 ;
 K - 1 1 8 ~ H - 2 1 8 ; V - 1 1 9 ~ H - 2 1 8 ; K - 1 2 0 ~ H - 2 1 8 ; A - 1 2
 1 ~ H - 2 1 8 ; S - 1 2 2 ~ H - 2 1 8 ; Y - 1 2 3 ~ H - 2 1 8 ; R - 1 2 4 ~ H -
 2 1 8 ; K - 1 2 5 ~ H - 2 1 8 ; I - 1 2 6 ~ H - 2 1 8 ; N - 1 2 7 ~ H - 2 1 8 ;
 T - 1 2 8 ~ H - 2 1 8 ; H - 1 2 9 ~ H - 2 1 8 ; I - 1 3 0 ~ H - 2 1 8 ; L - 1 3
 1 ~ H - 2 1 8 ; K - 1 3 2 ~ H - 2 1 8 ; V - 1 3 3 ~ H - 2 1 8 ; P - 1 3 4 ~ H -
 2 1 8 ; E - 1 3 5 ~ H - 2 1 8 ; T - 1 3 6 ~ H - 2 1 8 ; D - 1 3 7 ~ H - 2 1 8 ;
 E - 1 3 8 ~ H - 2 1 8 ; V - 1 3 9 ~ H - 2 1 8 ; E - 1 4 0 ~ H - 2 1 8 ; L - 1 4
 1 ~ H - 2 1 8 ; T - 1 4 2 ~ H - 2 1 8 ; C - 1 4 3 ~ H - 2 1 8 ; Q - 1 4 4 ~ H -
 2 1 8 ; A - 1 4 5 ~ H - 2 1 8 ; T - 1 4 6 ~ H - 2 1 8 ; O - 1 4 7 ~ H - 2 1 8 ; 30
 Y - 1 4 8 ~ H - 2 1 8 ; P - 1 4 9 ~ H - 2 1 8 ; L - 1 5 0 ~ H - 2 1 8 ; A - 1 5
 1 ~ H - 2 1 8 ; E - 1 5 2 ~ H - 2 1 8 ; V - 1 5 3 ~ H - 2 1 8 ; S - 1 5 4 ~ H -
 2 1 8 ; W - 1 5 5 ~ H - 2 1 8 ; P - 1 5 6 ~ H - 2 1 8 ; N - 1 5 7 ~ H - 2 1 8 ;
 V - 1 5 8 ~ H - 2 1 8 ; S - 1 5 9 ~ H - 2 1 8 ; V - 1 6 0 ~ H - 2 1 8 ; P - 1 6
 1 ~ H - 2 1 8 ; A - 1 6 2 ~ H - 2 1 8 ; N - 1 6 3 ~ H - 2 1 8 ; T - 1 6 4 ~ H -
 2 1 8 ; S - 1 6 5 ~ H - 2 1 8 ; H - 1 6 6 ~ H - 2 1 8 ; S - 1 6 7 ~ H - 2 1 8 ;
 R - 1 6 8 ~ H - 2 1 8 ; T - 1 6 9 ~ H - 2 1 8 ; P - 1 7 0 ~ H - 2 1 8 ; E - 1 7
 1 ~ H - 2 1 8 ; G - 1 7 2 ~ H - 2 1 8 ; L - 1 7 3 ~ H - 2 1 8 ; Y - 1 7 4 ~ H -
 2 1 8 ; Q - 1 7 5 ~ H - 2 1 8 ; V - 1 7 6 ~ H - 2 1 8 ; T - 1 7 7 ~ H - 2 1 8 ;
 S - 1 7 8 ~ H - 2 1 8 ; V - 1 7 9 ~ H - 2 1 8 ; L - 1 8 0 ~ H - 2 1 8 ; R - 1 8 40
 1 ~ H - 2 1 8 ; L - 1 8 2 ~ H - 2 1 8 ; K - 1 8 3 ~ H - 2 1 8 ; P - 1 8 4 ~ H -
 2 1 8 ; P - 1 8 5 ~ H - 2 1 8 ; P - 1 8 6 ~ H - 2 1 8 ; G - 1 8 7 ~ H - 2 1 8 ;
 R - 1 8 8 ~ H - 2 1 8 ; N - 1 8 9 ~ H - 2 1 8 ; F - 1 9 0 ~ H - 2 1 8 ; S - 1 9
 1 ~ H - 2 1 8 ; C - 1 9 2 ~ H - 2 1 8 ; V - 1 9 3 ~ H - 2 1 8 ; F - 1 9 4 ~ H -
 2 1 8 ; W - 1 9 5 ~ H - 2 1 8 ; N - 1 9 6 ~ H - 2 1 8 ; T - 1 9 7 ~ H - 2 1 8 ;
 H - 1 9 8 ~ H - 2 1 8 ; V - 1 9 9 ~ H - 2 1 8 ; R - 2 0 0 ~ H - 2 1 8 ; E - 2 0
 1 ~ H - 2 1 8 ; L - 2 0 2 ~ H - 2 1 8 ; T - 2 0 3 ~ H - 2 1 8 ; L - 2 0 4 ~ H -
 2 1 8 ; A - 2 0 5 ~ H - 2 1 8 ; S - 2 0 6 ~ H - 2 1 8 ; I - 2 0 7 ~ H - 2 1 8 ;
 D - 2 0 8 ~ H - 2 1 8 ; L - 2 0 9 ~ H - 2 1 8 ; Q - 2 1 0 ~ H - 2 1 8 ; S - 2 1
 1 ~ H - 2 1 8 ; Q - 2 1 2 ~ H - 2 1 8 ; および / または M - 2 1 3 ~ H - 2 1 8 。 1 50

以上のこれらのポリペプチドに結合する抗体と同様に、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドもまた本発明によって包含される。さらに、これらのポリペプチドのフラグメントおよび改変体（例えば、本明細書中に記載される通りのフラグメント、これらのポリペプチドに対して少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%または99%同一のポリペプチド、およびストリンジェントな条件下で、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドまたはその相補体に対してハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド）は、本発明によって包含される。本発明のこれらのフラグメントおよび改変体を結合する抗体もまた、本発明によって包含される。これらのフラグメントおよび改変体をコードするポリヌクレオチドもまた本発明によって包含される。

10

【0088】

さらに、本発明は、B7-HSタンパク質の成熟細胞外部分（配列番号32）の以下のC末端欠失物の群から選択されるアミノ酸配列を含むかあるいはこのアミノ酸配列からなるポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する：配列番号15のL-20~T-217；L-20~R-216；L-20~P-215；L-20~E-214；L-20~M-213；L-20~Q-212；L-20~S-211；L-20~Q-210；L-20~L-209；L-20~D-208；L-20~I-207；L-20~S-206；L-20~A-205；L-20~L-204；L-20~T-203；L-20~L-202；L-20~E-201；L-20~R-200；L-20~V-199；L-20~H-198；L-20~T-197；L-20~N-196；L-20~W-195；L-20~F-194；L-20~V-193；L-20~C-192；L-20~S-191；L-20~F-190；L-20~N-189；L-20~R-188；L-20~G-187；L-20~P-186；L-20~P-185；L-20~P-184；L-20~K-183；L-20~L-182；L-20~R-181；L-20~L-180；L-20~V-179；L-20~S-178；L-20~T-177；L-20~V-176；L-20~Q-175；L-20~Y-174；L-20~L-173；L-20~G-172；L-20~E-171；L-20~P-170；L-20~T-169；L-20~R-168；L-20~S-167；L-20~H-166；L-20~S-165；L-20~T-164；L-20~N-163；L-20~A-162；L-20~P-161；L-20~V-160；L-20~S-159；L-20~V-158；L-20~N-157；L-20~P-156；L-20~W-155；L-20~S-154；L-20~V-153；L-20~E-152；L-20~A-151；L-20~L-150；L-20~P-149；L-20~Y-148；L-20~G-147；L-20~T-146；L-20~A-145；L-20~Q-144；L-20~C-143；L-20~T-142；L-20~L-141；L-20~E-140；L-20~V-139；L-20~E-138；L-20~D-137；L-20~T-136；L-20~E-135；L-20~P-134；L-20~V-133；L-20~K-132；L-20~L-131；L-20~I-130；L-20~H-129；L-20~T-128；L-20~N-127；L-20~I-126；L-20~K-125；L-20~R-124；L-20~Y-123；L-20~S-122；L-20~A-121；L-20~K-120；L-20~V-119；L-20~K-118；L-20~L-117；L-20~T-116；L-20~L-115；L-20~Y-114；L-20~K-113；L-20~Y-112；L-20~D-111；L-20~W-110；L-20~A-109；L-20~V-108；L-20~G-107；L-20~Y-106；L-20~I-105；L-20~I-104；L-20~I-103；L-20~C-102；L-20~Q-101；L-20~Y-100；L-20~Q-99；L-20~G-98；L-20~E-97；L-20~D-96；L-20~R-95；L-20~V-94；L-20~Q-93；L-20~V-92；L-20~Q-91；L-20~P-90；L-20~I-89；L-20~H-88；L-20~F-87；L-20~S-86；L-20~A-85

20

30

40

50

; L - 20 ~ K - 84 ; L - 20 ~ G - 83 ; L - 20 ~ L - 82 ; L - 20 ~ P - 81
 ; L - 20 ~ L - 80 ; L - 20 ~ Q - 79 ; L - 20 ~ E - 78 ; L - 20 ~ E - 77
 ; L - 20 ~ L - 76 ; L - 20 ~ L - 75 ; L - 20 ~ T - 74 ; L - 20 ~ A - 73
 ; L - 20 ~ R - 72 ; L - 20 ~ E - 71 ; L - 20 ~ R - 70 ; L - 20 ~ H - 69
 ; L - 20 ~ P - 68 ; L - 20 ~ S - 67 ; L - 20 ~ T - 66 ; L - 20 ~ D - 65
 ; L - 20 ~ N - 64 ; L - 20 ~ E - 63 ; L - 20 ~ V - 62 ; L - 20 ~ K - 61
 ; L - 20 ~ Q - 60 ; L - 20 ~ L - 59 ; L - 20 ~ S - 58 ; L - 20 ~ A - 57
 ; L - 20 ~ T - 56 ; L - 20 ~ I - 55 ; L - 20 ~ A - 54 ; L - 20 ~ O - 53
 ; L - 20 ~ L - 52 ; L - 20 ~ N - 51 ; L - 20 ~ V - 50 ; L - 20 ~ H - 49
 ; L - 20 ~ S - 48 ; L - 20 ~ G - 47 ; L - 20 ~ T - 46 ; L - 20 ~ D - 45
 ; L - 20 ~ F - 44 ; L - 20 ~ N - 43 ; L - 20 ~ C - 42 ; L - 20 ~ E - 41
 ; L - 20 ~ L - 10 ; L - 20 ~ T - 39 ; L - 20 ~ V - 38 ; L - 20 ~ N - 37
 ; L - 20 ~ S - 36 ; L - 20 ~ G - 35 ; L - 20 ~ H - 34 ; L - 20 ~ E - 33
 ; L - 20 ~ I - 32 ; L - 20 ~ I - 31 ; L - 20 ~ Y - 30 ; L - 20 ~ L - 29
 ; L - 20 ~ E - 28 ; L - 20 ~ K - 27 ; および / または L - 20 ~ P - 26 。 1 以

上のこれらのポリペプチドに結合する抗体と同様に、これらのポリペプチドをコードする
 ポリヌクレオチドもまた本発明によって包含される。さらに、これらのポリペプチドのフ
 ラグメントおよび改変体（例えば、本明細書中に記載される通りのフラグメント、これら
 のポリペプチドに対して少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、
 98%または99%同一のポリペプチド、およびストリンジェントな条件下で、これらの
 ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドまたはその相補体に対してハイブリダイズす
 るポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド）は、本発明によって包含される
 。本発明のこれらのフラグメントおよび改変体を結合する抗体もまた、本発明によって包
 含される。これらのフラグメントおよび改変体をコードするポリヌクレオチドもまた本発
 明によって包含される。

【0089】

さらに、上記に列挙されたN末端欠失またはC末端欠失のいずれかを組合せてN末端欠失
 ポリペプチドおよびC末端欠失ポリペプチドを生成し得る。本発明はまた、アミノ末端お
 よびカルボキシ末端の両方から1つ以上のアミノ酸を欠失したポリペプチドあるいはこれ
 から構成されるポリペプチドを提供する。このポリペプチドは、一般に、配列番号15の
 m - n 残基を有するとして記載され得、ここでnおよびmは上記のような整数である。こ
 れらのポリペプチドのフラグメントおよび / または改変体（例えば、本明細書において記
 載されるフラグメントおよび / または改変体など）がまた、本発明によって包含される。

【0090】

これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチド（フラグメントおよび / または改変
 体を含む）もまた、これらのポリペプチドに結合する抗体がそうであるように本発明によ
 り包含される。本発明はまた、m ~ nとして本明細書において記載されるポリペプチド配
 列に対して、少なくとも80%、85%、90%、92%、93%、94%、95%、9
 6%、97%、98%または99%同一であるポリペプチドを含むタンパク質に関する。
 好ましい実施形態において、本出願は、本明細書において列挙された特定のN末端欠失お
 よびC末端欠失のアミノ酸配列を有するポリペプチドに対して、少なくとも80%、85
 %、90%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるポリペプチドを含
 むタンパク質に関する。これらのポリペプチドのフラグメントおよび / または改変体（例
 えば、本明細書において記載されるフラグメントおよび / または改変体など）がまた、本
 発明によって包含される。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチド（フラグ
 メントおよび / または改変体を含む）もまた、これらのポリペプチドに結合する抗体がそ
 うであるように本発明により包含される。

【0091】

また、ATCC寄託番号PTA - 2332に含まれたcDNAクローンによってコードさ
 れる完全アミノ酸配列の一部からなるポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列も

10

20

30

40

50

含まれる。ここで、この部分は、ATCC 寄託番号 PTA - 2332 に含まれた cDNA クローンによってコードされる完全アミノ酸配列のアミノ末端から、ATCC 寄託番号 PTA - 2332 に含まれた cDNA クローンによってコードされる完全アミノ酸配列の、1 ~ 約 277 アミノ酸の任意の整数のアミノ酸残基を除外するか、またはカルボキシ末端から 1 ~ 約 277 アミノ酸の任意の整数のアミノ酸残基を除外するか、または上記のアミノ末端欠失およびカルボキシ末端欠失の任意の組合せを除外する。これらのポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドもまた、本発明によって包含される。

【0092】

本明細書において記載されるか、さもなければ当該分野で公知のように、本発明のポリヌクレオチドは、染色体同定、染色体マッピング、および連鎖解析において、プローブまたはプライマーとして役立つことを含むがこれらに限定されない用途を有する。

10

【0093】

この遺伝子は、樹状細胞、T細胞、心臓、肺、肝臓、脾臓、およびリンパ節組織において発現されることが発見されている。

【0094】

この遺伝子に対応するポリヌクレオチド、翻訳産物、および抗体は、生物学的サンプル中に存在する免疫系組織または細胞型の示差的同定のため、ならびに、免疫系活性化、刺激および/または監視機構に關与する疾患および/または障害(特にT細胞、さらに他の免疫系細胞(例えば、樹状細胞、好中球、およびリンパ球)に關与する)を含むが、これらに限定されない疾患および状態の診断のための試薬として有用である。

20

【0095】

同様に、ポリペプチドおよびこれらのポリペプチドに対する抗体は、組織または細胞型の示差的同定のための免疫学的プローブを提供することに有用である。B7-H7 タンパク質の活性についてのアンタゴニストとして作用するこのタンパク質の細胞外部分に対する抗体の使用が特に企図される。このようなアンタゴニスト性抗体は、本明細書に記載されるこのような生物学的活性(例えば、T細胞調節活性)の予防および/または阻害に有用である。

【0096】

上記組織または細胞の多くの障害、特に免疫系の多くの障害について、標準的な遺伝子発現レベル、すなわち、障害を有さない個体からの健常組織または体液中の発現レベルに対して有意により高いまたはより低いレベルのこの遺伝子の発現が、特定の組織または細胞型(例えば、免疫組織、神経組織、癌性組織および創傷組織)または体液(例えば、リンパ、血清、血漿、尿、滑液および髄液)またはこのような障害を有する個体から採取された別の組織もしくは細胞サンプル中で慣用的に検出され得る。

30

【0097】

免疫細胞(例えば、T細胞、樹状細胞)における組織分布、ならびにB7ファミリーのリガンドのメンバーに対する相同性は、この遺伝子に対応するポリヌクレオチド、翻訳産物、および抗体が、免疫系活性化、刺激および/または監視に關与する疾患および/または障害(特にT細胞、好中球、樹状細胞、白血球、および他の免疫系細胞に關する)の診断、検出および/または処置に有用であることを示す。詳細には、B7-H7 遺伝子の翻訳産物は、T細胞の同時刺激、ICOS への結合に關与し得、そして/または、例えば、特定のサイトカインの発現の調節において役割を果たし得る。

40

【0098】

より一般的には、免疫系細胞における組織分布は、この遺伝子産物が、サイトカイン産生、抗原提示、または癌の処置(例えば、免疫反応をブーストすることによる)においても有用性を示唆し得る他のプロセスの調節に關与し得ることを示す。この遺伝子は、免疫起源の細胞において発現されるので、この遺伝子に対応するポリヌクレオチド、翻訳産物、および抗体は、上記に挙げられた組織に対する腫瘍マーカーおよび/または免疫治療の標的として有用性を示し得る。

【0099】

50

この遺伝子に対応するポリヌクレオチド、翻訳産物、および抗体は、免疫学的障害（関節炎、喘息、免疫欠陥疾患（例えば、AIDS）、白血病、慢性関節リウマチ、炎症性腸疾患、敗血症、挫瘡、および乾癬を含む）の薬剤としてもまた使用され得る。さらに、この遺伝子産物は、種々の血液系列の幹細胞および方向付けられた前駆細胞の増大において、ならびに種々の細胞型の分化および/または増殖において商業的有用性を有し得る。さらに、この遺伝子に対応するポリヌクレオチド、翻訳産物、および抗体は、上記に列挙した組織についての腫瘍マーカーおよび/または免疫療法の標的として有用性を示し得る。さらに、このタンパク質はまた、その栄養補給剤としての使用に加えて、生物学的活性を決定するために、抗体を惹起するために、組織マーカーとして、同族のリガンドまたはレセプターを単離するために、それらの相互作用を調節する薬剤を同定するために使用され得る。

10

【0100】

さらに、心臓および肝臓組織における組織分布は、この遺伝子に対応するポリヌクレオチド、翻訳産物、および抗体が、心血管系および肝臓系の疾患および/または障害の診断、検出、および/または処置に有用であることを示す。心臓組織内での発現は、このクローンに対応するポリヌクレオチド、翻訳産物、および抗体が、心血管系の状態および病状（例えば、心疾患、再狭窄、アテローム性動脈硬化症、発作、アンギナ、血栓、および創傷治癒）の診断および処置に有用であることを示唆する。肝臓組織内における発現は、このクローンに対応するポリヌクレオチド、翻訳産物、および抗体が、肝臓障害および癌（例えば、肝芽細胞腫、黄疸、肝炎、肝臓代謝疾患、および肝細胞前駆細胞の分化に寄与し得る状態）の検出および処置に有用であることを示唆する。さらに、胎児における発現は、発生異常、胎児不全、出生前障害、および種々の創傷治癒モデルおよび/または組織外傷におけるこのタンパク質産物の有用な役割を示唆する。

20

【0101】

（遺伝子番号3によってコードされるタンパク質の特徴）

本出願の目的に関して、この遺伝子およびその対応する翻訳産物は、B7-H9遺伝子およびB7-H9タンパク質として既知である。このB7-H9遺伝子は、B7ファミリーのリガンドのメンバー（すなわち、B7-1（Genbank登録番号507873を参照のこと））と相同な配列を共有する。これらのタンパク質およびそれらの対応するレセプターは、T細胞の成長、分化、活性化、増殖、および死において重要な役割を果たす。例えば、このファミリーのいくつかのメンバー（すなわち、B7-H1）は、T細胞応答の同時刺激、および増大したサイトカイン産生の誘導に関与するが、他のファミリーのメンバーは、T細胞応答の負の調節に関与する。従って、B7-H9遺伝子に対する抗体または低分子のようなアゴニストおよびアンタゴニストは、T細胞媒介免疫系障害を処置するために有用である。

30

【0102】

本発明の好ましいポリペプチドは、配列番号16において残基：Tyr-67~Pro-74、Ser-117~Gln-123、Pro-161~Met-185、Gly-224~His-242、およびThr-299~Trp-307として示されるB7-H9タンパク質の免疫原性エピトープのうち1、2、3、4、5、または5つ全てを含むか、あるいはこれらからなる。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドもまた、これらのポリペプチドの1つ以上に結合する抗体がそうあるように、本発明に包含される。さらに、これらのポリペプチドのフラグメントおよび改変体（例えば、本明細書に記載のフラグメント、これらのポリペプチドに少なくとも、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるポリペプチド、およびこれらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドにストリンジентな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによりコードされるポリペプチド、またはその相補体など）がまた、本発明により包含される。本発明のこれらのフラグメントおよび改変体に結合する抗体がまた、本発明により包含される。これらのフラグメントおよび改変体をコードするポリヌクレオチドはまた、本発明により包含される。

40

50

【0103】

さらなる非排他的な実施形態において、本発明のポリペプチドは、以下のアミノ酸配列の1つまたは両方を含むか、あるいはそれらからなる：

B7 - H9タンパク質の成熟領域：QWQVF G P D K P V Q A L V G E D A A F S C F
L S P K T N A E A M E V R F F R G Q F S S V V H L Y R D G K D Q P F M Q M P Q Y
Q G R T K L V K D S I A E G R I S L R L E N I T V L D A G L Y G C R I S S Q S Y
Y Q K A I W E L Q V S A L G S V P L I S I A G Y V D R D I Q L L C Q S S G W F P
R P T A K W K G P Q G Q D L S T D S R T N R D M H G L F D V E I S L T V Q E N A
G S I S C S M R H A H L S R E V E S R V Q I G D W R R K H G Q A G K R K Y S S S
H I Y D S F P S L S F M D F Y I L R P V G P C R A K L V M G T L K L Q I L G E V
H F V E K P H S L L Q I S G G S T T L K K G P N P W S F P S P C A L F P T (配列
番号36)、および

B7 - H9タンパク質のリーダー配列：M A L M L S L V L S L L K L G S G (配列番号
37)。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドもまた、これらのポリペプ
チドの1つ以上に結合する抗体がそうであるように、本発明により包含される。さらに、
これらのポリペプチドのフラグメントおよび改変体(例えば、本明細書に記載のフラグメ
ント、これらのポリペプチドに少なくとも、80%、85%、90%、95%、96%、
97%、98%または99%同一であるポリペプチド、およびこれらのポリペプチドをコ
ードするポリヌクレオチドにストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレ
オチドによりコードされるポリペプチド、またはその相補体など)がまた、本発明により
包含される。本発明のこれらのフラグメントおよび改変体に結合する抗体がまた、本発明
により包含される。

【0104】

機能的活性を示すB7 - H9タンパク質(配列番号16)のフラグメントを含むか、ある
いはこれらからなるポリペプチドがまた好ましい。これらのポリペプチドをコードするポ
リヌクレオチドがまた、本発明によって包含される。機能的活性とは、全長(完全)B7
- H9タンパク質に関連する1つ以上の既知の機能的活性を示し得るポリペプチドフラグ
メントを意味する。このような機能的活性としては、生物学的活性(例えば、T細胞同時
刺激活性、ICOS、CD28、またはCTLA4に結合する能力、およびサイトカイン
産生を誘導または阻害する能力)、抗原性[抗B7 - H9抗体と結合する(かまたは結合
についてB7 - H9ポリペプチドと競合する)能力]、免疫原性(B7 - H9ポリペプチ
ドに結合する抗体を生成する能力)、本発明のB7 - H9ポリペプチドとの多量体を形成
する能力、ならびにB7 - H9ポリペプチドのレセプターに結合する能力が挙げられるが
これらに限定されない。

【0105】

図5A~Cは、この遺伝子に対応するヌクレオチド(配列番号4)および推定アミノ酸配
列(配列番号16)を示す。

【0106】

図6は、アミノ酸配列(配列番号16)の分析を示す。 、 、 ターン、およびコイル領
域；親水性および疎水性；両親媒性領域；可撓性領域；抗原性指標および表面確率、が示
され、そして全てが列挙されたコンピューターアルゴリズムのデフォルト設定を使用して
作製された。「抗原性指標 - Jameson - Wolf」のグラフにおいて、正のピーク
は、このタンパク質の高度に抗原性の領域(すなわち、本発明のエピトープ保有ペプチド
が得られ得る領域)の位置を示す。これらのグラフによって規定されたドメインを含むか
、またはこのようなドメインから構成されるポリペプチドは、これらのポリペプチドをコ
ードするポリヌクレオチドがそうであるように、本発明によって意図される。図6に示す
データはまた、表5に表形式で示される。欄を、見出し「Res(残基)」、「Posit
ion(位置)」およびローマ数字のI~XIVで標識する。欄の見出しは、図6および
表5に示されるアミノ酸配列の以下の特性をいう：「Res(残基)」：配列番号16なら
びに表5A~Cのアミノ酸残基；「Position(位置)」：配列番号16ならび

に図5A～Cの対応する残基の位置；I：、領域 - Garnier - Robson；II：、領域 - Chou - Fasman；III：、領域 - Garnier - Robson；IV：、領域 - Chou - Fasman；V：ターン、領域 - Garnier - Robson；VI：ターン、領域 - Chou - Fasman；VII：コイル領域 - Garnier - Robson；VIII：親水性プロット - Kyte - Doolittle；IX：親水性プロット - Hopp - Woods；X：、両親媒性領域 - Eisenberg；XI：、両親媒性領域 - Eisenberg；XII：可撓性領域 - Karplus - Schulz；XIII；抗原性指数 - Jameson - Wolf；およびXIV：表面確率プロット - Emini。これに関して本発明の好ましい実施形態は、1つ以上の以下の領域を含むかまたは以下からなるフラグメントを含む：ヘリックスおよびヘリックス形成領域（「領域」）、シートおよびシート形成領域（「領域」）、ターンおよびターン形成領域（「ターン - 領域」）、コイルおよびコイル形成領域（「コイル - 領域」）、親水性領域、疎水性領域、両親媒性領域、両親媒性領域、可撓性領域、表面形成領域および高度抗原性指標領域。上記の、図6および/または表5に示されるタンパク質の構造的属性または機能的属性を示すデータを、デフォルトパラメータに設定されるDNA*STARの種々のモジュールおよびアルゴリズムを使用して、作製した。好ましい実施形態において、表5の欄VII、IX、XII、およびXIVに示されるデータを使用して、抗原性について高度な可能性を示すタンパク質の領域を決定し得る。高抗原性の領域は、抗原認識が免疫応答の開始のプロセスにおいて生じ得る環境で、ポリペプチドの表面におそらく曝露されるポリペプチドの領域を示す値を選択することによって、欄VII、IX、XII、および/またはXIVに示されるデータから決定される。これらに関して特定の好ましい領域は、図6において示されるが、表5に示されるように、図6に示されるデータの表形式において表され得るか、または同定され得る。図6（最初のデフォルトパラメータに対して設定される）を作製するために使用されるDNA*STARコンピュータアルゴリズムを使用して、表形式（表5を参照のこと）の図6においてデータを示した。図6におけるデータの表形式（表5を参照のこと）を使用して、好ましい領域の特定の境界を容易に決定し得る。

【0107】

本発明はさらに、本明細書に記載されるポリヌクレオチド配列のフラグメントに関する。寄託されたcDNAのポリヌクレオチド配列、または配列番号4に示されるヌクレオチド配列のフラグメントとは、本明細書に考察されるように診断プローブおよび診断プライマーとして有用である、少なくとも約15ヌクレオチド、そしてより好ましくは少なくとも約20ヌクレオチド、少なくとも約25ヌクレオチド、なおより好ましくは少なくとも約30ヌクレオチド、少なくとも約35ヌクレオチド、そしてなおより好ましくは、少なくとも約40ヌクレオチド長、少なくとも約45ヌクレオチド長、少なくとも約50ヌクレオチド長、少なくとも約60ヌクレオチド長、少なくとも約70ヌクレオチド長、少なくとも約80ヌクレオチド長、少なくとも約90ヌクレオチド長、少なくとも約100ヌクレオチド長、少なくとも約125ヌクレオチド長、少なくとも約150ヌクレオチド長、少なくとも約175ヌクレオチド長のポリヌクレオチドフラグメントを意図する。当然ながら、より長い200～1500ヌクレオチド長のフラグメントはまた、寄託されたcDNAのヌクレオチド配列、または配列番号4に示されるヌクレオチド配列の全てではないが、ほとんどに対応するフラグメントがそうであるように、本発明に従って有用である。例えば、少なくとも20ヌクレオチド長のフラグメントとは、寄託されたcDNAのヌクレオチド配列、または配列番号4に示されるヌクレオチド配列由来の20以上の連続する塩基を含むフラグメントを意図する。この文脈において「約（おおよそ）」は、いずれかの末端かまたは両方の末端で、特に記載された大きさ、あるいはそれより数個（5、4、3、2、または1）のヌクレオチドだけ大きいかまたは小さな値を含む。本発明のポリヌクレオチドフラグメントの代表的な例としては、例えば、配列番号4またはその相補鎖、または寄託されたクローンに含まれるcDNAのおおよそ（約）以下のヌクレオチド数の配列を含むか、あるいはそれからなるフラグメントが挙げられる：1～50、51～10

0、101～150、151～200、201～250、251～300、301～350、351～400、401～450、451～500、501～550、551～600、651～700、701～750、751～800、801～860。この文脈において、「おおよそ(約)」は、いずれかの末端もしくは両方の末端において、特に記載された範囲、そしてこれより数個(5、4、3、2、または1)のヌクレオチドだけ大きいか、または小さな範囲を含む。さらなる実施形態において、本発明のポリヌクレオチドは、対応するタンパク質の機能的属性をコードする。

【0108】

本発明の好ましいポリペプチドフラグメントは、アミノ末端もしくはカルボキシ末端またはその両方から、連続した一連の残基を欠失した分泌タンパク質を含むか、あるいはこのようなタンパク質から構成される。詳細には、このポリペプチドのN末端欠失は、一般式 $m-318$ で記載され得、ここで m は、2～313の整数であり、 m は、配列番号16に同定されるアミノ酸残基の位置に対応する。より詳細には、本発明は、配列番号16の以下の群：A-2～T-318；L-3～T-318；M-4～T-318；L-5～T-318；S-6～T-318；L-7～T-318；V-8～T-318；L-9～T-318；S-10～T-318；L-11～T-318；L-12～T-318；K-13～T-318；L-14～T-318；G-15～T-318；S-16～T-318；G-17～T-318；Q-18～T-318；W-19～T-318；Q-20～T-318；V-21～T-318；F-22～T-318；G-23～T-318；P-24～T-318；D-25～T-318；K-26～T-318；P-27～T-318；V-28～T-318；Q-29～T-318；A-30～T-318；L-31～T-318；V-32～T-318；G-33～T-318；E-34～T-318；D-35～T-318；A-36～T-318；A-37～T-318；F-38～T-318；S-39～T-318；C-40～T-318；F-41～T-318；L-42～T-318；S-43～T-318；P-44～T-318；K-45～T-318；T-46～T-318；N-47～T-318；A-48～T-318；E-49～T-318；A-50～T-318；M-51～T-318；E-52～T-318；V-53～T-318；R-54～T-318；F-55～T-318；F-56～T-318；R-57～T-318；G-58～T-318；Q-59～T-318；F-60～T-318；S-61～T-318；S-62～T-318；V-63～T-318；V-64～T-318；H-65～T-318；L-66～T-318；Y-67～T-318；R-68～T-318；D-69～T-318；G-70～T-318；K-71～T-318；D-72～T-318；Q-73～T-318；P-74～T-318；F-75～T-318；M-76～T-318；Q-77～T-318；M-78～T-318；P-79～T-318；Q-80～T-318；Y-81～T-318；Q-82～T-318；G-83～T-318；R-84～T-318；T-85～T-318；K-86～T-318；L-87～T-318；V-88～T-318；K-89～T-318；D-90～T-318；S-91～T-318；I-92～T-318；A-93～T-318；E-94～T-318；G-95～T-318；R-96～T-318；I-97～T-318；S-98～T-318；L-99～T-318；R-100～T-318；L-101～T-318；E-102～T-318；N-103～T-318；I-104～T-318；T-105～T-318；V-106～T-318；L-107～T-318；D-108～T-318；A-109～T-318；G-110～T-318；L-111～T-318；Y-112～T-318；G-113～T-318；C-114～T-318；R-115～T-318；I-116～T-318；S-117～T-318；S-118～T-318；Q-119～T-318；S-120～T-318；Y-121～T-318；Y-122～T-318；Q-123～T-318；K-124～T-318；A-125～T-318；I-126～T-318；W-127～T-318；E-128～T-318；L-129～T-318；Q-130～T-318；V-131～T-318；S-132～T-318；A-133～T-318

10

20

30

40

50

8 ; L - 1 3 4 ~ T - 3 1 8 ; G - 1 3 5 ~ T - 3 1 8 ; S - 1 3 6 ~ T - 3 1 8 ; V -
1 3 7 ~ T - 3 1 8 ; P - 1 3 8 ~ T - 3 1 8 ; L - 1 3 9 ~ T - 3 1 8 ; I - 1 4 0 ~
T - 3 1 8 ; S - 1 4 1 ~ T - 3 1 8 ; I - 1 4 2 ~ T - 3 1 8 ; A - 1 4 3 ~ T - 3 1
8 ; G - 1 4 4 ~ T - 3 1 8 ; Y - 1 4 5 ~ T - 3 1 8 ; V - 1 4 6 ~ T - 3 1 8 ; D -
1 4 7 ~ T - 3 1 8 ; R - 1 4 8 ~ T - 3 1 8 ; D - 1 4 9 ~ T - 3 1 8 ; I - 1 5 0 ~
T - 3 1 8 ; Q - 1 5 1 ~ T - 3 1 8 ; L - 1 5 2 ~ T - 3 1 8 ; L - 1 5 3 ~ T - 3 1
8 ; C - 1 5 4 ~ T - 3 1 8 ; Q - 1 5 5 ~ T - 3 1 8 ; S - 1 5 6 ~ T - 3 1 8 ; S -
1 5 7 ~ T - 3 1 8 ; G - 1 5 8 ~ T - 3 1 8 ; W - 1 5 9 ~ T - 3 1 8 ; F - 1 6 0 ~
T - 3 1 8 ; P - 1 6 1 ~ T - 3 1 8 ; R - 1 6 2 ~ T - 3 1 8 ; P - 1 6 3 ~ T - 3 1
8 ; T - 1 6 4 ~ T - 3 1 8 ; A - 1 6 5 ~ T - 3 1 8 ; K - 1 6 6 ~ T - 3 1 8 ; W - 10
1 6 7 ~ T - 3 1 8 ; K - 1 6 8 ~ T - 3 1 8 ; G - 1 6 9 ~ T - 3 1 8 ; P - 1 7 0 ~
T - 3 1 8 ; Q - 1 7 1 ~ T - 3 1 8 ; G - 1 7 2 ~ T - 3 1 8 ; Q - 1 7 3 ~ T - 3 1
8 ; D - 1 7 4 ~ T - 3 1 8 ; L - 1 7 5 ~ T - 3 1 8 ; S - 1 7 6 ~ T - 3 1 8 ; T -
1 7 7 ~ T - 3 1 8 ; D - 1 7 8 ~ T - 3 1 8 ; S - 1 7 9 ~ T - 3 1 8 ; R - 1 8 0 ~
T - 3 1 8 ; T - 1 8 1 ~ T - 3 1 8 ; N - 1 8 2 ~ T - 3 1 8 ; R - 1 8 3 ~ T - 3 1
8 ; D - 1 8 4 ~ T - 3 1 8 ; M - 1 8 5 ~ T - 3 1 8 ; H - 1 8 6 ~ T - 3 1 8 ; G -
1 8 7 ~ T - 3 1 8 ; L - 1 8 8 ~ T - 3 1 8 ; F - 1 8 9 ~ T - 3 1 8 ; D - 1 9 0 ~
T - 3 1 8 ; V - 1 9 1 ~ T - 3 1 8 ; E - 1 9 2 ~ T - 3 1 8 ; I - 1 9 3 ~ T - 3 1
8 ; S - 1 9 4 ~ T - 3 1 8 ; L - 1 9 5 ~ T - 3 1 8 ; T - 1 9 6 ~ T - 3 1 8 ; V -
1 9 7 ~ T - 3 1 8 ; Q - 1 9 8 ~ T - 3 1 8 ; E - 1 9 9 ~ T - 3 1 8 ; N - 2 0 0 ~ 20
T - 3 1 8 ; A - 2 0 1 ~ T - 3 1 8 ; G - 2 0 2 ~ T - 3 1 8 ; S - 2 0 3 ~ T - 3 1
8 ; I - 2 0 4 ~ T - 3 1 8 ; S - 2 0 5 ~ T - 3 1 8 ; C - 2 0 6 ~ T - 3 1 8 ; S -
2 0 7 ~ T - 3 1 8 ; M - 2 0 8 ~ T - 3 1 8 ; R - 2 0 9 ~ T - 3 1 8 ; H - 2 1 0 ~
T - 3 1 8 ; A - 2 1 1 ~ T - 3 1 8 ; H - 2 1 2 ~ T - 3 1 8 ; L - 2 1 3 ~ T - 3 1
8 ; S - 2 1 4 ~ T - 3 1 8 ; R - 2 1 5 ~ T - 3 1 8 ; E - 2 1 6 ~ T - 3 1 8 ; V -
2 1 7 ~ T - 3 1 8 ; E - 2 1 8 ~ T - 3 1 8 ; S - 2 1 9 ~ T - 3 1 8 ; R - 2 2 0 ~
T - 3 1 8 ; V - 2 2 1 ~ T - 3 1 8 ; Q - 2 2 2 ~ T - 3 1 8 ; I - 2 2 3 ~ T - 3 1
8 ; G - 2 2 4 ~ T - 3 1 8 ; D - 2 2 5 ~ T - 3 1 8 ; W - 2 2 6 ~ T - 3 1 8 ; R -
2 2 7 ~ T - 3 1 8 ; R - 2 2 8 ~ T - 3 1 8 ; K - 2 2 9 ~ T - 3 1 8 ; H - 2 3 0 ~
T - 3 1 8 ; G - 2 3 1 ~ T - 3 1 8 ; Q - 2 3 2 ~ T - 3 1 8 ; A - 2 3 3 ~ T - 3 1 30
8 ; G - 2 3 4 ~ T - 3 1 8 ; K - 2 3 5 ~ T - 3 1 8 ; R - 2 3 6 ~ T - 3 1 8 ; K -
2 3 7 ~ T - 3 1 8 ; Y - 2 3 8 ~ T - 3 1 8 ; S - 2 3 9 ~ T - 3 1 8 ; S - 2 4 0 ~
T - 3 1 8 ; S - 2 4 1 ~ T - 3 1 8 ; H - 2 4 2 ~ T - 3 1 8 ; I - 2 4 3 ~ T - 3 1
8 ; Y - 2 4 4 ~ T - 3 1 8 ; D - 2 4 5 ~ T - 3 1 8 ; S - 2 4 6 ~ T - 3 1 8 ; F -
2 4 7 ~ T - 3 1 8 ; P - 2 4 8 ~ T - 3 1 8 ; S - 2 4 9 ~ T - 3 1 8 ; L - 2 5 0 ~
T - 3 1 8 ; S - 2 5 1 ~ T - 3 1 8 ; F - 2 5 2 ~ T - 3 1 8 ; M - 2 5 3 ~ T - 3 1
8 ; D - 2 5 4 ~ T - 3 1 8 ; F - 2 5 5 ~ T - 3 1 8 ; Y - 2 5 6 ~ T - 3 1 8 ; I -
2 5 7 ~ T - 3 1 8 ; L - 2 5 8 ~ T - 3 1 8 ; R - 2 5 9 ~ T - 3 1 8 ; P - 2 6 0 ~
T - 3 1 8 ; V - 2 6 1 ~ T - 3 1 8 ; G - 2 6 2 ~ T - 3 1 8 ; P - 2 6 3 ~ T - 3 1
8 ; C - 2 6 4 ~ T - 3 1 8 ; R - 2 6 5 ~ T - 3 1 8 ; A - 2 6 6 ~ T - 3 1 8 ; K - 40
2 6 7 ~ T - 3 1 8 ; L - 2 6 8 ~ T - 3 1 8 ; V - 2 6 9 ~ T - 3 1 8 ; M - 2 7 0 ~
T - 3 1 8 ; G - 2 7 1 ~ T - 3 1 8 ; T - 2 7 2 ~ T - 3 1 8 ; L - 2 7 3 ~ T - 3 1
8 ; K - 2 7 4 ~ T - 3 1 8 ; L - 2 7 5 ~ T - 3 1 8 ; Q - 2 7 6 ~ T - 3 1 8 ; I -
2 7 7 ~ T - 3 1 8 ; L - 2 7 8 ~ T - 3 1 8 ; G - 2 7 9 ~ T - 3 1 8 ; E - 2 8 0 ~
T - 3 1 8 ; V - 2 8 1 ~ T - 3 1 8 ; H - 2 8 2 ~ T - 3 1 8 ; F - 2 8 3 ~ T - 3 1
8 ; V - 2 8 4 ~ T - 3 1 8 ; E - 2 8 5 ~ T - 3 1 8 ; K - 2 8 6 ~ T - 3 1 8 ; P -
2 8 7 ~ T - 3 1 8 ; H - 2 8 8 ~ T - 3 1 8 ; S - 2 8 9 ~ T - 3 1 8 ; L - 2 9 0 ~
T - 3 1 8 ; L - 2 9 1 ~ T - 3 1 8 ; Q - 2 9 2 ~ T - 3 1 8 ; I - 2 9 3 ~ T - 3 1
8 ; S - 2 9 4 ~ T - 3 1 8 ; G - 2 9 5 ~ T - 3 1 8 ; G - 2 9 6 ~ T - 3 1 8 ; S -
2 9 7 ~ T - 3 1 8 ; T - 2 9 8 ~ T - 3 1 8 ; T - 2 9 9 ~ T - 3 1 8 ; L - 3 0 0 ~ 50

T - 3 1 8 ; K - 3 0 1 ~ T - 3 1 8 ; K - 3 0 2 ~ T - 3 1 8 ; G - 3 0 3 ~ T - 3 1 8 ; P - 3 0 4 ~ T - 3 1 8 ; N - 3 0 5 ~ T - 3 1 8 ; P - 3 0 6 ~ T - 3 1 8 ; W - 3 0 7 ~ T - 3 1 8 ; S - 3 0 8 ~ T - 3 1 8 ; F - 3 0 9 ~ T - 3 1 8 ; P - 3 1 0 ~ T - 3 1 8 ; S - 3 1 1 ~ T - 3 1 8 ; P - 3 1 2 ~ T - 3 1 8 ; および C - 3 1 3 ~ T - 3 1 8 ; から選択されるアミノ酸配列を含むか、このようなアミノ酸配列から構成されるポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドもまた、これらのポリペプチドの1つ以上に結合する抗体がそうであるように本発明により包含される。さらに、これらのポリペプチドのフラグメントおよび改変体（例えば、本明細書に記載のフラグメント、これらのポリペプチドに少なくとも、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるポリペプチド、およびこれらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドにストリンジエントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによりコードされるポリペプチド、またはその相補体など）がまた、本発明により包含される。本発明のこれらのフラグメントおよび改変体に結合する抗体がまた、本発明により包含される。これらのフラグメントおよび改変体をコードするポリヌクレオチドはまた、本発明により包含される。

10

【0109】

従って、本発明は、一般式1-nで記載されるように（ここでnは7~317の整数であり、nは、配列番号16において同定されたアミノ酸残基の位置に対応する）、図5A~Cに示されるポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号16）のカルボキシ末端から1つ以上の残基が欠失されたポリペプチドをさらに提供する。従って、本発明は、配列番号16のC末端欠失の以下の群から選択されるアミノ酸配列を含むか、あるいはこのようなアミノ酸配列から構成されるポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する：

M - 1 ~ P - 3 1 7 ; M - 1 ~ F - 3 1 6 ; M - 1 ~ L - 3 1 5 ; M - 1 ~ A - 3 1 4 ; M - 1 ~ C - 3 1 3 ; M - 1 ~ P - 3 1 2 ; M - 1 ~ S - 3 1 1 ; M - 1 ~ P - 3 1 0 ; M - 1 ~ F - 3 0 9 ; M - 1 ~ S - 3 0 8 ; M - 1 ~ W - 3 0 7 ; M - 1 ~ P - 3 0 6 ; M - 1 ~ N - 3 0 5 ; M - 1 ~ P - 3 0 4 ; M - 1 ~ G - 3 0 3 ; M - 1 ~ K - 3 0 2 ; M - 1 ~ K - 3 0 1 ; M - 1 ~ L - 3 0 0 ; M - 1 ~ T - 2 9 9 ; M - 1 ~ T - 2 9 8 ; M - 1 ~ S - 2 9 7 ; M - 1 ~ G - 2 9 6 ; M - 1 ~ G - 2 9 5 ; M - 1 ~ S - 2 9 4 ; M - 1 ~ I - 2 9 3 ; M - 1 ~ Q - 2 9 2 ; M - 1 ~ L - 2 9 1 ; M - 1 ~ L - 2 9 0 ; M - 1 ~ S - 2 8 9 ; M - 1 ~ H - 2 8 8 ; M - 1 ~ P - 2 8 7 ; M - 1 ~ K - 2 8 6 ; M - 1 ~ E - 2 8 5 ; M - 1 ~ V - 2 8 4 ; M - 1 ~ F - 2 8 3 ; M - 1 ~ H - 2 8 2 ; M - 1 ~ V - 2 8 1 ; M - 1 ~ E - 2 8 0 ; M - 1 ~ G - 2 7 9 ; M - 1 ~ L - 2 7 8 ; M - 1 ~ I - 2 7 7 ; M - 1 ~ Q - 2 7 6 ; M - 1 ~ L - 2 7 5 ; M - 1 ~ K - 2 7 4 ; M - 1 ~ L - 2 7 3 ; M - 1 ~ T - 2 7 2 ; M - 1 ~ G - 2 7 1 ; M - 1 ~ M - 2 7 0 ; M - 1 ~ V - 2 6 9 ; M - 1 ~ L - 2 6 8 ; M - 1 ~ K - 2 6 7 ; M - 1 ~ A - 2 6 6 ; M - 1 ~ R - 2 6 5 ; M - 1 ~ C - 2 6 4 ; M - 1 ~ P - 2 6 3 ; M - 1 ~ G - 2 6 2 ; M - 1 ~ V - 2 6 1 ; M - 1 ~ P - 2 6 0 ; M - 1 ~ R - 2 5 9 ; M - 1 ~ L - 2 5 8 ; M - 1 ~ I - 2 5 7 ; M - 1 ~ Y - 2 5 6 ; M - 1 ~ F - 2 5 5 ; M - 1 ~ D - 2 5 4 ; M - 1 ~ M - 2 5 3 ; M - 1 ~ F - 2 5 2 ; M - 1 ~ S - 2 5 1 ; M - 1 ~ L - 2 5 0 ; M - 1 ~ S - 2 4 9 ; M - 1 ~ P - 2 4 8 ; M - 1 ~ F - 2 4 7 ; M - 1 ~ S - 2 4 6 ; M - 1 ~ D - 2 4 5 ; M - 1 ~ Y - 2 4 4 ; M - 1 ~ I - 2 4 3 ; M - 1 ~ H - 2 4 2 ; M - 1 ~ S - 2 4 1 ; M - 1 ~ S - 2 4 0 ; M - 1 ~ S - 2 3 9 ; M - 1 ~ Y - 2 3 8 ; M - 1 ~ K - 2 3 7 ; M - 1 ~ R - 2 3 6 ; M - 1 ~ K - 2 3 5 ; M - 1 ~ G - 2 3 4 ; M - 1 ~ A - 2 3 3 ; M - 1 ~ Q - 2 3 2 ; M - 1 ~ G - 2 3 1 ; M - 1 ~ H - 2 3 0 ; M - 1 ~ K - 2 2 9 ; M - 1 ~ R - 2 2 8 ; M - 1 ~ R - 2 2 7 ; M - 1 ~ W - 2 2 6 ; M - 1 ~ D - 2 2 5 ; M - 1 ~ G - 2 2 4 ; M - 1 ~ I - 2 2 3 ; M - 1 ~ Q - 2 2 2 ; M - 1 ~ V - 2 2 1 ; M - 1 ~ R - 2 2 0 ; M - 1 ~ S - 2 1 9 ; M - 1 ~ E - 2 1 8 ; M - 1 ~ V - 2 1 7 ; M - 1 ~ E - 2 1 6 ; M - 1 ~ R - 2 1 5 ; M - 1 ~ S - 2 1 4 ; M - 1 ~ L - 2 1 3 ; M - 1 ~ H - 2 1 2 ; M - 1 ~ A - 2 1 1 ; M - 1 ~ H - 2 1 0 ; M - 1 ~ R - 2 0 9 ; M - 1 ~ M - 2 0 8 ; M - 1 ~ S - 2 0 7 ; M - 1 ~ C - 2 0 6 ; M - 1 ~

20

30

40

50

S - 205 ; M - 1 ~ I - 204 ; M - 1 ~ S - 203 ; M - 1 ~ G - 202 ; M - 1 ~
 A - 201 ; M - 1 ~ N - 200 ; M - 1 ~ E - 199 ; M - 1 ~ Q - 198 ; M - 1 ~
 V - 197 ; M - 1 ~ T - 196 ; M - 1 ~ L - 195 ; M - 1 ~ S - 194 ; M - 1 ~
 I - 193 ; M - 1 ~ E - 192 ; M - 1 ~ V - 191 ; M - 1 ~ D - 190 ; M - 1 ~
 F - 189 ; M - 1 ~ L - 188 ; M - 1 ~ G - 187 ; M - 1 ~ H - 186 ; M - 1 ~
 M - 185 ; M - 1 ~ D - 184 ; M - 1 ~ R - 183 ; M - 1 ~ N - 182 ; M - 1 ~
 T - 181 ; M - 1 ~ R - 180 ; M - 1 ~ S - 179 ; M - 1 ~ D - 178 ; M - 1 ~
 T - 177 ; M - 1 ~ S - 176 ; M - 1 ~ L - 175 ; M - 1 ~ D 174 ; M - 1 ~ Q
 - 173 ; M - 1 ~ G - 172 ; M - 1 ~ Q - 171 ; M - 1 ~ P - 170 ; M - 1 ~ G
 - 169 ; M - 1 ~ K - 168 ; M - 1 ~ W - 167 ; M - 1 ~ K - 166 ; M - 1 ~ A 10
 - 165 ; M - 1 ~ T - 164 ; M - 1 ~ P - 163 ; M - 1 ~ R - 162 ; M - 1 ~ P
 - 161 ; M - 1 ~ F - 160 ; M - 1 ~ W - 159 ; M - 1 ~ G - 158 ; M - 1 ~ S
 - 157 ; M - 1 ~ S - 156 ; M - 1 ~ Q - 155 ; M - 1 ~ C - 154 ; M - 1 ~ L
 - 153 ; M - 1 ~ L - 152 ; M - 1 ~ Q - 151 ; M - 1 ~ I - 150 ; M - 1 ~ D
 - 149 ; M - 1 ~ R - 148 ; M - 1 ~ D - 147 ; M - 1 ~ V - 146 ; M - 1 ~ Y
 - 145 ; M - 1 ~ G - 144 ; M - 1 ~ A - 143 ; M - 1 ~ I - 142 ; M - 1 ~ S
 - 141 ; M - 1 ~ I - 140 ; M - 1 ~ L - 139 ; M - 1 ~ P - 138 ; M - 1 ~ V
 - 137 ; M - 1 ~ S - 136 ; M - 1 ~ G - 135 ; M - 1 ~ L - 134 ; M - 1 ~ A
 - 133 ; M - 1 ~ S - 132 ; M - 1 ~ V - 131 ; M - 1 ~ Q - 130 ; M - 1 ~ L
 - 129 ; M - 1 ~ E - 128 ; M - 1 ~ W - 127 ; M - 1 ~ I - 126 ; M - 1 ~ A 20
 - 125 ; M - 1 ~ K - 124 ; M - 1 ~ Q - 123 ; M - 1 ~ Y - 122 ; M - 1 ~ Y
 - 121 ; M - 1 ~ S - 120 ; M - 1 ~ Q - 119 ; M - 1 ~ S - 118 ; M - 1 ~ S
 - 117 ; M - 1 ~ I - 116 ; M - 1 ~ R - 115 ; M - 1 ~ C - 114 ; M - 1 ~ G
 - 113 ; M - 1 ~ Y - 112 ; M - 1 ~ L - 111 ; M - 1 ~ G - 110 ; M - 1 ~ A
 - 109 ; M - 1 ~ D - 108 ; M - 1 ~ L - 107 ; M 1 ~ V - 106 ; M - 1 ~ T -
 105 ; M - 1 ~ I - 104 ; M - 1 ~ N - 103 ; M - 1 ~ E - 102 ; M - 1 ~ L -
 101 ; M - 1 ~ R - 100 ; M - 1 ~ L - 99 ; M - 1 ~ S - 98 ; M - 1 ~ I - 97
 ; M - 1 ~ R - 96 ; M - 1 ~ G - 95 ; M - 1 ~ E - 94 ; M - 1 ~ A - 93 ; M - 1
 ~ I - 92 ; M - 1 ~ S - 91 ; M - 1 ~ D - 90 ; M - 1 ~ K - 89 ; M - 1 ~ V - 8
 8 ; M - 1 ~ L - 87 ; M - 1 ~ K - 86 ; M - 1 ~ T - 85 ; M - 1 ~ R - 84 ; M - 30
 1 ~ G - 83 ; M - 1 ~ Q - 82 ; M - 1 ~ Y - 81 ; M - 1 ~ Q - 80 ; M - 1 ~ P -
 79 ; M - 1 ~ M - 78 ; M - 1 ~ Q - 77 ; M - 1 ~ M - 76 ; M - 1 ~ F - 75 ; M
 - 1 ~ P - 74 ; M - 1 ~ Q - 73 ; M - 1 ~ D - 72 ; M - 1 ~ K - 71 ; M - 1 ~ G
 - 70 ; M - 1 ~ D - 69 ; M - 1 ~ R - 68 ; M - 1 ~ Y - 67 ; M - 1 ~ L - 66 ;
 M - 1 ~ H - 65 ; M - 1 ~ V - 64 ; M - 1 ~ V - 63 ; M - 1 ~ S - 62 ; M - 1 ~
 S - 61 ; M - 1 ~ F - 60 ; M - 1 ~ Q - 59 ; M - 1 ~ G - 58 ; M - 1 ~ R - 57
 ; M - 1 ~ F - 56 ; M - 1 ~ F - 55 ; M - 1 ~ R - 54 ; M - 1 ~ V - 53 ; M - 1
 ~ E - 52 ; M - 1 ~ M - 51 ; M - 1 ~ A - 50 ; M - 1 ~ E - 49 ; M - 1 ~ A - 4
 8 ; M - 1 ~ N - 47 ; M - 1 ~ T - 46 ; M - 1 ~ K - 45 ; M - 1 ~ P - 44 ; M -
 1 ~ S - 43 ; M - 1 ~ L - 42 ; M - 1 ~ F - 41 ; M - 1 ~ C - 40 ; M - 1 ~ S - 40
 39 ; M - 1 ~ F - 38 ; M - 1 ~ A - 37 ; M - 1 ~ A - 36 ; M - 1 ~ D - 35 ; M
 - 1 ~ E - 34 ; M - 1 ~ G - 33 ; M - 1 ~ V - 32 ; M - 1 ~ L - 31 ; M - 1 ~ A
 - 30 ; M - 1 ~ Q - 29 ; M - 1 ~ V - 28 ; M - 1 ~ P - 27 ; M - 1 ~ K - 26 ;
 M - 1 ~ D - 25 ; M - 1 ~ P - 24 ; M - 1 ~ G - 23 ; M - 1 ~ F - 22 ; M - 1 ~
 V - 21 ; M - 1 ~ Q - 20 ; M - 1 ~ W - 19 ; M - 1 ~ Q - 18 ; M - 1 ~ G - 17
 ; M - 1 ~ S - 16 ; M - 1 ~ G - 15 ; M - 1 ~ L - 14 ; M - 1 ~ K - 13 ; M - 1
 ~ L - 12 ; M - 1 ~ L - 11 ; M - 1 ~ S - 10 ; M - 1 ~ L - 9 ; M - 1 ~ V - 8 ;
 および M - 1 ~ L - 7。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドもまた、こ
 れらのポリペプチドの1つ以上に結合する抗体がそうであるように本発明により包含され
 る。さらに、これらのポリペプチドのフラグメントおよび改変体（例えば、本明細書に記 50

載のフラグメント、これらのポリペプチドに少なくとも、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるポリペプチド、およびこれらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドにストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによりコードされるポリペプチド、またはその相補体などがまた、本発明により包含される。本発明のこれらのフラグメントおよび改変体に結合する抗体がまた、本発明により包含される。これらのフラグメントおよび改変体をコードするポリヌクレオチドはまた、本発明により包含される。

【0110】

また、上記のように、タンパク質のC末端からの1つ以上のアミノ酸の欠失がこのタンパク質の1つ以上の生物学的機能（例えば、混合リンパ球反応を阻害する能力）の損失の改変を生じる場合でさえ、他の生物学的活性（例えば、生物学的活性、多量体化する能力、レセプターに結合する能力、抗体を生成する能力、抗体に結合する能力）はなお保持され得る。例えば、短縮ポリペプチドが、ポリペプチドの完全型または成熟形態を認識する抗体を誘導および/または結合する、能力は、この完全または成熟ポリペプチドの大多数より少ない残基が、C末端まから除去される場合に一般に保持される。完全ポリペプチドのC末端残基を欠損する特定のポリペプチドが、このような免疫原性活性を保持するか否かは、本明細書中に記載される慣用的な方法、およびそうでなければ当該分野において公知の慣用的な方法によって容易に決定され得る。多数のC末端アミノ酸残基が欠失しているポリペプチドが、いくつかの生物学的活性または免疫原性活性を保持し得る可能性はある。実際に、6つ程度に少ないアミノ酸残基からなるペプチドは、しばしば免疫応答を惹起し得る。

【0111】

より詳細には、本発明は、B7-H9タンパク質の成熟細胞外部分（配列番号36）のN末端欠失の群から選択されるアミノ酸を含むか、あるいはこれらのアミノ酸から構成されるポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する：配列番号16のW-19~T-318；Q-20~T-318；V-21~T-318；F-22~T-318；G-23~T-318；P-24~T-318；D-25~T-318；K-26~T-318；P-27~T-318；V-28~T-318；Q-29~T-318；A-30~T-318；L-31~T-318；V-32~T-318；G-33~T-318；E-34~T-318；D-35~T-318；A-36~T-318；A-37~T-318；F-38~T-318；S-39~T-318；C-40~T-318；F-41~T-318；L-42~T-318；S-43~T-318；P-44~T-318；K-45~T-318；T-46~T-318；N-47~T-318；A-48~T-318；E-49~T-318；A-50~T-318；M-51~T-318；E-52~T-318；V-53~T-318；R-54~T-318；F-55~T-318；F-56~T-318；R-57~T-318；G-58~T-318；Q-59~T-318；F-60~T-318；S-61~T-318；S-62~T-318；V-63~T-318；V-64~T-318；H-65~T-318；L-66~T-318；Y-67~T-318；R-68~T-318；D-69~T-318；G-70~T-318；K-71~T-318；D-72~T-318；Q-73~T-318；P-74~T-318；F-75~T-318；M-76~T-318；Q-77~T-318；M-78~T-318；P-79~T-318；Q-80~T-318；Y-81~T-318；Q-82~T-318；G-83~T-318；R-84~T-318；T-85~T-318；K-86~T-318；L-87~T-318；V-88~T-318；K-89~T-318；D-90~T-318；S-91~T-318；I-92~T-318；A-93~T-318；E-94~T-318；G-95~T-318；R-96~T-318；I-97~T-318；S-98~T-318；L-99~T-318；R-100~T-318；L-101~T-318；E-102~T-318；N-103~T-318；I-104~T-318；T-105~T-318；V-106~T-318；L-107~T-318；D-108~T-318；A-109~T

- 3 1 8 ; G - 1 1 0 ~ T - 3 1 8 ; L - 1 1 1 ~ T - 3 1 8 ; Y - 1 1 2 ~ T - 3 1 8
 ; G - 1 1 3 ~ T - 3 1 8 ; C - 1 1 4 ~ T - 3 1 8 ; R - 1 1 5 ~ T - 3 1 8 ; I - 1
 1 6 ~ T - 3 1 8 ; S - 1 1 7 ~ T - 3 1 8 ; S - 1 1 8 ~ T - 3 1 8 ; Q - 1 1 9 ~ T
 - 3 1 8 ; S - 1 2 0 ~ T - 3 1 8 ; Y - 1 2 1 ~ T - 3 1 8 ; Y - 1 2 2 ~ T - 3 1 8
 ; Q - 1 2 3 ~ T - 3 1 8 ; K - 1 2 4 ~ T - 3 1 8 ; A - 1 2 5 ~ T - 3 1 8 ; I - 1
 2 6 ~ T - 3 1 8 ; W - 1 2 7 ~ T - 3 1 8 ; E - 1 2 8 ~ T - 3 1 8 ; L - 1 2 9 ~ T
 - 3 1 8 ; Q - 1 3 0 ~ T - 3 1 8 ; V - 1 3 1 ~ T - 3 1 8 ; S - 1 3 2 ~ T - 3 1 8
 ; A - 1 3 3 ~ T - 3 1 8 ; L - 1 3 4 ~ T - 3 1 8 ; G - 1 3 5 ~ T - 3 1 8 ; S - 1
 3 6 ~ T - 3 1 8 ; V - 1 3 7 ~ T - 3 1 8 ; P - 1 3 8 ~ T - 3 1 8 ; L - 1 3 9 ~ T
 - 3 1 8 ; I - 1 4 0 ~ T - 3 1 8 ; S - 1 4 1 ~ T - 3 1 8 ; I - 1 4 2 ~ T - 3 1 8 10
 ; A - 1 4 3 ~ T - 3 1 8 ; G - 1 4 4 ~ T - 3 1 8 ; Y - 1 4 5 ~ T - 3 1 8 ; V - 1
 4 6 ~ T - 3 1 8 ; D - 1 4 7 ~ T - 3 1 8 ; R - 1 4 8 ~ T - 3 1 8 ; D - 1 4 9 ~ T
 - 3 1 8 ; I - 1 5 0 ~ T - 3 1 8 ; Q - 1 5 1 ~ T - 3 1 8 ; L - 1 5 2 ~ T - 3 1 8
 ; L - 1 5 3 ~ T - 3 1 8 ; C - 1 5 4 ~ T - 3 1 8 ; Q - 1 5 5 ~ T - 3 1 8 ; S - 1
 5 6 ~ T - 3 1 8 ; S - 1 5 7 ~ T - 3 1 8 ; G - 1 5 8 ~ T - 3 1 8 ; W - 1 5 9 ~ T
 - 3 1 8 ; F - 1 6 0 ~ T - 3 1 8 ; P - 1 6 1 ~ T - 3 1 8 ; R - 1 6 2 ~ T - 3 1 8
 ; P - 1 6 3 ~ T - 3 1 8 ; T - 1 6 4 ~ T - 3 1 8 ; A - 1 6 5 ~ T - 3 1 8 ; K - 1
 6 6 ~ T - 3 1 8 ; W - 1 6 7 ~ T - 3 1 8 ; K - 1 6 8 ~ T - 3 1 8 ; G - 1 6 9 ~ T
 - 3 1 8 ; P - 1 7 0 ~ T - 3 1 8 ; Q - 1 7 1 ~ T - 3 1 8 ; G - 1 7 2 ~ T - 3 1 8
 ; Q - 1 7 3 ~ T - 3 1 8 ; D - 1 7 4 ~ T - 3 1 8 ; L - 1 7 5 ~ T - 3 1 8 ; S - 1 20
 7 6 ~ T - 3 1 8 ; T - 1 7 7 ~ T - 3 1 8 ; D - 1 7 8 ~ T - 3 1 8 ; S - 1 7 9 ~ T
 - 3 1 8 ; R - 1 8 0 ~ T - 3 1 8 ; T - 1 8 1 ~ T - 3 1 8 ; N - 1 8 2 ~ T - 3 1 8
 ; R - 1 8 3 ~ T - 3 1 8 ; D - 1 8 4 ~ T - 3 1 8 ; M - 1 8 5 ~ T - 3 1 8 ; H - 1
 8 6 ~ T - 3 1 8 ; G - 1 8 7 ~ T - 3 1 8 ; L - 1 8 8 ~ T - 3 1 8 ; F - 1 8 9 ~ T
 - 3 1 8 ; D - 1 9 0 ~ T - 3 1 8 ; V - 1 9 1 ~ T - 3 1 8 ; E - 1 9 2 ~ T - 3 1 8
 ; I - 1 9 3 ~ T - 3 1 8 ; S - 1 9 4 ~ T - 3 1 8 ; L - 1 9 5 ~ T - 3 1 8 ; T - 1
 9 6 ~ T - 3 1 8 ; V - 1 9 7 ~ T - 3 1 8 ; Q - 1 9 8 ~ T - 3 1 8 ; E - 1 9 9 ~ T
 - 3 1 8 ; N - 2 0 0 ~ T - 3 1 8 ; A - 2 0 1 ~ T - 3 1 8 ; G - 2 0 2 ~ T - 3 1 8
 ; S - 2 0 3 ~ T - 3 1 8 ; I - 2 0 4 ~ T - 3 1 8 ; S - 2 0 5 ~ T - 3 1 8 ; C - 2
 0 6 ~ T - 3 1 8 ; S - 2 0 7 ~ T - 3 1 8 ; M - 2 0 8 ~ T - 3 1 8 ; R - 2 0 9 ~ T 30
 - 3 1 8 ; H - 2 1 0 ~ T - 3 1 8 ; A - 2 1 1 ~ T - 3 1 8 ; H - 2 1 2 ~ T - 3 1 8
 ; L - 2 1 3 ~ T - 3 1 8 ; S - 2 1 4 ~ T - 3 1 8 ; R - 2 1 5 ~ T - 3 1 8 ; E - 2
 1 6 ~ T - 3 1 8 ; V - 2 1 7 ~ T - 3 1 8 ; E - 2 1 8 ~ T - 3 1 8 ; S - 2 1 9 ~ T
 - 3 1 8 ; R - 2 2 0 ~ T - 3 1 8 ; V - 2 2 1 ~ T - 3 1 8 ; Q - 2 2 2 ~ T - 3 1 8
 ; I - 2 2 3 ~ T - 3 1 8 ; G - 2 2 4 ~ T - 3 1 8 ; D - 2 2 5 ~ T - 3 1 8 ; W - 2
 2 6 ~ T - 3 1 8 ; R - 2 2 7 ~ T - 3 1 8 ; R - 2 2 8 ~ T - 3 1 8 ; K - 2 2 9 ~ T
 - 3 1 8 ; H - 2 3 0 ~ T - 3 1 8 ; G - 2 3 1 ~ T - 3 1 8 ; Q - 2 3 2 ~ T - 3 1 8
 ; A - 2 3 3 ~ T - 3 1 8 ; G - 2 3 4 ~ T - 3 1 8 ; K - 2 3 5 ~ T - 3 1 8 ; R - 2
 3 6 ~ T - 3 1 8 ; K - 2 3 7 ~ T - 3 1 8 ; Y - 2 3 8 ~ T - 3 1 8 ; S - 2 3 9 ~ T
 - 3 1 8 ; S - 2 4 0 ~ T - 3 1 8 ; S - 2 4 1 ~ T - 3 1 8 ; H - 2 4 2 ~ T - 3 1 8 40
 ; I - 2 4 3 ~ T - 3 1 8 ; Y - 2 4 4 ~ T - 3 1 8 ; D - 2 4 5 ~ T - 3 1 8 ; S - 2
 4 6 ~ T - 3 1 8 ; F - 2 4 7 ~ T - 3 1 8 ; P - 2 4 8 ~ T - 3 1 8 ; S - 2 4 9 ~ T
 - 3 1 8 ; L - 2 5 0 ~ T - 3 1 8 ; S - 2 5 1 ~ T - 3 1 8 ; F - 2 5 2 ~ T - 3 1 8
 ; M - 2 5 3 ~ T - 3 1 8 ; D - 2 5 4 ~ T - 3 1 8 ; F - 2 5 5 ~ T - 3 1 8 ; Y - 2
 5 6 ~ T - 3 1 8 ; I - 2 5 7 ~ T - 3 1 8 ; L - 2 5 8 ~ T - 3 1 8 ; R - 2 5 9 ~ T
 - 3 1 8 ; P - 2 6 0 ~ T - 3 1 8 ; V - 2 6 1 ~ T - 3 1 8 ; G - 2 6 2 ~ T - 3 1 8
 ; P - 2 6 3 ~ T - 3 1 8 ; C - 2 6 4 ~ T - 3 1 8 ; R - 2 6 5 ~ T - 3 1 8 ; A - 2
 6 6 ~ T - 3 1 8 ; K - 2 6 7 ~ T - 3 1 8 ; L - 2 6 8 ~ T - 3 1 8 ; V - 2 6 9 ~ T
 - 3 1 8 ; M - 2 7 0 ~ T - 3 1 8 ; G - 2 7 1 ~ T - 3 1 8 ; T - 2 7 2 ~ T - 3 1 8
 ; L - 2 7 3 ~ T - 3 1 8 ; K - 2 7 4 ~ T - 3 1 8 ; L - 2 7 5 ~ T - 3 1 8 ; Q - 2 50

76 ~ T - 318 ; I - 277 ~ T - 318 ; L - 278 ~ T - 318 ; G - 279 ~ T - 318 ; E - 280 ~ T - 318 ; V - 281 ~ T - 318 ; H - 282 ~ T - 318 ; F - 283 ~ T - 318 ; V - 284 ~ T - 318 ; E - 285 ~ T - 318 ; K - 286 ~ T - 318 ; P - 287 ~ T - 318 ; H - 288 ~ T - 318 ; S - 289 ~ T - 318 ; L - 290 ~ T - 318 ; L - 291 ~ T - 318 ; Q - 292 ~ T - 318 ; I - 293 ~ T - 318 ; S - 294 ~ T - 318 ; G - 295 ~ T - 318 ; G - 296 ~ T - 318 ; S - 297 ~ T - 318 ; T - 298 ~ T - 318 ; T - 299 ~ T - 318 ; L - 300 ~ T - 318 ; K - 301 ~ T - 318 ; K - 302 ~ T - 318 ; G - 303 ~ T - 318 ; P - 304 ~ T - 318 ; N - 305 ~ T - 318 ; P - 306 ~ T - 318 ; W - 307 ~ T - 318 ; S - 308 ~ T - 318 ; F - 309 ~ T - 318 ; P - 310 ~ T - 318 ; S - 311 ~ T - 318 ; P - 312 ~ T - 318 ; および/または C - 313 ~ T - 318 。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドもまた、これらのポリペプチドの1つ以上に結合する抗体がそうであるように本発明により包含される。さらに、これらのポリペプチドのフラグメントおよび改変体（例えば、本明細書に記載のフラグメント、これらのポリペプチドに少なくとも、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるポリペプチド、およびこれらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドにストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによりコードされるポリペプチド、またはその相補体など）がまた、本発明により包含される。本発明のこれらのフラグメントおよび改変体に結合する抗体がまた、本発明により包含される。これらのフラグメントおよび改変体をコードするポリヌクレオチドはまた、本発明により包含される。

【0112】

さらに、本発明は、B7-H9タンパク質の成熟細胞外部分（配列番号36）のC末端欠失の群から選択されるアミノ酸を含むか、あるいはこれらのアミノ酸から構成されるポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する：配列番号16のQ-18 ~ P-317 ; Q-18 ~ F-316 ; Q-18 ~ L-315 ; Q-18 ~ A-314 ; Q-18 ~ C-313 ; Q-18 ~ P-312 ; Q-18 ~ S-311 ; Q-18 ~ P-310 ; Q-18 ~ F-309 ; Q-18 ~ S-308 ; Q-18 ~ W-307 ; Q-18 ~ P-306 ; Q-18 ~ N-305 ; Q-18 ~ P-304 ; Q-18 ~ G-303 ; Q-18 ~ K-302 ; Q-18 ~ K-301 ; Q-18 ~ L-300 ; Q-18 ~ T-299 ; Q-18 ~ T-298 ; Q-18 ~ S-297 ; Q-18 ~ G-296 ; Q-18 ~ G-295 ; Q-18 ~ S-294 ; Q-18 ~ I-293 ; Q-18 ~ Q-292 ; Q-18 ~ L-291 ; Q-18 ~ L-290 ; Q-18 ~ S-289 ; Q-18 ~ H-288 ; Q-18 ~ P-287 ; Q-18 ~ K-286 ; Q-18 ~ E-285 ; Q-18 ~ V-284 ; Q-18 ~ F-283 ; Q-18 ~ H-282 ; Q-18 ~ V-281 ; Q-18 ~ E-280 ; Q-18 ~ G-279 ; Q-18 ~ L-278 ; Q-18 ~ I-277 ; Q-18 ~ Q-276 ; Q-18 ~ L-275 ; Q-18 ~ K-274 ; Q-18 ~ L-273 ; Q-18 ~ T-272 ; Q-18 ~ G-271 ; Q-18 ~ M-270 ; Q-18 ~ V-269 ; Q-18 ~ L-268 ; Q-18 ~ K-267 ; Q-18 ~ A-266 ; Q-18 ~ R-265 ; Q-18 ~ C-264 ; Q-18 ~ P-263 ; Q-18 ~ G-262 ; Q-18 ~ V-261 ; Q-18 ~ P-260 ; Q-18 ~ R-259 ; Q-18 ~ L-258 ; Q-18 ~ I-257 ; Q-18 ~ Y-256 ; Q-18 ~ F-255 ; Q-18 ~ D-254 ; Q-18 ~ M-253 ; Q-18 ~ F-252 ; Q-18 ~ S-251 ; Q-18 ~ L-250 ; Q-18 ~ S-249 ; Q-18 ~ P-248 ; Q-18 ~ F-247 ; Q-18 ~ S-246 ; Q-18 ~ D-245 ; Q-18 ~ Y-244 ; Q-18 ~ I-243 ; Q-18 ~ H-242 ; Q-18 ~ S-241 ; Q-18 ~ S-240 ; Q-18 ~ S-239 ; Q-18 ~ Y-238 ; Q-18 ~ K-237 ; Q-18 ~ R-236 ; Q-18 ~ K-235 ; Q-18 ~ G-234 ; Q-18 ~ A-233 ; Q-18 ~ Q-232 ; Q-18 ~ G-231 ; Q-18 ~ H-230 ; Q-18 ~ K-229 ; Q-18 ~ R-228 ; Q-18 ~ R-227 ; Q-18 ~ W-226

; Q - 1 8 ~ D - 2 2 5 ; Q - 1 8 ~ G - 2 2 4 ; Q - 1 8 ~ I - 2 2 3 ; Q - 1 8 ~ Q
 - 2 2 2 ; Q - 1 8 ~ V - 2 2 1 ; Q - 1 8 ~ R - 2 2 0 ; Q - 1 8 ~ S - 2 1 9 ; Q -
 1 8 ~ E - 2 1 8 ; Q - 1 8 ~ V - 2 1 7 ; Q - 1 8 ~ E - 2 1 6 ; Q - 1 8 ~ R - 2 1
 5 ; Q - 1 8 ~ S - 2 1 4 ; Q - 1 8 ~ L - 2 1 3 ; Q - 1 8 ~ H - 2 1 2 ; Q - 1 8 ~
 A - 2 1 1 ; Q - 1 8 ~ H - 2 1 0 ; Q - 1 8 ~ R - 2 0 9 ; Q - 1 8 ~ M - 2 0 8 ; Q
 - 1 8 ~ S - 2 0 7 ; Q - 1 8 ~ C - 2 0 6 ; Q - 1 8 ~ S - 2 0 5 ; Q - 1 8 ~ I - 2
 0 4 ; Q - 1 8 ~ S - 2 0 3 ; Q - 1 8 ~ G - 2 0 2 ; Q - 1 8 ~ A - 2 0 1 ; Q - 1 8
 ~ N - 2 0 0 ; Q - 1 8 ~ E - 1 9 9 ; Q - 1 8 ~ Q - 1 9 8 ; Q - 1 8 ~ V - 1 9 7 ;
 Q - 1 8 ~ T - 1 9 6 ; Q - 1 8 ~ L - 1 9 5 ; Q - 1 8 ~ S - 1 9 4 ; Q - 1 8 ~ I - 10
 1 9 3 ; Q - 1 8 ~ E - 1 9 2 ; Q - 1 8 ~ V - 1 9 1 ; Q - 1 8 ~ D - 1 9 0 ; Q - 1
 8 ~ F - 1 8 9 ; Q - 1 8 ~ L - 1 8 8 ; Q - 1 8 ~ G - 1 8 7 ; Q - 1 8 ~ H - 1 8 6
 ; Q - 1 8 ~ M - 1 8 5 ; Q - 1 8 ~ D - 1 8 4 ; Q - 1 8 ~ R - 1 8 3 ; Q - 1 8 ~ N
 - 1 8 2 ; Q - 1 8 ~ T - 1 8 1 ; Q - 1 8 ~ R - 1 8 0 ; Q - 1 8 ~ S - 1 7 9 ; Q -
 1 8 ~ D - 1 7 8 ; Q - 1 8 ~ T - 1 7 7 ; Q - 1 8 ~ S - 1 7 6 ; Q - 1 8 ~ L - 1 7
 5 ; Q - 1 8 ~ D - 1 7 4 ; Q - 1 8 ~ Q - 1 7 3 ; Q - 1 8 ~ G - 1 7 2 ; Q - 1 8 ~
 Q 1 7 1 ; Q - 1 8 ~ P - 1 7 0 ; Q - 1 8 ~ G - 1 6 9 ; Q - 1 8 ~ K - 1 6 8 ; Q -
 1 8 ~ W - 1 6 7 ; Q - 1 8 ~ K - 1 6 6 ; Q - 1 8 ~ A - 1 6 5 ; Q - 1 8 ~ T - 1 6
 4 ; Q - 1 8 ~ P - 1 6 3 ; Q - 1 8 ~ R - 1 6 2 ; Q - 1 8 ~ P - 1 6 1 ; Q - 1 8 ~
 F - 1 6 0 ; Q - 1 8 ~ W - 1 5 9 ; Q - 1 8 ~ G - 1 5 8 ; Q - 1 8 ~ S - 1 5 7 ; Q
 - 1 8 ~ S - 1 5 6 ; Q - 1 8 ~ Q - 1 5 5 ; Q - 1 8 ~ C - 1 5 4 ; Q - 1 8 ~ L - 1
 20 5 3 ; Q - 1 8 ~ L - 1 5 2 ; Q - 1 8 ~ Q - 1 5 1 ; Q - 1 8 ~ I - 1 5 0 ; Q - 1 8
 ~ D - 1 4 9 ; Q - 1 8 ~ R - 1 4 8 ; Q - 1 8 ~ D - 1 4 7 ; Q - 1 8 ~ V - 1 4 6 ;
 Q - 1 8 ~ Y - 1 4 5 ; Q - 1 8 ~ G - 1 4 4 ; Q - 1 8 ~ A - 1 4 3 ; Q - 1 8 ~ I -
 1 4 2 ; Q - 1 8 ~ S - 1 4 1 ; Q - 1 8 ~ I - 1 4 0 ; Q - 1 8 ~ L - 1 3 9 ; Q - 1
 8 ~ P - 1 3 8 ; Q - 1 8 ~ V - 1 3 7 ; Q - 1 8 ~ S - 1 3 6 ; Q - 1 8 ~ G - 1 3 5
 ; Q - 1 8 ~ L - 1 3 4 ; Q - 1 8 ~ A - 1 3 3 ; Q - 1 8 ~ S - 1 3 2 ; Q - 1 8 ~ V
 - 1 3 1 ; Q - 1 8 ~ Q - 1 3 0 ; Q - 1 8 ~ L - 1 2 9 ; Q - 1 8 ~ E - 1 2 8 ; Q -
 1 8 ~ W - 1 2 7 ; Q - 1 8 ~ I - 1 2 6 ; Q - 1 8 ~ A - 1 2 5 ; Q - 1 8 ~ K - 1 2
 4 ; Q - 1 8 ~ Q - 1 2 3 ; Q - 1 8 ~ Y - 1 2 2 ; Q - 1 8 ~ Y - 1 2 1 ; Q - 1 8 ~
 S - 1 2 0 ; Q - 1 8 ~ Q - 1 1 9 ; Q - 1 8 ~ S - 1 1 8 ; Q - 1 8 ~ S - 1 1 7 ; Q
 - 1 8 ~ I - 1 1 6 ; Q - 1 8 ~ R - 1 1 5 ; Q - 1 8 ~ C - 1 1 4 ; Q - 1 8 ~ G - 1
 30 1 3 ; Q - 1 8 ~ Y - 1 1 2 ; Q - 1 8 ~ L - 1 1 1 ; Q - 1 8 ~ G - 1 1 0 ; Q - 1 8
 ~ A - 1 0 9 ; Q - 1 8 ~ D - 1 0 8 ; Q - 1 8 ~ L - 1 0 7 ; Q - 1 8 ~ V - 1 0 6 ;
 Q - 1 8 ~ T - 1 0 5 ; Q - 1 8 ~ I - 1 0 4 ; Q - 1 8 ~ N - 1 0 3 ; Q - 1 8 ~ E -
 1 0 2 ; Q - 1 8 ~ L - 1 0 1 ; Q - 1 8 ~ R - 1 0 0 ; Q - 1 8 ~ L - 9 9 ; Q - 1 8
 ~ S - 9 8 ; Q - 1 8 ~ I - 9 7 ; Q - 1 8 ~ R - 9 6 ; Q - 1 8 ~ G - 9 5 ; Q - 1 8
 ~ E - 9 4 ; Q - 1 8 ~ A - 9 3 ; Q - 1 8 ~ I - 9 2 ; Q - 1 8 ~ S - 9 1 ; Q - 1 8
 ~ D - 9 0 ; Q - 1 8 ~ K - 8 9 ; Q - 1 8 ~ V - 8 8 ; Q 1 8 ~ L - 8 7 ; Q - 1 8 ~
 K - 8 6 ; Q - 1 8 ~ T - 8 5 ; Q - 1 8 ~ R - 8 4 ; Q - 1 8 ~ G - 8 3 ; Q - 1 8 ~
 Q - 8 2 ; Q - 1 8 ~ Y - 8 1 ; Q - 1 8 ~ Q - 8 0 ; Q - 1 8 ~ P - 7 9 ; Q - 1 8 ~
 40 M - 7 8 ; Q - 1 8 ~ Q - 7 7 ; Q - 1 8 ~ M - 7 6 ; Q - 1 8 ~ F - 7 5 ; Q - 1 8 ~
 P - 7 4 ; Q - 1 8 ~ Q - 7 3 ; Q - 1 8 ~ D - 7 2 ; Q - 1 8 ~ K - 7 1 ; Q - 1 8 ~
 G - 7 0 ; Q - 1 8 ~ D - 6 9 ; Q - 1 8 ~ R - 6 8 ; Q - 1 8 ~ Y - 6 7 ; Q - 1 8 ~
 L - 6 6 ; Q - 1 8 ~ H - 6 5 ; Q - 1 8 ~ V - 6 4 ; Q - 1 8 ~ V - 6 3 ; Q - 1 8 ~
 S - 6 2 ; Q - 1 8 ~ S - 6 1 ; Q - 1 8 ~ F - 6 0 ; Q - 1 8 ~ Q - 5 9 ; Q - 1 8 ~
 G - 5 8 ; Q - 1 8 ~ R - 5 7 ; Q - 1 8 ~ F - 5 6 ; Q - 1 8 ~ F - 5 5 ; Q - 1 8 ~
 R - 5 4 ; Q - 1 8 ~ V - 5 3 ; Q - 1 8 ~ E - 5 2 ; Q - 1 8 ~ M - 5 1 ; Q - 1 8 ~
 A - 5 0 ; Q - 1 8 ~ E - 4 9 ; Q - 1 8 ~ A - 4 8 ; Q - 1 8 ~ N - 4 7 ; Q - 1 8 ~
 T - 4 6 ; Q - 1 8 ~ K - 4 5 ; Q - 1 8 ~ P - 4 4 ; Q - 1 8 ~ S - 4 3 ; Q - 1 8 ~
 L - 4 2 ; Q - 1 8 ~ F - 4 1 ; Q - 1 8 ~ C - 4 0 ; Q - 1 8 ~ S - 3 9 ; Q - 1 8 ~ 50

F - 38 ; Q - 18 ~ A - 37 ; Q - 18 ~ A - 36 ; Q - 18 ~ D - 35 ; Q - 18 ~ E - 34 ; Q - 18 ~ G - 33 ; Q - 18 ~ V - 32 ; Q - 18 ~ L - 31 ; Q - 18 ~ A - 30 ; Q - 18 ~ Q - 29 ; Q - 18 ~ V - 28 ; Q - 18 ~ P - 27 ; Q - 18 ~ K - 26 ; Q - 18 ~ D - 25 ; および / または Q - 18 ~ P - 24 。これらのポリペプチドのフラグメントおよび / または改変体（例えば、本明細書において記載されるフラグメントおよび / または改変体など）がまた、本発明によって包含される。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチド（フラグメントおよび / または改変体を含む）もまた、これらのポリペプチドに結合する抗体がそうであるように本発明により包含される。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドもまた、これらのポリペプチドの1つ以上に結合する抗体がそうであるように本発明により包含される。さらに、これらのポリペプチドのフラグメントおよび改変体（例えば、本明細書に記載のフラグメント、これらのポリペプチドに少なくとも、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるポリペプチド、およびこれらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドにストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによりコードされるポリペプチド、またはその相補体など）がまた、本発明により包含される。本発明のこれらのフラグメントおよび改変体に結合する抗体がまた、本発明により包含される。これらのフラグメントおよび改変体をコードするポリヌクレオチドはまた、本発明により包含される。

10

【0113】

さらに、上記に列挙されたN末端欠失またはC末端欠失のいずれかを組合せてN末端欠失ポリペプチドおよびC末端欠失ポリペプチドを生成し得る。本発明はまた、アミノ末端およびカルボキシ末端の両方から1つ以上のアミノ酸を欠失したポリペプチドあるいはこれらから構成されるポリペプチドを提供する。このポリペプチドは、一般に、配列番号16のm~n残基を有するとして記載され得、ここでnおよびmは上記のような整数である。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドもまた、本発明により包含される。

20

【0114】

本発明はまた、m~nとして本明細書において記載されるポリペプチド配列に対して、少なくとも80%、85%、90%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるポリペプチドを含むタンパク質に関する。好ましい実施形態において、本出願は、本明細書において列挙された特定のN末端欠失およびC末端欠失のアミノ酸配列を有するポリペプチドに対して、少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるポリペプチドを含むタンパク質に関する。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドもまた、本発明により包含される。

30

【0115】

また、ATCC寄託番号PTA-2332に含まれたcDNAクローンによってコードされる完全アミノ酸配列の一部からなるポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列も含まれる。ここで、この部分は、ATCC寄託番号PTA-2332に含まれたcDNAクローンによってコードされる完全アミノ酸配列のアミノ末端から、ATCC寄託番号PTA-2332に含まれたcDNAクローンによってコードされる完全アミノ酸配列の、1~約312アミノ酸の任意の整数のアミノ酸残基を除外するか、またはカルボキシ末端から1~約312アミノ酸の任意の整数のアミノ酸残基を除外するか、または上記のアミノ末端欠失およびカルボキシ末端欠失の任意の組合せを除外する。

40

【0116】

本明細書において記載されるか、さもなければ当該分野で公知のように、本発明のポリヌクレオチドは、染色体同定、染色体マッピング、および連鎖解析において、プローブまたはプライマーとして役立つことを含むがこれらに限定されない用途を有する。

【0117】

この遺伝子は、小腸、結腸、および結腸腫瘍組織において発現されることが発見されている。

50

【0118】

本発明のポリヌクレオチドおよびポリペプチドは、生物学的サンプル中に存在する胃腸系組織または細胞型の示差的同定のため、ならびに、免疫系活性化、刺激および/または監視機構に關与する疾患および/または障害（特にT細胞および/または好中球に關与する）、ならびに胃腸系の疾患および/または障害を含むが、これらに限定されない疾患および状態の診断のための試薬として有用である。同様に、ポリペプチドおよびこれらのポリペプチドに対する抗体は、組織または細胞型の示差的同定のための免疫学的プローブを提供することに有用である。B7-H9タンパク質の活性についてのアンタゴニストとして作用するこのタンパク質の細胞外部分に対する抗体の使用が特に企図される。このようなアンタゴニスト性抗体は、本明細書に記載されるこのような生物学的活性（例えば、T細胞調節活性）の予防および/または阻害に有用である。

10

【0119】

上記組織または細胞の多くの障害、特に胃腸系および免疫系の多くの障害について、標準的な遺伝子発現レベル、すなわち、障害を有さない個体からの健常組織または体液中の発現レベルに対して有意により高いまたはより低いレベルのこの遺伝子の発現が、特定の組織または細胞型（例えば、免疫組織、胃腸組織、癌性組織および創傷組織）または体液（例えば、リンパ、血清、血漿、尿、滑液および髄液）またはこのような障害を有する個体から採取された別の組織もしくは細胞サンプル中で慣用的に検出され得る。

【0120】

B7ファミリーのリガンドのメンバーに対する相同性は、この遺伝子に対応するポリヌクレオチドおよびポリペプチドが、免疫系活性化、刺激および/または監視に關与する疾患および/または障害（特にT細胞および/または好中球に關する）の診断、検出および/または処置に有用であることを示す。詳細には、B7-H9遺伝子の翻訳産物は、T細胞の同時刺激、ICOSへの結合に關与し得、そして/または、例えば、特定のサイトカインの発現の調節において役割を果たし得る。

20

【0121】

小腸および結腸組織内での発現は、この遺伝子に対応するポリヌクレオチド、翻訳産物、および抗体が、小腸に關する障害の診断および/または処置に有用であることを示唆する。これは、消化および食物吸収に關連した疾患、ならびに小腸または他の身体内の造血細胞および組織のパイアー斑を含む造血障害を含み得る。同様に、再び、結腸組織および結腸癌組織におけるこの遺伝子産物の発現は、食物の消化、プロセッシング、および排泄における關与、ならびに結腸癌、および一般の癌の発生における診断マーカーまたは原因物質としてのこの遺伝子の潜在的な役割を示す。さらに、この遺伝子に対応する翻訳産物、ならびにこれらの翻訳産物に対する抗体は、上記に挙げられた組織に対する腫瘍マーカーおよび/または免疫治療の標的として有用性を示し得る。

30

【0122】

（遺伝子番号4によってコードされるタンパク質の特徴）

本出願の目的に關して、この遺伝子およびその対応する翻訳産物は、B7-H11遺伝子およびB7-H11タンパク質として既知である。このタンパク質は、ほぼ、以下の好ましいアミノ酸残基：T A S P W M V S M T V I L A V F I I F M A V S I C C（配列番号38）を具現すると考えられる。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドはまた、これらのポリペプチドの1つ以上に結合する抗体がそうあるように、本発明に包含される。さらに、これらのポリペプチドのフラグメントおよび改変体（例えば、本明細書に記載のフラグメント、これらのポリペプチドに少なくとも、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるポリペプチド、およびこれらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドにストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによりコードされるポリペプチド、またはその相補体など）がまた、本発明により包含される。本発明のこれらのフラグメントおよび改変体に結合する抗体がまた、本発明により包含される。これらのフラグメントおよび改変体をコードするポリヌクレオチドがまた、本発明によって包含される。当業者に理解されるように、膜貫通

40

50

ドメインはコンピューター分析を用いて推定され、そしてこの膜貫通ドメインは、推定膜貫通ドメインのN末端およびC末端から1、2、3、4、5、6、7、8、9および/または10アミノ酸まで、変化し得る。このB7-H11遺伝子は、B7ファミリーのリガンドのメンバー（すなわち、B7-H1（Genbank登録番号AAF25807を参照のこと））と相同な配列を共有する。これらのタンパク質およびそれらの対応するレセプターは、T細胞の成長、分化、活性化、増殖、および死において重要な役割を果たす。例えば、このファミリーのいくつかのメンバー（すなわち、B7-H1）は、T細胞応答の同時刺激、および増大したサイトカイン産生の誘導に参与するが、他のファミリーのメンバーは、T細胞応答の負の調節に参与する。従って、B7-H11遺伝子に対する抗体または低分子のようなアゴニストおよびアンタゴニストは、T細胞媒介免疫系障害、なら

10

【0123】

本発明の好ましいポリペプチドは、配列番号17において残基：Ser-53~Glu-59、Lys-78~Gly-93、Ala-116~Tyr-122、Gln-127~Asp-133、Lys-153~Ser-159、Lys-283~Lys-289、Ser-292~Glu-303、Glu-339~Ser-362、Ala-373~Asn-381、Glu-384~Arg-392、およびAsn-394~His-419として示されるB7-H11タンパク質の免疫原性エピトープのうち1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、また11全てを含むか、あるいはこれらからなる

これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドもまた、これらのポリペプチドの1つ以上に結合する抗体がそうあるように、本発明に包含される。さらに、これらのポリペプチドのフラグメントおよび改変体（例えば、本明細書に記載のフラグメント、これらのポリペプチドに少なくとも、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるポリペプチド、およびこれらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドにストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによりコードされるポリペプチド、またはその相補体など）がまた、本発明により包含される。本発明のこれらのフラグメントおよび改変体に結合する抗体がまた、本発明により包含される。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドはまた、本発明により包含される。

20

30

【0124】

さらなる非排他的な実施形態において、本発明のポリペプチドは、以下のアミノ酸配列の1つまたは両方を含むか、あるいはそれらからなる：

B7-H11タンパク質の細胞外ドメイン：MEPAAALHFSRPASLLLLLS
LCAALVSAQFTVVGPANPILAMVGENTTLRCHLSPEKNAED
MEVRWFRSQFSPA VFVYKGGREERTEEQMEEYRGRITFVSK
DINRGSVALVIHNVTAQENGIYRCYFQEGRSYDEAILRLV
VAGLGSKPLIEIKAQEDGSIWLECISSGGWYPEPLTVWRDP
YGEVVPALKEVSIADADGLFMVTTAVIIRDKYVRNVSCSV
NNTLLGQEKETVIFIPESFMPSSASPWMVALAVIL（配列番号3

40

9）、
B7-H11タンパク質の成熟細胞外ドメイン：QFTVVGPANPILAMVGENTTLRCHLSPEKNAEDMEVRWFRSQFSPA VFVYKGGREERTEEQMEEYRGRITFVSKDINRGSVALVIHNVTAQENGIYRCYFQEGRSYDEAILRLV VAGLGSKPLIEIKAQEDGSIWLECISSGGWYPEPLTVWRDPYGEVVPALKEVSIADADGLFMVTTAVIIRDKYVRNVSCSVNNTLLGQEKETVIFIPESFMPSSASPWMVALAVIL（配列番号40）、および/または

B7-11タンパク質のリーダー配列：MEPAAALHFSRPASLLLLLSLCAALVSA（配列番号41）。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドもま

50

た、これらのポリペプチドの1つ以上に結合する抗体がそうであるように、本発明により包含される。さらに、これらのポリペプチドのフラグメントおよび改変体（例えば、本明細書に記載のフラグメント、これらのポリペプチドに少なくとも、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるポリペプチド、およびこれらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドにストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによりコードされるポリペプチド、またはその相補体など）がまた、本発明により包含される。本発明のこれらのフラグメントおよび改変体に結合する抗体がまた、本発明により包含される。これらのフラグメントおよび改変体をコードするポリヌクレオチドはまた、本発明により包含される。

【0125】

機能的活性を示すB7-H11タンパク質（配列番号40）の成熟細胞外部分のフラグメントを含むか、あるいはこれらからなるポリペプチドがまた好ましい。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドがまた、これらのポリヌクレオチドの1つ以上に結合する抗体がそうであるように、本発明によって包含される。さらに、これらのポリペプチドのフラグメントおよび改変体（例えば、本明細書に記載のフラグメント、これらのポリペプチドに少なくとも、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるポリペプチド、およびこれらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドにストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによりコードされるポリペプチド、またはその相補体など）が、本発明により包含される。本発明のこれらのフラグメントおよび改変体に結合する抗体がまた、本発明により包含される。これらのフラグメントおよび改変体をコードするポリヌクレオチドはまた、本発明により包含される。

【0126】

機能的な活性とは、全長（完全）B7-H11タンパク質に関連する1つ以上の既知の機能的活性を示し得るポリペプチドフラグメントを意味する。このような機能的活性としては、生物学的活性（例えば、T細胞同時刺激活性、ICOS、CD28、またはCTLA4に結合する能力、およびサイトカイン産生を誘導または阻害する能力）、抗原性〔抗B7-H11抗体と結合する（かまたは結合についてB7-H11ポリペプチドと競合する）能力〕、免疫原性（B7-H11ポリペプチドに結合する抗体を生成する能力）、本発明のB7-H11ポリペプチドとの多量体を形成する能力、ならびにB7-H11ポリペプチドのレセプターに結合する能力が挙げられるがこれらに限定されない。

【0127】

図7A~Dは、この遺伝子に対応するヌクレオチド（配列番号5）および推定アミノ酸配列（配列番号17）を示す。図8は、このアミノ酸配列（配列番号17）の分析を示す。ターン、およびコイル領域；親水性および疎水性；両親媒性領域；可撓性領域；抗原性指標および表面確率、が示され、そして全てが列挙されたコンピューターアルゴリズムのデフォルト設定を使用して作製された。「抗原性指標 - Jameson - Wolf」のグラフにおいて、正のピークは、このタンパク質の高度に抗原性の領域（すなわち、本発明のエピトープ保有ペプチドが得られ得る領域）の位置を示す。これらのグラフによって規定されたドメインを含むか、またはこのようなドメインから構成されるポリペプチドは、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドがそうであるように、本発明によって意図される。図8に示すデータはまた、表6に表形式で示される。欄を、見出し「Res」「Position」およびローマ数字のI~XIVで標識する。欄の見出しは、図8および表6に示されるアミノ酸配列の以下の特性をいう：「Res（残基）」：配列番号17ならびに図7A~Cのアミノ酸残基；「Position（位置）」：配列番号17ならびに図7A~Cの対応する残基の位置；I： 、領域 - Garnier - Robson；II： 、領域 - Chou - Fasman；III： 、領域 - Garnier - Robson；IV： 、領域 - Chou - Fasman；V：ターン、領域 - Garnier - Robson；VI：ターン、領域 - Chou - Fasman；VII：コイル領域 - Garnier - Robson；VIII：親水性プロット - Kyte - D

10

20

30

40

50

o o l i t t l e ; I X : 親水性プロット - H o p p - W o o d s ; X : 、 両親媒性領域 - E i s e n b e r g ; X I : 、 両親媒性領域 - E i s e n b e r g ; X I I : 可撓性領域 - K a r p l u s - S c h u l z ; X I I I ; 抗原性指数 - J a m e s o n - W o l f ; および X I V : 表面確率プロット - E m i n i 。これに関して本発明の好ましい実施形態は、1つ以上の以下の領域を含むかまたは以下からなるフラグメントを含む：ヘリックスおよびヘリックス形成領域（「ヘリックス - 領域」）、シートおよびシート形成領域（「シート - 領域」）、ターンおよびターン形成領域（「ターン - 領域」）、コイルおよびコイル形成領域（「コイル - 領域」）、親水性領域、疎水性領域、両親媒性領域、両親媒性領域、可撓性領域、表面形成領域および高度抗原性指標領域。上記の、図8および/または表6に示されるタンパク質の構造的属性または機能的属性を示すデータを、デフォルトパラメータに設定されるDNA*STARの種々の同定されたモジュールおよびアルゴリズムを使用して、作製した。好ましい実施形態において、表6の欄VII、IX、XIII、およびXIVに示されるデータを使用して、抗原性について高度な可能性を示すタンパク質の領域を決定し得る。高抗原性の領域は、抗原認識が免疫応答の開始のプロセスにおいて生じ得る環境で、ポリペプチドの表面におそらく曝露されるポリペプチドの領域を示す値を選択することによって、欄VII、IX、XIII、および/またはXIVに示されるデータから決定される。これらに関して特定の好ましい領域は、図8にて示されるが、表6に示されるように、図8に示されるデータの表形式において表され得るか、または同定され得る。図8（最初のデフォルトパラメータに対して設定される）を作製するために使用されるDNA*STARコンピュータアルゴリズムを使用して、表形式（表6を参照のこと）の図8においてデータを示した。図8におけるデータの表形式（表6を参照のこと）を使用して、好ましい領域の特定の境界を容易に決定する。

10

20

30

40

50

【0128】

本発明はさらに、本明細書中に記載されるポリヌクレオチド配列のフラグメントに関する。例えば、寄託されたcDNAのポリヌクレオチド配列または配列番号5に示されるヌクレオチド配列のフラグメントは、少なくとも約15nt、そしてより好ましくは少なくとも約20nt、少なくとも約25nt、さらにより好ましくは少なくとも約30nt、少なくとも約35nt、そしてなおより好ましくは少なくとも約40nt長、少なくとも約45nt長、少なくとも約50nt長、少なくとも約60nt長、少なくとも約70nt長、少なくとも約80nt長、少なくとも約90nt長、少なくとも約100nt長、少なくとも約125nt長、少なくとも約150nt長、少なくとも約175nt長のポリヌクレオチドフラグメントを意図する。これらのフラグメントは、本明細書中に議論されるような診断プローブおよびプライマーとして有用である。もちろん、200~1500nt長のより大きいフラグメントはまた、全てではないが、寄託されたcDNAまたは配列番号5に示されるようなヌクレオチド配列のほとんどに対応するフラグメントであるので本発明に従って有用である。例えば、少なくとも20nt長のフラグメントは、寄託されたcDNAのヌクレオチド配列または配列番号5に示されるようなヌクレオチド配列由来の20以上連続する塩基を含むフラグメントを意図する。この文脈において、「おおよそ（約）」は、いずれかの末端または両方の末端において、特に示されたサイズ、数個（5、4、3、2、または1）のヌクレオチドだけ大きいか、または小さなサイズを含む。本発明のポリヌクレオチドフラグメントの代表例としては、例えば、配列番号5、もしくはそれに対する相補鎖、または寄託されたクローンにおいて含まれるcDNAの約ヌクレオチド1~約50、約51~約100、約101~約150、約151~約200、約201~約250、約251~約300、約301~約350、約351~約400、約401~約450、約451~約500、および約501~約550、および約551~約600、約601~約650、約651~約700、約701~約750、約751~約800、および約801~約860の配列を含むか、またはこれらからなるフラグメントを含む。この文脈において、「おおよそ（約）」は、特に記載された範囲、そしていずれかの末端もしくは両方の末端において、これより数個（5、4、3、2、または1）のヌクレオチドだけ大きいか、または小さな範囲を含む。さらなる実施形態において、本発明

のポリヌクレオチドは、対応するタンパク質の機能的特性をコードする。

【 0 1 2 9 】

本発明の好ましいポリペプチドフラグメントは、アミノ末端もしくはカルボキシ末端またはその両方から連続した一連の残基が欠失した分泌タンパク質を含むかまたはこれからなる。特に、ポリペプチドのN末端欠失は、一般式 $m - 454$ によって記載され、ここで、 m は 2 ~ 449 の整数であり、ここで、 m は配列番号 17 において同定されるアミノ酸残基の位置に対応する。より詳細には、本発明は、以下の群から選択される配列番号 17 のアミノ酸を含むかまたはこれらからなるポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する：

【 0 1 3 0 】

【 化 6 】

E-2 ~ L-454; P-

3 ~ L-454; A-4 ~ L-454; A-5 ~ L-454; A-6 ~ L-454; L-7 ~ L-454; H-8 ~ L-454; F-9 ~ L-454; S-10 ~ L-454; R-11 ~ L-454; P-12 ~ L-454; A-13 ~ L-454; S-14 ~ L-454; L-15 ~ L-454; L-16 ~ L-454; L-17 ~ L-454; L-18 ~ L-454; L-19 ~ L-454; S-20 ~ L-454; L-21 ~ L-454; C-22 ~ L-454; A-23 ~ L-454; L-24 ~ L-454; V-25 ~ L-454; S-26 ~ L-454; A-27 ~ L-454; Q-28 ~ L-454; F-29 ~ L-454; T-30 ~ L-454; V-31 ~ L-454; V-32 ~ L-454; G-33 ~ L-454; P-34 ~ L-454; A-35 ~ L-454; N-36 ~ L-454; P-37 ~ L-454; I-38 ~ L-454; L-39 ~ L-454; A-40 ~ L-454; M-41 ~ L-454; V-42 ~ L-454; G-43 ~ L-454; E-44 ~ L-454; N-45 ~ L-454; T-46 ~ L-454; T-47 ~ L-454; L-48 ~ L-454; R-49 ~ L-454; C-50 ~ L-454; H-51 ~ L-454; L-52 ~ L-454; S-53 ~ L-454; P-54 ~ L-454; E-55 ~ L-454; K-56 ~ L-454; N-57 ~ L-454; A-58 ~ L-454; E-59 ~ L-454; D-60 ~ L-454; M-61 ~ L-454; E-62 ~ L-454; V-63 ~

10

20

L-454; R-64 ~ L-454; W-65 ~ L-454; F-66 ~ L-454; R-67 ~ L-454; S-68 ~ L-454; Q-69 ~ L-454; F-70 ~ L-454; S-71 ~ L-454; P-72 ~ L-454; A-73 ~ L-454; V-74 ~ L-454; F-75 ~ L-454; V-76 ~ L-454; Y-77 ~ L-454; K-78 ~ L-454; G-79 ~ L-454; G-80 ~ L-454; R-81 ~ L-454; E-82 ~ L-454; R-83 ~ L-454; T-84 ~ L-454; E-85 ~ L-454; E-86 ~ L-454; Q-87 ~ L-454; M-88 ~ L-454; E-89 ~ L-454; E-90 ~ L-454; Y-91 ~ L-454; R-92 ~ L-454; G-93 ~ L-454; R-94 ~ L-454; I-95 ~ L-454; T-96 ~ L-454; F-97 ~ L-454; V-98 ~ L-454; S-99 ~ L-454; K-100 ~ L-454; D-101 ~ L-454; I-102 ~ L-454; N-103 ~ L-454; R-104 ~ L-454; G-105 ~ L-454; S-106 ~ L-454; V-107 ~ L-454; A-108 ~ L-454; L-109 ~ L-454; V-110 ~ L-454; I-111 ~ L-454; H-112 ~ L-454; N-113 ~ L-454; V-114 ~ L-454; T-115 ~ L-454; A-116 ~ L-454; Q-117 ~ L-454; E-118 ~ L-454; N-119 ~ L-454; G-120 ~ L-454; I-121 ~ L-454; Y-122 ~ L-454; R-123 ~ L-454; C-124 ~ L-454; Y-125 ~ L-454; F-126 ~ L-454; Q-127 ~ L-454; E-128 ~ L-454; G-129 ~ L-454; R-130 ~ L-454; S-131 ~ L-454; Y-132 ~ L-454; D-133 ~ L-454; E-134 ~ L-454; A-135 ~ L-454; I-136 ~ L-454; L-137 ~ L-454; R-138 ~ L-454; L-139 ~ L-454; V-140 ~ L-454; V-141 ~ L-454; A-142 ~ L-454; G-143 ~ L-454; L-144 ~ L-454; G-145 ~ L-454; S-146 ~ L-454; K-147 ~ L-454; P-148 ~ L-454; L-149 ~ L-454; I-150 ~ L-454; E-151 ~ L-454; I-152 ~ L-454; K-153 ~ L-454; A-154 ~ L-454; Q-155 ~ L-454; E-156 ~ L-454; D-157 ~ L-454; G-158 ~ L-454; S-159 ~ L-454; I-160 ~ L-454; W-161 ~ L-454; L-162 ~ L-454; E-163 ~ L-454; C-164 ~ L-454; I-165 ~ L-454; S-166 ~ L-454; G-167 ~ L-454; G-168 ~ L-454; W-169 ~ L-454; Y-170 ~ L-454; P-171 ~ L-454; E-172 ~ L-454; P-173 ~ L-454; L-174 ~ L-454; T-175 ~ L-454; V-176 ~ L-454; W-177 ~ L-454; R-178 ~ L-454; D-179 ~ L-454; P-180 ~ L-454; Y-181 ~ L-454; G-182 ~ L-454; E-183 ~ L-454; V-184 ~ L-454; V-185 ~ L-454; P-186 ~ L-454; A-187 ~ L-454; L-188 ~ L-454; K-189 ~ L-454; E-190 ~ L-454; V-191 ~ L-454; S-192 ~ L-454; I-193 ~ L-454; A-194 ~ L-454; D-195 ~ L-454; A-196 ~ L-454; D-197 ~ L-454; G-198 ~ L-454; L-199 ~ L-454; F-200 ~ L-454; M-201 ~ L-454; V-202 ~ L-454; T-203 ~ L-454; T-204 ~ L-454; A-205 ~ L-454; V-206 ~ L-454; I-207 ~ L-454; I-208 ~ L-454; R-209 ~ L-454; D-210 ~ L-454; K-211 ~ L-454; Y-212 ~ L-454; V-213 ~ L-454; R-214 ~ L-454; N-215 ~ L-454; V-216 ~ L-454; S-217 ~ L-454; C-218 ~ L-454; S-219 ~ L-454; V-220 ~ L-454; N-221 ~ L-454; N-222 ~ L-454; T-223 ~ L-454; L-224 ~ L-454; L-225 ~ L-454; G-226 ~ L-454; Q-227 ~ L-454; E-228 ~ L-454; K-229 ~ L-454; E-230 ~ L-454; T-231 ~ L-454; V-232 ~ L-454; I-233 ~ L-454; F-234 ~ L-454; I-235 ~ L-454; P-236 ~ L-454; E-237 ~ L-454; S-238 ~ L-454; F-239 ~ L-454; M-240 ~ L-454; P-241 ~ L-454; S-242 ~ L-

10

20

30

454; A-243 ~L-454; S-244 ~L-454; P-245 ~L-454; W-246 ~L-454; M-247 ~L-454; V-248 ~L-454; A-249 ~L-454; L-250 ~L-454; A-251 ~L-454; V-252 ~L-454; I-253 ~L-454; L-254 ~L-454; T-255 ~L-454; A-256 ~L-454; S-257 ~L-454; P-258 ~L-454; W-259 ~L-454; M-260 ~L-454; V-261 ~L-454; S-262 ~L-454; M-263 ~L-454; T-264 ~L-454; V-265 ~L-454; I-266 ~L-454; L-267 ~L-454; A-268 ~L-454; V-269 ~L-454; F-270 ~L-454; I-271 ~L-454; I-272 ~L-454; F-273 ~L-454; M-274 ~L-454; A-275 ~L-454; V-276 ~L-454; S-277 ~L-454; I-278 ~L-454; C-279 ~L-454; C-280 ~L-454; I-281 ~L-454; K-282 ~L-454; K-283 ~L-454; L-284 ~L-454; Q-285 ~L-454; R-286 ~L-454; E-287 ~L-454; K-288 ~L-454; K-289 ~L-454; I-290 ~L-454; L-291 ~L-454; S-292 ~L-454; G-293 ~L-454; E-294 ~L-454; K-295 ~L-454; K-296 ~L-454; V-297 ~L-454; E-298 ~L-454; Q-299 ~L-454; E-300 ~L-454; E-301 ~L-454; K-302 ~L-454; E-303 ~L-454; I-304 ~L-454; A-305 ~L-454; Q-306 ~L-454; Q-307 ~L-454; L-308 ~L-454; Q-309 ~L-454; E-310 ~L-454; E-311 ~L-454; L-312 ~L-454; R-313 ~L-454; W-314 ~L-454; R-315 ~L-454; R-316 ~L-454; T-317 ~L-454; F-318 ~L-454; L-319 ~L-454; H-320 ~L-454; A-321 ~L-454; A-322 ~L-454; D-323 ~L-454; V-324 ~L-454; V-325 ~L-454; L-326 ~L-454; D-327 ~L-454; P-328 ~L-454; D-329 ~L-454; T-330 ~L-454; A-331 ~L-454; H-332 ~L-454; P-333 ~L-454; E-334 ~L-454; L-335 ~L-454; F-336 ~L-454; L-337 ~L-454; S-338 ~L-454; E-339 ~L-454; D-340 ~L-454; R-341 ~L-454; R-342 ~L-454; S-343 ~L-454; V-344 ~L-454; R-345 ~L-454; R-346 ~L-454; G-347 ~L-454; P-348 ~L-454; Y-349 ~L-454; R-350 ~L-454; Q-351 ~L-454; R-352 ~L-454; V-353 ~L-454; P-354 ~L-454; D-355 ~L-454; N-356 ~L-454; P-357 ~L-454; E-358 ~L-454; R-359 ~L-454; F-360 ~L-454; D-361 ~L-454; S-362 ~L-454; Q-363 ~L-454; P-364 ~L-454; C-365 ~L-454; V-366 ~L-454; L-367 ~L-454; G-368 ~L-454; W-369 ~L-454; E-370 ~L-454; S-371 ~L-454; F-372 ~L-454; A-373 ~L-454; S-374 ~L-454; G-375 ~L-454; K-376 ~L-454; H-377 ~L-454; Y-378 ~L-454; R-379 ~L-454; G-380 ~L-454; N-381 ~L-454; F-382 ~L-454; T-383 ~L-454; E-384 ~L-454; W-385 ~L-454; G-386 ~L-454; P-387 ~L-454; T-388 ~L-454; R-389 ~L-454; A-390 ~L-454; Y-391 ~L-454; R-392 ~L-454; I-393 ~L-454; N-394 ~L-454; S-395 ~L-454; L-396 ~L-454; D-397 ~L-454; S-398 ~L-454; Q-399 ~L-454; P-400 ~L-454; C-401 ~L-454; R-402 ~L-454; K-403 ~L-454; P-404 ~L-454; W-405 ~L-454; P-406 ~L-454; S-407 ~L-454; Q-408 ~L-454; Q-409 ~L-454; P-410 ~L-454; P-411 ~L-454; H-412 ~L-454; N-413 ~L-454; P-414 ~L-454; P-415 ~L-454; N-416 ~L-454; E-417 ~L-454; R-418 ~L-454; H-419 ~L-454; A-420 ~L-454; L-421 ~L-454; L-422 ~L-454; P-423 ~L-454; S-424 ~L-454; G-425 ~L-454; H-426 ~L-454; V-427 ~L-454; R-428 ~L-454; E-429 ~L-454; H-430 ~L-454; L-431 ~L-454; P-432 ~L-454; A-433 ~L-454; A-434 ~L-454; F-435 ~L-454; F-436 ~L-454; T-437 ~L-454; P-438 ~L-454; T-439 ~L-454; P-440 ~L-454; A-441 ~L-454; L-442 ~L-454; C-443 ~L-454; P-444 ~L-454; S-445 ~L-454; F-446 ~L-454; L-447 ~L-454; L-448 ~L-454; 新規/特許 L-449 ~L-454

10

20

30

40

。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドはまた、これらのポリペプチドの1つ以上に結合する抗体と同様に、本発明によって含まれる。さらに、これらのポリペプチドのフラグメントおよび改変体（例えば、本明細書中で記載されるフラグメント、これ

50

らのポリペプチドと少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%同一なポリペプチド、およびストリンジентな条件下で、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドにハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド、またはそれらの相補体)が、本発明によって含まれる。本発明のこれらのフラグメントおよび改変体に結合する抗体もまた、本発明によって含まれる。これらのフラグメントおよび改変体をコードするポリヌクレオチドもまた本発明によって含まれる。

【0131】

従って、本発明は、一般式1-nによって記載されるような、図7A~C(配列番号17)において示されるようなポリペプチドのアミノ酸配列のカルボキシ末端からの1つ以上の残基を欠失するポリペプチドをさらに提供する。ここで、nは、7~453の任意の整数であり、ここでnは、配列番号17において同定されるアミノ酸残基の位置に対応する。さらに、本発明は、以下のC末端欠失の群から選択される配列番号17のアミノ酸配列を含むか、あるいはこれらからなるポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する：

10

【0132】

【化7】

M-1~W-453; M-1~L-452; M-1~S-451; M-1~T-450; M-1~L-449; M-1~L-448; M-1~L-447; M-1~F-446; M-1~S-445; M-1~P-444; M-1~C-443; M-1~L-442; M-1~A-441; M-1~P-440; M-1~T-439; M-1~P-438; M-1~T-437; M-1~F-436; M-1~F-435; M-1~A-434; M-1~A-433; M-1~P-432; M-1~L-431; M-1~H-430; M-1~E-429; M-1~R-428; M-1~V-427; M-1~H-426; M-1~G-425; M-1~S-424; M-1~P-423; M-1~L-422; M-1~L-421; M-1~A-420; M-1~H-419; M-1~R-418; M-1~E-417; M-1~N-416; M-1~P-415; M-1~P-414; M-1~N-413; M-1~H-412; M-1~P-411; M-1~P-410; M-1~Q-409; M-1~Q-408; M-1~S-407; M-1~P-406; M-1~W-405; M-1~P-404; M-1~K-403; M-1~R-402; M-1~C-401; M-1~P-400; M-1~Q-399; M-1~S-398; M-1~D-397; M-1~L-396; M-1~S-395; M-1~N-394; M-1~I-393; M-1~R-392; M-1~Y-391;

20

30

M-1 ~ A-390; M-1 ~ R-389; M-1 ~ T-388; M-1 ~ P-387; M-1 ~ G-386; M-1 ~ W-385; M-1 ~ E-384; M-1 ~ T-383; M-1 ~ F-382; M-1 ~ N-381; M-1 ~ G-380; M-1 ~ R-379; M-1 ~ Y-378; M-1 ~ H-377; M-1 ~ K-376; M-1 ~ G-375; M-1 ~ S-374; M-1 ~ A-373; M-1 ~ F-372; M-1 ~ S-371; M-1 ~ E-370; M-1 ~ W-369; M-1 ~ G-368; M-1 ~ L-367; M-1 ~ V-366; M-1 ~ C-365; M-1 ~ P-364; M-1 ~ Q-363; M-1 ~ S-362; M-1 ~ D-361; M-1 ~ F-360; M-1 ~ R-359; M-1 ~ E-358; M-1 ~ P-357; M-1 ~ N-356; M-1 ~ D-355; M-1 ~ P-354; M-1 ~ V-353; M-1 ~ R-352; M-1 ~ Q-351; M-1 ~ R-350; M-1 ~ Y-349; M-1 ~ P-348; M-1 ~ G-347; M-1 ~ R-346; M-1 ~ R-345; M-1 ~ V-344; M-1 ~ S-343; M-1 ~ R-342; M-1 ~ R-341; M-1 ~ D-340; M-1 ~ E-339; M-1 ~ S-338; M-1 ~ L-337; M-1 ~ F-336; M-1 ~ L-335; M-1 ~ E-334; M-1 ~ P-333; M-1 ~ H-332; M-1 ~ A-331; M-1 ~ T-330; M-1 ~ D-329; M-1 ~ P-328; M-1 ~ D-327; M-1 ~ L-326; M-1 ~ V-325; M-1 ~ V-324; M-1 ~ D-323; M-1 ~ A-322; M-1 ~ A-321; M-1 ~ H-320; M-1 ~ L-319; M-1 ~ F-318; M-1 ~ T-317; M-1 ~ R-316; M-1 ~ R-315; M-1 ~ W-314; M-1 ~ R-313; M-1 ~ L-312; M-1 ~ E-311; M-1 ~ E-310; M-1 ~ Q-309; M-1 ~ L-308; M-1 ~ Q-307; M-1 ~ Q-306; M-1 ~ A-305; M-1 ~ I-304; M-1 ~ E-303; M-1 ~ K-302; M-1 ~ E-301; M-1 ~ E-300; M-1 ~ Q-299; M-1 ~ E-298; M-1 ~ V-297; M-1 ~ K-296; M-1 ~ K-295; M-1 ~ E-294; M-1 ~ G-293; M-1 ~ S-292; M-1 ~ L-291; M-1 ~ I-290; M-1 ~ K-289; M-1 ~ K-288; M-1 ~ E-287; M-1 ~ R-286; M-1 ~ Q-285; M-1 ~ L-284; M-1 ~ K-283; M-1 ~ K-282; M-1 ~ I-281; M-1 ~ C-280; M-1 ~ C-279; M-1 ~ I-278; M-1 ~ S-277; M-1 ~ V-276; M-1 ~ A-275; M-1 ~ M-274; M-1 ~ F-273; M-1 ~ I-272; M-1 ~ I-271; M-1 ~ F-270; M-1 ~ V-269; M-1 ~ A-268; M-1 ~ L-267; M-1 ~ I-266; M-1 ~ V-265; M-1 ~ T-264; M-1 ~ M-263; M-1 ~ S-262; M-1 ~ V-261; M-1 ~ M-260; M-1 ~ W-259; M-1 ~ P-258; M-1 ~ S-257; M-1 ~ A-256; M-1 ~ T-255; M-1 ~ L-254; M-1 ~ I-253; M-1 ~ V-252; M-1 ~ A-251; M-1 ~ L-250; M-1 ~ A-249; M-1 ~ V-248; M-1 ~ M-247; M-1 ~ W-246; M-1 ~ P-245; M-1 ~ S-244; M-1 ~ A-243; M-1 ~ S-242; M-1 ~ P-241; M-1 ~ M-240; M-1 ~ F-239; M-1 ~ S-238; M-1 ~ E-237; M-1 ~ P-236; M-1 ~ I-235; M-1 ~ F-234; M-1 ~ I-233; M-1 ~ V-232; M-1 ~ T-231; M-1 ~ E-230; M-1 ~ K-229; M-1 ~ E-228; M-1 ~ Q-227; M-1 ~ G-226; M-1 ~ L-225; M-1 ~ L-224; M-1 ~ T-223; M-1 ~ N-222; M-1 ~ N-221; M-1 ~ V-220; M-1 ~ S-219; M-1 ~ C-218; M-1 ~ S-217; M-1 ~ V-216; M-1 ~ N-215; M-1 ~ R-214; M-1 ~ V-213; M-1 ~ Y-212; M-1 ~ K-211; M-1 ~ D-210; M-1 ~ R-209; M-1 ~ I-208; M-1 ~ I-207; M-1 ~ V-206; M-1 ~ A-205; M-1 ~ T-204; M-1 ~ T-203; M-1 ~ V-202; M-1 ~ M-201; M-1 ~ F-200; M-1 ~ L-199; M-1 ~ G-198; M-1 ~ D-197; M-1 ~ A-196; M-1 ~ D-195; M-

10

20

30

1 ~ A-194; M-1 ~ I-193; M-1 ~ S-192; M-1 ~ V-191; M-1 ~ E-190; M-1 ~ K-189; M-1 ~
 L-188; M-1 ~ A-187; M-1 ~ P-186; M-1 ~ V-185; M-1 ~ V-184; M-1 ~ E-183; M-1 ~ G-
 182; M-1 ~ Y-181; M-1 ~ P-180; M-1 ~ D-179; M-1 ~ R-178; M-1 ~ W-177; M-1 ~ V-
 176; M-1 ~ T-175; M-1 ~ L-174; M-1 ~ P-173; M-1 ~ E-172; M-1 ~ P-171; M-1 ~ Y-170;
 M-1 ~ W-169; M-1 ~ G-168; M-1 ~ G-167; M-1 ~ S-166; M-1 ~ I-165; M-1 ~ C-164; M-
 1 ~ E-163; M-1 ~ L-162; M-1 ~ W-161; M-1 ~ I-160; M-1 ~ S-159; M-1 ~ G-158; M-1 ~
 D-157; M-1 ~ E-156; M-1 ~ Q-155; M-1 ~ A-154; M-1 ~ K-153; M-1 ~ I-152; M-1 ~ E-
 151; M-1 ~ I-150; M-1 ~ L-149; M-1 ~ P-148; M-1 ~ K-147; M-1 ~ S-146; M-1 ~ G-145;
 M-1 ~ L-144; M-1 ~ G-143; M-1 ~ A-142; M-1 ~ V-141; M-1 ~ V-140; M-1 ~ L-139; M-
 1 ~ R-138; M-1 ~ L-137; M-1 ~ I-136; M-1 ~ A-135; M-1 ~ E-134; M-1 ~ D-133; M-1 ~
 Y-132; M-1 ~ S-131; M-1 ~ R-130; M-1 ~ G-129; M-1 ~ E-128; M-1 ~ Q-127; M-1 ~ F-
 126; M-1 ~ Y-125; M-1 ~ C-124; M-1 ~ R-123; M-1 ~ Y-122; M-1 ~ I-121; M-1 ~ G-
 120; M-1 ~ N-119; M-1 ~ E-118; M-1 ~ Q-117; M-1 ~ A-116; M-1 ~ T-115; M-1 ~ V-
 114; M-1 ~ N-113; M-1 ~ H-112; M-1 ~ I-111; M-1 ~ V-110; M-1 ~ L-109; M-1 ~ A-
 108; M-1 ~ V-107; M-1 ~ S-106; M-1 ~ G-105; M-1 ~ R-104; M-1 ~ N-103; M-1 ~ I-
 102; M-1 ~ D-101; M-1 ~ K-100; M-1 ~ S-99; M-1 ~ V-98; M-1 ~ F-97; M-1 ~ T-96; M-
 1 ~ I-95; M-1 ~ R-94; M-1 ~ G-93; M-1 ~ R-92; M-1 ~ Y-91; M-1 ~ E-90; M-1 ~ E-89;
 M-1 ~ M-88; M-1 ~ Q-87; M-1 ~ E-86; M-1 ~ E-85; M-1 ~ T-84; M-1 ~ R-83; M-1 ~ E-
 82; M-1 ~ R-81; M-1 ~ G-80; M-1 ~ G-79; M-1 ~ K-78; M-1 ~ Y-77; M-1 ~ V-76; M-1
 ~ F-75; M-1 ~ V-74; M-1 ~ A-73; M-1 ~ P-72; M-1 ~ S-71; M-1 ~ F-70; M-1 ~ Q-69;
 M-1 ~ S-68; M-1 ~ R-67; M-1 ~ F-66; M-1 ~ W-65; M-1 ~ R-64; M-1 ~ V-63; M-1 ~ E-
 62; M-1 ~ M-61; M-1 ~ D-60; M-1 ~ E-59; M-1 ~ A-58; M-1 ~ N-57; M-1 ~ K-56; M-1
 ~ E-55; M-1 ~ P-54; M-1 ~ S-53; M-1 ~ L-52; M-1 ~ H-51; M-1 ~ C-50; M-1 ~ R-49;
 M-1 ~ L-48; M-1 ~ T-47; M-1 ~ T-46; M-1 ~ N-45; M-1 ~ E-44; M-1 ~ G-43; M-1 ~ V-
 42; M-1 ~ M-41; M-1 ~ A-40; M-1 ~ L-39; M-1 ~ I-38; M-1 ~ P-37; M-1 ~ N-36; M-1 ~
 A-35; M-1 ~ P-34; M-1 ~ G-33; M-1 ~ V-32; M-1 ~ V-31; M-1 ~ T-30; M-1 ~ F-29; M-1
 ~ Q-28; M-1 ~ A-27; M-1 ~ S-26; M-1 ~ V-25; M-1 ~ L-24; M-1 ~ A-23; M-1 ~ C-22;
 M-1 ~ L-21; M-1 ~ S-20; M-1 ~ L-19; M-1 ~ L-18; M-1 ~ L-17; M-1 ~ L-16; M-1 ~ L-
 15; M-1 ~ S-14; M-1 ~ A-13; M-1 ~ P-12; M-1 ~ R-11; M-1 ~ S-10; M-1 ~ F-9; M-1 ~
 H-8; M-1 ~ L-7

10

20

30

。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドはまた、これらのポリペプチドの
 1つ以上に結合する抗体と同様に、本発明によって含まれる。さらに、これらのポリペプ
 チドのフラグメントおよび改変体（例えば、本明細書中で記載されるフラグメント、これ
 らのポリペプチドと少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98
 %、または99%同一なポリペプチド、およびストリンジェントな条件下で、これらのポリ
 ペプチドをコードするポリヌクレオチドにハイブリダイズするポリヌクレオチドによっ
 てコードされるポリペプチド、またはそれらの相補体）が、本発明によって含まれる。本
 発明のこれらのフラグメントおよび改変体に結合する抗体もまた、本発明によって含まれ
 る。これらのフラグメントおよび改変体をコードするポリヌクレオチドもまた本発明によ
 って含まれる。

40

【0133】

また、上記のように、タンパク質のC末端からの1つ以上のアミノ酸の欠失が、このタン
 パク質の1つ以上の生物学的機能（例えば、混合リンパ球反応を阻害する能力）の損失の
 改変を生じるとしても、他の機能的活性（例えば、生物学的活性、多量体化する能力、レ
 セプターに結合する能力、抗体を産生する能力、抗体に結合する能力）は、なお保持され

50

得る。例えば、ポリペプチドの完全な形態または成熟形態を認識する抗体を誘導するおよび/またはこの抗体に結合する、短縮型ポリペプチドの能力は、完全なポリペプチド、または成熟ポリペプチドの大部分より少ない残基が、C末端から除去される場合には、一般的に保持される。完全なポリペプチドのC末端残基を欠く特定のポリペプチドが、このような免疫原性活性を保持するか否かは、本明細書中に記載される慣用的な方法、およびそうでなければ当該分野において公知の他の方法によって容易に決定され得る。多数の欠失したC末端アミノ酸残基を有するポリペプチドは、いくつかの生物学的活性または免疫原性活性を保持し得るようである。実際に、6つと同じくらい少ないアミノ酸残基からなるペプチドは、しばしば免疫応答を惹起し得る。

【0134】

より詳細には、本発明は、B7-H11タンパク質(配列番号40)の成熟細胞外部分のN末端欠失の群から選択される配列番号17のアミノ酸配列を含むか、またはこれらからなるポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する：

【0135】

【化8】

F-29 ~ L-254; T-30 ~ L-254; V-31 ~ L-254; V-32 ~ L-254; G-33 ~ L-254; P-34 ~ L-254; A-35 ~ L-254; N-36 ~ L-254; P-37 ~ L-254; I-38 ~ L-254; L-39 ~ L-254; A-40 ~ L-254; M-41 ~ L-254; V-42 ~ L-254; G-43 ~ L-254; E-44 ~ L-254; N-45 ~ L-254; T-46 ~ L-254; T-47 ~ L-254; L-48 ~ L-254; R-49 ~ L-254; C-50 ~ L-254; H-51 ~ L-254; L-52 ~ L-254; S-53 ~ L-254; P-54 ~ L-254; E-55 ~ L-254; K-56 ~ L-254; N-57 ~ L-254; A-58 ~ L-254; E-59 ~ L-254; D-60 ~ L-254; M-61 ~ L-254; E-62 ~ L-254; V-63 ~ L-254; R-64 ~ L-254; W-65 ~ L-254; F-66 ~ L-254; R-67 ~ L-254; S-68 ~ L-254; Q-69 ~ L-254; F-70 ~ L-254; S-71 ~ L-254; P-72 ~ L-254; A-73 ~ L-254; V-74 ~ L-254; F-75 ~ L-254; V-76 ~

10

20

L-254; Y-77 ~ L-254; K-78 ~ L-254; G-79 ~ L-254; G-80 ~ L-254; R-81 ~ L-254; E-82 ~ L-254; R-83 ~ L-254; T-84 ~ L-254; E-85 ~ L-254; E-86 ~ L-254; Q-87 ~ L-254; M-88 ~ L-254; E-89 ~ L-254; E-90 ~ L-254; Y-91 ~ L-254; R-92 ~ L-254; G-93 ~ L-254; R-94 ~ L-254; I-95 ~ L-254; T-96 ~ L-254; F-97 ~ L-254; V-98 ~ L-254; S-99 ~ L-254; K-100 ~ L-254; D-101 ~ L-254; I-102 ~ L-254; N-103 ~ L-254; R-104 ~ L-254; G-105 ~ L-254; S-106 ~ L-254; V-107 ~ L-254; A-108 ~ L-254; L-109 ~ L-254; V-110 ~ L-254; I-111 ~ L-254; H-112 ~ L-254; N-113 ~ L-254; V-114 ~ L-254; T-115 ~ L-254; A-116 ~ L-254; Q-117 ~ L-254; E-118 ~ L-254; N-119 ~ L-254; G-120 ~ L-254; I-121 ~ L-254; Y-122 ~ L-254; R-123 ~ L-254; C-124 ~ L-254; Y-125 ~ L-254; F-126 ~ L-254; Q-127 ~ L-254; E-128 ~ L-254; G-129 ~ L-254; R-130 ~ L-254; S-131 ~ L-254; Y-132 ~ L-254; D-133 ~ L-254; E-134 ~ L-254; A-135 ~ L-254; I-136 ~ L-254; L-137 ~ L-254; R-138 ~ L-254; L-139 ~ L-254; V-140 ~ L-254; V-141 ~ L-254; A-142 ~ L-254; G-143 ~ L-254; L-144 ~ L-254; G-145 ~ L-254; S-146 ~ L-254; K-147 ~ L-254; P-148 ~ L-254; L-149 ~ L-254; I-150 ~ L-254; E-151 ~ L-254; I-152 ~ L-254; K-153 ~ L-254; A-154 ~ L-254; Q-155 ~ L-254; E-156 ~ L-254; D-157 ~ L-254; G-158 ~ L-254; S-159 ~ L-254; I-160 ~ L-254; W-161 ~ L-254; L-162 ~ L-254; E-163 ~ L-254; C-164 ~ L-254; I-165 ~ L-254; S-166 ~ L-254; G-167 ~ L-254; G-168 ~ L-254; W-169 ~ L-254; Y-170 ~ L-254; P-171 ~ L-254; E-172 ~ L-254; P-173 ~ L-254; L-174 ~ L-254; T-175 ~ L-254; V-176 ~ L-254; W-177 ~ L-254; R-178 ~ L-254; D-179 ~ L-254; P-180 ~ L-254; Y-181 ~ L-254; G-182 ~ L-254; E-183 ~ L-254; V-184 ~ L-254; V-185 ~ L-254; P-186 ~ L-254; A-187 ~ L-254; L-188 ~ L-254; K-189 ~ L-254; E-190 ~ L-254; V-191 ~ L-254; S-192 ~ L-254; I-193 ~ L-254; A-194 ~ L-254; D-195 ~ L-254; A-196 ~ L-254; D-197 ~ L-254; G-198 ~ L-254; L-199 ~ L-254; F-200 ~ L-254; M-201 ~ L-254; V-202 ~ L-254; T-203 ~ L-254; T-204 ~ L-254; A-205 ~ L-254; V-206 ~ L-254; I-207 ~ L-254; I-208 ~ L-254; R-209 ~ L-254; D-210 ~ L-254; K-211 ~ L-254; Y-212 ~ L-254; V-213 ~ L-254; R-214 ~ L-254; N-215 ~ L-254; V-216 ~ L-254; S-217 ~ L-254; C-218 ~ L-254; S-219 ~ L-254; V-220 ~ L-254; N-221 ~ L-254; N-222 ~ L-254; T-223 ~ L-254; L-224 ~ L-254; L-225 ~ L-254; G-226 ~ L-254; Q-227 ~ L-254; E-228 ~ L-254; K-229 ~ L-254; E-230 ~ L-254; T-231 ~ L-254; V-232 ~ L-254; I-233 ~ L-254; F-234 ~ L-254; I-235 ~ L-254; P-236 ~ L-254; E-237 ~ L-254; S-238 ~ L-254; F-239 ~ L-254; M-240 ~ L-254; P-241 ~ L-254; S-242 ~ L-254; A-243 ~ L-254; S-244 ~ L-254; P-245 ~ L-254; W-246 ~ L-254; M-247 ~ L-254; V-248 ~ L-254; A-249 ~ L-254

10

20

30

40

50

。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドはまた、これらのポリペプチドの1つ以上に結合する抗体と同様に、本発明によって含まれる。さらに、これらのポリペプチドのフラグメントおよび改変体（例えば、本明細書中で記載されるフラグメント、これらのポリペプチドと少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%同一なポリペプチド、およびストリンジェントな条件下で、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドにハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド、またはそれらの相補体）が、本発明によって含まれる。本発明のこれらのフラグメントおよび改変体に結合する抗体もまた、本発明によって含まれる。これらのフラグメントおよび改変体をコードするポリヌクレオチドもまた本発明によって含まれる。

【0136】

さらに、本発明は、B7-H11タンパク質（配列番号40）の成熟細胞外部分のC末端欠失の群から選択される配列番号17のアミノ酸配列を含むか、またはこれらからなるポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する：

【 0 1 3 7 】

【 化 9 】

Q-28 ~ I-253; Q-28 ~ V-252; Q-28 ~ A-251; Q-28 ~ L-250; Q-28 ~ A-249; Q-28 ~ V-248; Q-28 ~ M-247; Q-28 ~ W-246; Q-28 ~ P-245; Q-28 ~ S-244; Q-28 ~ A-243; Q-28 ~ S-242; Q-28 ~ P-241; Q-28 ~ M-240; Q-28 ~ F-239; Q-28 ~ S-238; Q-28 ~ E-237; Q-28 ~ P-236; Q-28 ~ I-235; Q-28 ~ F-234; Q-28 ~ I-233; Q-28 ~ V-232; Q-28 ~ T-231; Q-28 ~ E-230; Q-28 ~ K-229; Q-28 ~ E-228; Q-28 ~ Q-227; Q-28 ~ G-226; Q-28 ~ L-225; Q-28 ~ L-224; Q-28 ~ T-223; Q-28 ~ N-222; Q-28 ~ N-221; Q-28 ~ V-220; Q-28 ~ S-219; Q-28 ~ C-218; Q-28 ~ S-217; Q-28 ~ V-216; Q-28 ~ N-215; Q-28 ~ R-214; Q-28 ~ V-213; Q-28 ~ Y-212; Q-28 ~ K-211; Q-28 ~ D-210; Q-28 ~ R-209; Q-28 ~ I-208; Q-28 ~ I-207; Q-28 ~ V-206; Q-28 ~ A-205; Q-28 ~ T-204; Q-28 ~ T-203; Q-28 ~ V-202; Q-28 ~ M-201; Q-28 ~ F-200; Q-28 ~ L-199; Q-28 ~ G-198; Q-28 ~ D-197; Q-28 ~ A-196; Q-28 ~ D-195; Q-28 ~ A-194; Q-28 ~ I-193; Q-28 ~ S-192; Q-28 ~ V-191; Q-28 ~ E-190; Q-28 ~ K-189; Q-28 ~ L-188; Q-28 ~ A-187; Q-28 ~ P-186; Q-28 ~ V-185; Q-28 ~ V-184; Q-28 ~ E-183; Q-28 ~ G-182; Q-28 ~ Y-181; Q-28 ~ P-180; Q-28 ~ D-179; Q-28 ~ R-178; Q-28 ~ W-177; Q-28 ~ V-176; Q-28 ~ T-175; Q-28 ~ L-174; Q-28 ~ P-173; Q-28 ~ E-172; Q-28 ~ P-171; Q-28 ~ Y-170; Q-28 ~ W-169; Q-28 ~ G-168; Q-28 ~ G-167; Q-28 ~ S-166; Q-28 ~ I-165; Q-28 ~ C-164; Q-28 ~ E-163; Q-28 ~ L-162; Q-28 ~ W-161; Q-28 ~ I-160; Q-28 ~ S-159; Q-28 ~ G-158; Q-28 ~ D-157; Q-28 ~ E-156; Q-28 ~ Q-155; Q-28 ~ A-154; Q-28 ~ K-153; Q-28 ~ I-152; Q-28 ~ E-151; Q-28 ~ I-150; Q-28 ~ L-149; Q-28 ~ P-148; Q-28 ~ K-147; Q-28 ~ S-146; Q-28 ~ G-145; Q-28 ~ L-144; Q-28 ~ G-143; Q-28 ~ A-142; Q-28 ~ V-141; Q-28 ~ V-140; Q-28 ~ L-139; Q-28 ~ R-138; Q-28 ~

10

20

L-137; Q-28 ~ I-136; Q-28 ~ A-135; Q-28 ~ E-134; Q-28 ~ D-133; Q-28 ~ Y-132; Q-28 ~ S-131; Q-28 ~ R-130; Q-28 ~ G-129; Q-28 ~ E-128; Q-28 ~ Q-127; Q-28 ~ F-126; Q-28 ~ Y-125; Q-28 ~ C-124; Q-28 ~ R-123; Q-28 ~ Y-122; Q-28 ~ I-121; Q-28 ~ G-120; Q-28 ~ N-119; Q-28 ~ E-118; Q-28 ~ Q-117; Q-28 ~ A-116; Q-28 ~ T-115; Q-28 ~ V-114; Q-28 ~ N-113; Q-28 ~ H-112; Q-28 ~ I-111; Q-28 ~ V-110; Q-28 ~ L-109; Q-28 to A-108; Q-28 ~ V-107; Q-28 ~ S-106; Q-28 ~ G-105; Q-28 ~ R-104; Q-28 ~ N-103; Q-28 ~ I-102; Q-28 ~ D-101; Q-28 ~ K-100; Q-28 ~ S-99; Q-28 ~ V-98; Q-28 ~ F-97; Q-28 ~ T-96; Q-28 ~ I-95; Q-28 ~ R-94; Q-28 ~ G-93; Q-28 ~ R-92; Q-28 ~ Y-91; Q-28 ~ E-90; Q-28 ~ E-89; Q-28 ~ M-88; Q-28 ~ Q-87; Q-28 ~ E-86; Q-28 ~ E-85; Q-28 ~ T-84; Q-28 ~ R-83; Q-28 ~ E-82; Q-28 ~ R-81; Q-28 ~ G-80; Q-28 ~ G-79; Q-28 ~ K-78; Q-28 ~ Y-77; Q-28 ~ V-76; Q-28 ~ F-75; Q-28 ~ V-74; Q-28 ~ A-73; Q-28 ~ P-72; Q-28 ~ S-71; Q-28 ~ F-70; Q-28 ~ Q-69; Q-28 ~ S-68; Q-28 ~ R-67; Q-28 ~ F-66; Q-28 ~ W-65; Q-28 ~ R-64; Q-28 ~ V-63; Q-28 ~ E-62; Q-28 ~ M-61; Q-28 ~ D-60; Q-28 ~ E-59; Q-28 ~ A-58; Q-28 ~ N-57; Q-28 ~ K-56; Q-28 ~ E-55; Q-28 ~ P-54; Q-28 ~ S-53; Q-28 ~ L-52; Q-28 ~ H-51; Q-28 ~ C-50; Q-28 ~ R-49; Q-28 ~ L-48; Q-28 ~ T-47; Q-28 ~ T-46; Q-28 ~ N-45; Q-28 ~ E-44; Q-28 ~ G-43; Q-28 ~ V-42; Q-28 ~ M-41; Q-28 ~ A-40; Q-28 ~ L-39; Q-28 ~ I-38; Q-28 ~ P-37; Q-28 ~ N-36; Q-28 ~ A-35; ~~Q-28 ~ P-34~~

30

40

。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドはまた、これらのポリペプチドの1つ以上に結合する抗体と同様に、本発明によって含まれる。さらに、これらのポリペプチドのフラグメントおよび改変体（例えば、本明細書中で記載されるフラグメント、これ

50

らのポリペプチドと少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%同一なポリペプチド、およびストリンジентな条件下で、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドにハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド、またはそれらの相補体)が、本発明によって含まれる。本発明のこれらのフラグメントおよび改変体に結合する抗体もまた、本発明によって含まれる。これらのフラグメントおよび改変体をコードするポリヌクレオチドもまた本発明によって含まれる。

【0138】

さらに、上記のN末端またはC末端の欠失のいずれかを組み合わせて、N末端およびC末端欠失型ポリペプチドを産生し得る。本発明はまた、アミノ末端およびカルボキシ末端の両方から1つ以上の欠失したアミノ酸を含むか、またはこれらからなるポリペプチドを提供する。このポリペプチドは、一般的に、配列番号17の残基m-nを有する場合に記載され得、ここでnおよびmは、上記のような整数である。これらのポリヌクレオチドのフラグメントおよび/または改変体(例えば、本明細書中で記載されるようなフラグメントおよび/または改変体のような)はまた、本発明によって含まれる。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチド(フラグメントおよび/または改変体を含む)もまた、これらのポリペプチドに結合する抗体と同様に、本発明に含まれる。

10

【0139】

本発明はまた、本明細書中にm-nとして示されるポリペプチド配列に、少なくとも80%、85%、90%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であるポリペプチドを含むタンパク質に関する。好ましい実施形態において、本願は、本明細書中に示されるアミノ酸配列の特定のN末端およびC末端欠失を有するポリペプチドに、少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であるポリペプチドを含むタンパク質に関する。これらのポリペプチドのフラグメントおよび/または改変体(例えば、本明細書中に記載されるフラグメントおよび/または改変体のような)は、本発明によって含まれる。これらのポリペプチド(フラグメントおよび/または改変体を含む)をコードするポリヌクレオチドはまた、これらのポリペプチドを結合する抗体と同様に、本発明によって含まれる。

20

【0140】

A T C C 寄託番号 P T A - 2 3 3 2 に含まれる c D N A クローンによってコードされる完全アミノ酸配列の部分からなるポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列もまた含まれる。ここで、この部分は、A T C C 寄託番号 P T A - 2 3 3 2 に含まれる c D N A クローンによってコードされる完全アミノ酸配列のアミノ末端から1~約448アミノ酸の任意の整数のアミノ酸残基、あるいはA T C C 寄託番号 P T A - 2 3 3 2 に含まれる c D N A クローンによってコードされる完全アミノ酸配列の、カルボキシ末端から1~448アミノ酸の任意の整数のアミノ酸残基、または上記アミノ末端およびカルボキシ末端欠失の任意の組み合わせ、を除外する。これらのポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドもまた、本発明によって含まれる。

30

【0141】

本明細書中に記載されるか、またはそうでなければ当該分野で公知のように、本発明のポリヌクレオチドは、染色体同定、染色体マッピング、および連鎖解析におけるプローブまたはプライマーとしての利用を含むがこれらに限定されない用途を有する。

40

【0142】

この遺伝子は、樹状細胞、T細胞、活性化T細胞、T細胞リンパ腫、およびホジキンリンパ腫において発現されることが発見されている。

【0143】

この遺伝子に対応するポリヌクレオチド、翻訳産物および抗体は、生物学的サンプル中に存在する免疫系組織または細胞型の示差的同定のためならびに免疫系活性化、刺激、および/または監視に参与し、樹状細胞、好中球、および白血球のような他の免疫系細胞に加えて、特にT細胞に参与する疾患および/または障害を含むがこれらに限定されない疾患

50

および状態の診断のための試薬として有用である。同様に、ポリペプチドおよびこれらのポリペプチドに対する抗体は、組織または細胞型の示差的同定のための免疫学的プローブを提供することに有用である。B7-H11タンパク質の活性のアンタゴニストとして作用するこのタンパク質の細胞外部分に対する抗体の使用が、特に意図される。このようなアンタゴニスト抗体は、本明細書中に開示されるように、このような生物学的活性（例えば、T細胞調節活性）の予防および/または阻害に有用である。

【0144】

上記組織または細胞の多くの障害、特に免疫系の多くの障害について、標準的な遺伝子発現レベル、すなわち、障害を有さない個体由来の健常組織または体液の発現レベルに対して有意により高いまたはより低いレベルのこの遺伝子の発現が、このような障害を有する個体から採取された特定の組織または細胞型（例えば、免疫組織、癌性組織、および創傷組織）または体液（例えば、リンパ、血清、血漿、尿、滑液および髄液）または別の組織もしくは細胞サンプルで慣用的に検出され得る。

10

【0145】

免疫細胞（例えば、T細胞、樹状細胞）における組織分布、およびB7ファミリーのリガンドのメンバーに対する相同性は、この遺伝子に対応するポリヌクレオチド、翻訳産物および抗体が、免疫系活性化、刺激、および/または監視を含む疾患および/または障害（特にT細胞、好中球、樹状細胞、白血球、および他の免疫系細胞に関連する）の診断、検出および/または処置に有用であることを示す。特に、B7-H11遺伝子の翻訳産物は、ICOSに結合するT細胞の同時刺激に関与し得、そして/または例えば、特定のサイトカインの発現の調節において役割を果たし得る。

20

【0146】

より一般的には、免疫系細胞における組織分布は、この遺伝子産物が、サイトカイン生成、抗原提示、または癌の処置における有用性をまた示唆し得る（例えば、免疫応答をブーストすることによって）他のプロセスの調節に関与し得ることを示す。この遺伝子は、免疫系起源の細胞において発現されるので、この遺伝子に対応するポリヌクレオチド、翻訳産物および抗体は、上記列挙された組織についての腫瘍マーカーおよび/または免疫療法の標的としての有用性を示し得る。

【0147】

この遺伝子に対応するポリヌクレオチド、翻訳産物および抗体はまた、関節炎、喘息、AIDSのような免疫不全疾患、白血病、慢性関節リウマチ、炎症性腸疾患、敗血症、挫傷、および乾癬を含む免疫学的障害のための薬剤として有用であり得る。さらに、この遺伝子産物は、幹細胞および種々の血液系統の運命付けられた前駆体の拡大、ならびに種々の細胞型の分化および/または増殖において商業的有用性を有し得る。さらに、この遺伝子に対応するポリヌクレオチド、翻訳産物および抗体は、上記列挙された組織の腫瘍マーカーおよび/または免疫療法の標的としての有用性を示し得る。さらに、このタンパク質はまた、栄養補助剤としてのその使用に加えて、生物学的活性を決定するため、抗体を惹起するため、組織マーカーとして、同族リガンドまたはレセプターを単離するため、これらの相互作用を調節する薬剤を同定するために使用され得る。

30

【0148】

（配列番号5によってコードされるタンパク質の特徴）

本願の目的のための、この遺伝子およびその対応する翻訳産物は、B7-H10遺伝子およびB7-H10タンパク質として知られている。このタンパク質は、細胞表面分子として存在すると考えられており、そしてこのタンパク質の膜貫通ドメインは、以下の好ましいアミノ酸残基：GPTGARLTLLVLA LTVILELT（配列番号42）をおよそ統合すると考えられている。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドはまた、これらのポリペプチドの1つ以上に結合する抗体と同様に、本発明によって含まれる。さらに、これらのポリペプチドのフラグメントおよび改変体（例えば、本明細書中で記載されるフラグメント、これらのポリペプチドと少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%同一なポリペプチド、およびストリンジェン

40

50

トな条件下で、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドにハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド、またはそれらの相補体)が、本発明によって含まれる。本発明のこれらのフラグメントおよび改変体に結合する抗体もまた、本発明によって含まれる。これらのフラグメントおよび改変体をコードするポリヌクレオチドもまた本発明によって含まれる。当業者が理解するように、膜貫通ドメインは、コンピューター分析を使用して推定され、そしてこの膜貫通ドメインは、推定膜貫通ドメインのN末端およびC末端から、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、および/または10個のアミノ酸まで変化し得る。

【0149】

B7-H10遺伝子は、B7ファミリーのメンバーのリガンドと配列相同性を共有する。これらのタンパク質およびこれらの対応するレセプターは、T細胞の増殖、分化、活性化、増殖および死亡において重要な役割を果たす。例えば、このファミリーのいくつかのメンバー(すなわち、B7-H1)は、T細胞応答の同時刺激および増加したサイトカイン生成の誘導に参与しているが、他のファミリーメンバーは、T細胞応答の負の調節に参与している。従って、B7-H10遺伝子に対して指向された抗体および低分子のようなアゴニストおよびアンタゴニストは、T細胞媒介免疫系障害を処置するのに有用である。

10

【0150】

本発明の好ましいポリペプチドは、以下の残基：Glu-34~Asp-41、Ser-56~Tyr-61、Pro-152~Phe-159、Asp-166~Lys-174、Ala-181~Asp-200、Tyr-232~Gly-244、およびPro-381~Ser-393のような配列番号18に示されるB7-H10タンパク質の細胞外部分の1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、または7個全ての免疫原性エピトープを含むか、またはこれからなる。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドはまた、これらのポリペプチドの1つ以上に結合する抗体と同様に、本発明によって含まれる。さらに、これらのポリペプチドのフラグメントおよび改変体(例えば、本明細書中で記載されるフラグメント、これらのポリペプチドと少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%同一なポリペプチド、およびストリンジентな条件下で、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドにハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド、またはそれらの相補体)が、本発明によって含まれる。本発明のこれらのフラグメントおよび改変体に結合する抗体もまた、本発明によって含まれる。これらのフラグメントおよび改変体をコードするポリヌクレオチドもまた本発明によって含まれる。

20

30

【0151】

さらなる非排他的な実施形態において、本発明のポリペプチドは、以下のアミノ酸を含むか、またはこれからなる：

B7-H10タンパク質の細胞外ドメイン：

【0152】

【化10】

```
MREIVWYRVTDGGTIKQKIFTFDAMFSTNYSHMENYRKREDLVYQSTVRLPEVRISD
NGPYECHVGIYDRATREKVVLASGNFLNVMAPPTSIEVVAADTPAPFSRYQAQNF
LVCIIVSGGKPAVMVYFKRDGEPIDAVPLSEPPAASSGPLQDSRPFRLHRLDDTKM
QKSLSLDAENRGGRPYTERPSRGLTPDPNILLQPTTENPETVVSREFPRWVHSAEPT
YFLRHSRTPSSDGTVEVRALLTWILNPDNEALFSCEVKHPALSMPMQAEVTLVAP
KGPKIVMTPSRARVGDVTRILVHGFQNEVFPEPMFTWTRVGSRLLDGSAEFDGKELV
LERVPAELNGSMYRCTAQNPLGSTDHTRLIVFENPNIPRGTEDSNGSI
```

40

(配列番号43)。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドは、これらのポリペプチドの1つ以上に結合する抗体と同様に、本発明によって含まれる。さらに、これ

50

らのポリペプチドのフラグメントおよび改変体（例えば、本明細書中で記載されるフラグメント、これらのポリペプチドと少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%同一なポリペプチド、およびストリンジェントな条件下で、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドにハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド、またはそれらの相補体）が、本発明によって含まれる。本発明のこれらのフラグメントおよび改変体に結合する抗体もまた、本発明によって含まれる。これらのフラグメントおよび改変体をコードするポリヌクレオチドもまた本発明によって含まれる。

【0153】

機能的活性を示すB7-H10タンパク質（配列番号43）の細胞外部分のフラグメントを含むか、またはこれらからなるポリペプチドもまた好ましい。このようなポリペプチドのフラグメントおよび/または改変体（例えば、本明細書中に記載されるようなフラグメントおよび/または改変体）は、本発明によって含まれる。これらのポリペプチド（フラグメントおよび/または改変体を含む）をコードするポリヌクレオチドはまた、これらのポリペプチドに結合する抗体と同様に、本発明によって含まれる。

【0154】

機能的活性とは、全長（完全）B7-H10タンパク質に関連する1つ以上の公知の機能的活性を示し得るポリペプチドフラグメントを意味する。このような機能的活性としては、生物学的活性（例えば、T細胞同時刺激活性、ICOS、CD28またはCTLA4を結合する能力、およびサイトカイン生成を誘導または阻害する能力）、抗原性〔抗B7-H10抗体に結合する（かまたは結合についてB7-H10ポリペプチドと競合する）能力〕、免疫原性（B7-H10ポリペプチドに結合する抗体を生成する能力、本発明のB7-H10ポリペプチドと多量体を形成する能力、およびB7-H10ポリペプチドのレセプターに結合する能力）が挙げられるが、これらに限定されない。

【0155】

図9A~Bは、この遺伝子に対応するヌクレオチド配列（配列番号6）および推定アミノ酸配列（配列番号18）を示す。図10は、アミノ酸配列（配列番号18）の分析を示す。領域、領域、ターン領域およびコイル領域：親水性および疎水性；両親媒性領域；可撓性領域；抗原性指標および表面確率が示され、そして全てが記載されたコンピュータアルゴリズムのデフォルト設定を使用して作製された。「抗原性指標またはJameson-Wolf」グラフにおいて、正のピークは、タンパク質の高度に抗原性の位置（すなわち、本発明のエピトープ保有ペプチドが得られ得る領域）を示す。これらのグラフによって定義されるドメインを含むか、またはこれらからなるポリペプチドは、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドと同様に、本発明によって意図される。図10に示されるデータはまた、表7において表形態で示される。列は、見出し「残基」、「位置」、およびローマ数字I~XIVを用いて標識した。この列の見出しは、図10および表7に示されるアミノ酸配列の特徴についていう：「残基」：配列番号18および図9A~Bのアミノ酸残基；「位置」：配列番号18および図9A~B内の対応する残基の位置；I：領域-Garnier-Robson；II：領域-Chou-Fasman；III：領域-Garnier-Robson；IV：領域-Chou-Fasman；V：ターン領域-Garnier-Robson；VI：ターン領域-Chou-Fasman；VII：コイル領域-Garnier-Robson；VIII；親水性プロット-Kyte-Doolittle；IX：疎水性プロット-Hopp-Woods；X：両親媒性領域-Eisenberg；XI：両親媒性領域-Eisenberg；XII：可撓性領域-Karplus-Schulz；XIII：抗原性指標-Jameson-Wolf；およびXIV：表面確率プロット-Emini。この点に関する本発明の好ましい実施形態としては、以下の領域の1つ以上を含むか、またはこれらからなるフラグメントを含む：ヘリックスおよびヘリックス形成領域（「領域」）、シートおよびシート形成領域（「領域」）、ターンおよびターン形成領域（「ターン領域」）、コイルおよびコイル形成領域（「コイル領域」）、親水性領域、疎水性領域、

親媒性領域、親媒性領域、可撓性領域、表面形成領域および高抗原性指標領域。上記のように、図10および/または表7に示されるタンパク質の構造的または機能的特性を示すデータは、デフォルトパラメーターについて設定されたDNA*STARの種々のモジュールおよびアルゴリズムを使用して作製された。好ましい実施形態において、表7の列VII、IX、XIIIおよびXIVにおいて示されるデータは、抗原性について高度な可能性を示すタンパク質の領域を決定するために使用され得る。高抗原性の領域は、抗原認識が免疫応答の開始のプロセスにおいて生じ得る環境で、ポリペプチドの表面に曝露されるようであるポリペプチドの領域を示す値を選択することによって、列VII、IX、XIII、および/またはXIVにおいて示されるデータから決定される。これらの点における特定の好ましい領域は、図10に示されるが、表7においても示され得るよう
10
に、図10において示されるデータの表の提示を使用して例示または同定され得る。図10を作製するために使用されたDNA*STARコンピュータアルゴリズム(本来のデフォルトパラメーターに関して設定される)は、表の形式で、図10においてデータを提示するために使用された(表7を参照のこと)。図10におけるデータの表の形式(表7を参照のこと)は、好ましい領域の特定の境界を容易に決定するために使用される。

【0156】

本発明はさらに、本明細書中に記載されるポリヌクレオチド配列のフラグメントに関する。例えば、寄託されたcDNAのポリヌクレオチド配列または配列番号6に示されるヌクレオチド配列のフラグメントは、少なくとも約15nt、そしてより好ましくは少なくとも約20nt、少なくとも約25nt、さらにより好ましくは少なくとも約30nt、少
20
なくとも約35nt、そしてなおより好ましくは少なくとも約40nt長、少なくとも約45nt長、少なくとも約50nt長、少なくとも約60nt長、少なくとも約70nt長、少なくとも約80nt長、少なくとも約90nt長、少なくとも約100nt長、少なくとも約125nt長、少なくとも約150nt長、少なくとも約175nt長のポリヌクレオチドフラグメントを意図する。これらのフラグメントは、本明細書中に議論されるような診断プローブおよびプライマーとして有用である。もちろん、200~1500nt長のより大きいフラグメントはまた、全てではないが、寄託されたcDNAまたは配列番号6に示されるようなヌクレオチド配列のほとんどに対応するフラグメントであるので本発明に従って有用である。例えば、少なくとも20nt長のフラグメントは、寄託されたcDNAのヌクレオチド配列または配列番号6に示されるようなヌクレオチド配列由
30
来の20以上連続する塩基を含むフラグメントを意図する。この文脈において、「おおよそ(約)」は、いずれかの末端または両方の末端において、特に示されたサイズ、数個(5、4、3、2、または1)のヌクレオチドだけ大きいか、または小さなサイズを含む。本発明のポリヌクレオチドフラグメントの代表例としては、例えば、配列番号6、もしくはそれに対する相補鎖、または寄託されたクローンにおいて含まれるcDNAの約ヌクレオチド1~約50、約51~約100、約101~約150、約151~約200、約201~約250、約251~約300、約301~約350、約351~約400、約401~約450、約451~約500、約501~約550、約551~約600、約601~約650、約651~約700、約701~約750、約751~約800、約801~約860の配列を含むか、またはこれらからなるフラグメントを含む。この文脈に
40
おいて、「おおよそ(約)」は、特に記載された範囲、およびいずれかの末端もしくは両方の末端において、これより数個(5、4、3、2、または1)のヌクレオチドだけ大きいか、または小さな範囲を含む。さらなる実施形態において、本発明のポリヌクレオチドは、対応するタンパク質の機能的特性をコードする。

【0157】

本発明の好ましいポリペプチドフラグメントは、アミノ末端もしくはカルボキシ末端またはその両方から連続した一連の残基が欠失した分泌タンパク質を含むかまたはこれからなる。特に、ポリペプチドのN末端欠失は、一般式 $m-414$ によって記載され得、ここで、 m は2~409の整数であり、ここで、 m は配列番号18において同定されるアミノ酸残基の位置に対応する。より詳細には、本発明は、以下の群から選択される配列番号18
50

のアミノ酸配列を含むかまたはこれらからなるポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する：

【 0 1 5 8 】

【 化 1 1 】

R-2 ~T-414; E-

3 ~T-414; I-4 ~T-414; V-5 ~T-414; W-6 ~T-414; Y-7 ~T-414; R-8 ~T-414; V-9 ~T-414; T-10 ~T-414; D-11 ~T-414; G-12 ~T-414; G-13 ~T-414; T-14 ~T-414; I-15 ~T-414; K-16 ~T-414; Q-17 ~T-414; K-18 ~T-414; I-19 ~T-414; F-20 ~T-414; T-21 ~T-

10

414; F-22 ~T-414; D-23 ~T-414; A-24 ~T-414; M-25 ~T-414; F-26 ~T-414; S-27 ~T-414; T-28 ~T-414; N-29 ~T-414; Y-30 ~T-414; S-31 ~T-414; H-32 ~T-414; M-33 ~T-414; E-34 ~T-414; N-35 ~T-414; Y-36 ~T-414; R-37 ~T-414; K-38 ~T-414; R-39 ~T-414; E-40 ~T-414; D-41 ~T-414; L-42 ~T-414; V-43 ~T-414; Y-44 ~T-414; Q-45 ~T-414; S-46 ~T-414; T-47 ~T-414; V-48 ~T-414; R-49 ~T-414; L-50 ~T-414; P-51 ~T-414; E-52 ~T-414; V-53 ~T-414; R-54 ~T-414; I-55 ~T-414; S-56 ~T-414; D-57 ~T-414; N-58 ~T-414; G-59 ~T-414; P-60 ~T-414; Y-61 ~T-414; E-62 ~T-414; C-63 ~T-414; H-64 ~T-414; V-65 ~T-414; G-66 ~T-414; I-67 ~T-414; Y-68 ~T-414; D-69 ~T-414; R-70 ~T-414; A-71 ~T-414; T-72 ~T-414; R-73 ~T-414; E-74 ~T-414; K-75 ~T-414; V-76 ~T-414; V-77 ~T-414; L-78 ~T-414; A-79 ~T-414; S-80 ~T-414; G-81 ~T-414; N-82 ~T-414; I-83 ~T-414; F-84 ~T-414; L-85 ~T-414; N-86 ~T-414; V-87 ~T-414; M-88 ~T-414; A-89 ~T-414; P-90 ~T-414; P-91 ~T-414; T-92 ~T-414; S-93 ~T-414; I-94 ~T-414; E-95 ~T-414; V-96 ~T-414; V-97 ~T-414; A-98 ~T-414; A-99 ~T-414; D-100 ~T-414; T-101 ~T-414; P-102 ~T-414; A-103 ~T-414; P-104 ~T-414; F-105 ~T-414; S-106 ~T-414; R-107 ~T-414; Y-108 ~T-414; Q-109 ~T-414; A-110 ~T-414; Q-111 ~T-414; N-112 ~T-414; F-113 ~T-414; T-114 ~T-414; L-115 ~T-414; V-116 ~T-414; C-117 ~T-414; I-118 ~T-414; V-119 ~T-414; S-120 ~T-414; G-121 ~T-414; G-122 ~T-414; K-123 ~T-414; P-124 ~T-414; A-125 ~T-414; P-126 ~T-414; M-127 ~T-414; V-128 ~T-414; Y-129 ~T-414; F-130 ~T-414; K-131 ~T-414; R-132 ~T-414; D-133 ~T-414; G-134 ~T-414; E-135 ~T-414; P-136 ~T-414; I-137 ~T-414; D-138 ~T-414; A-139 ~T-414; V-140 ~T-414; P-141 ~T-414; L-142 ~T-414; S-143 ~T-414; E-144 ~T-414; P-145 ~T-414; P-146 ~T-414; A-147 ~T-414; A-148 ~T-414; S-149 ~T-414; S-150 ~T-414; G-151 ~T-414; P-152 ~T-414; L-153 ~T-414; Q-154 ~T-414; D-155 ~T-414; S-156 ~T-414; R-157 ~T-414; P-158 ~T-414; F-159 ~T-414; R-160 ~T-414; S-161 ~T-414; L-162 ~T-414; L-163 ~T-414; H-164 ~T-414; R-165 ~T-414; D-166 ~T-414; L-167 ~T-414; D-168 ~T-414; D-169 ~T-414; T-170 ~T-414; K-171 ~T-414; M-172 ~T-414; Q-173 ~T-414; K-174 ~T-414; S-175 ~T-414; L-176 ~T-414; S-177 ~T-414; L-178 ~T-414; L-179 ~T-414; D-180 ~T-414; A-181 ~T-414; E-182 ~T-414; N-183 ~T-414; R-184 ~T-414; G-185 ~T-414; G-186 ~T-414; R-187 ~T-414; P-188 ~T-414; Y-189 ~T-414; T-190 ~T-414; E-191 ~T-414; R-192 ~T-414; P-193 ~T-414; S-194 ~T-414; R-195 ~T-414; G-196 ~T-414; L-197 ~T-414; T-198 ~T-414; P-199 ~T-414; D-200 ~T-414; P-201 ~T-414; N-202 ~T-414; I-203 ~T-414; L-

20

30

40

204 ~ T-414; L-205 ~ T-414; Q-206 ~ T-414; P-207 ~ T-414; T-208 ~ T-414; T-209 ~ T-414; E-210 ~ T-414; N-211 ~ T-414; I-212 ~ T-414; P-213 ~ T-414; E-214 ~ T-414; T-215 ~ T-414; V-216 ~ T-414; V-217 ~ T-414; S-218 ~ T-414; R-219 ~ T-414; E-220 ~ T-414; F-221 ~ T-414; P-222 ~ T-414; R-223 ~ T-414; W-224 ~ T-414; V-225 ~ T-414; H-226 ~ T-414; S-227 ~ T-414; A-228 ~ T-414; E-229 ~ T-414; P-230 ~ T-414; T-231 ~ T-414; Y-232 ~ T-414; F-233 ~ T-414; L-234 ~ T-414; R-235 ~ T-414; H-236 ~ T-414; S-237 ~ T-414; R-238 ~ T-414; T-239 ~ T-414; P-240 ~ T-414; S-241 ~ T-414; S-242 ~ T-414; D-243 ~ T-414; G-244 ~ T-414; T-245 ~ T-414; V-246 ~ T-414; E-247 ~ T-414; V-248 ~ T-414; R-249 ~ T-414; A-250 ~ T-414; L-251 ~ T-414; L-252 ~ T-414; T-253 ~ T-414; W-254 ~ T-414; T-255 ~ T-414; L-256 ~ T-414; N-257 ~ T-414; P-258 ~ T-414; Q-259 ~ T-414; I-260 ~ T-414; D-261 ~ T-414; N-262 ~ T-414; E-263 ~ T-414; A-264 ~ T-414; L-265 ~ T-414; F-266 ~ T-414; S-267 ~ T-414; C-268 ~ T-414; E-269 ~ T-414; V-270 ~ T-414; K-271 ~ T-414; H-272 ~ T-414; P-273 ~ T-414; A-274 ~ T-414; L-275 ~ T-414; S-276 ~ T-414; M-277 ~ T-414; P-278 ~ T-414; M-279 ~ T-414; Q-280 ~ T-414; A-281 ~ T-414; E-282 ~ T-414; V-283 ~ T-414; T-284 ~ T-414; L-285 ~ T-414; V-286 ~ T-414; A-287 ~ T-414; P-288 ~ T-414; K-289 ~ T-414; G-290 ~ T-414; P-291 ~ T-414; K-292 ~ T-414; I-293 ~ T-414; V-294 ~ T-414; M-295 ~ T-414; T-296 ~ T-414; P-297 ~ T-414; S-298 ~ T-414; R-299 ~ T-414; A-300 ~ T-414; R-301 ~ T-414; V-302 ~ T-414; G-303 ~ T-414; D-304 ~ T-414; T-305 ~ T-414; V-306 ~ T-414; R-307 ~ T-414; I-308 ~ T-414; L-309 ~ T-414; V-310 ~ T-414; H-311 ~ T-414; G-312 ~ T-414; F-313 ~ T-414; Q-314 ~ T-414; N-315 ~ T-414; E-316 ~ T-414; V-317 ~ T-414; F-318 ~ T-414; P-319 ~ T-414; E-320 ~ T-414; P-321 ~ T-414; M-322 ~ T-414; F-323 ~ T-414; T-324 ~ T-414; W-325 ~ T-414; T-326 ~ T-414; R-327 ~ T-414; V-328 ~ T-414; G-329 ~ T-414; S-330 ~ T-414; R-331 ~ T-414; L-332 ~ T-414; L-333 ~ T-414; D-334 ~ T-414; G-335 ~ T-414; S-336 ~ T-414; A-337 ~ T-414; E-338 ~ T-414; F-339 ~ T-414; D-340 ~ T-414; G-341 ~ T-414; K-342 ~ T-414; E-343 ~ T-414; L-344 ~ T-414; V-345 ~ T-414; L-346 ~ T-414; E-347 ~ T-414; R-348 ~ T-414; V-349 ~ T-414; P-350 ~ T-414; A-351 ~ T-414; E-352 ~ T-414; L-353 ~ T-414; N-354 ~ T-414; G-355 ~ T-414; S-356 ~ T-414; M-357 ~ T-414; Y-358 ~ T-414; R-359 ~ T-414; C-360 ~ T-414; T-361 ~ T-414; A-362 ~ T-414; Q-363 ~ T-414; N-364 ~ T-414; P-365 ~ T-414; L-366 ~ T-414; G-367 ~ T-414; S-368 ~ T-414; T-369 ~ T-414; D-370 ~ T-414; T-371 ~ T-414; H-372 ~ T-414; T-373 ~ T-414; R-374 ~ T-414; L-375 ~ T-414; I-376 ~ T-414; V-377 ~ T-414; F-378 ~ T-414; E-379 ~ T-414; N-

10

20

30

380 ~ T-414; P-381 ~ T-414; N-382 ~ T-414; I-383 ~ T-414; P-384 ~ T-414; R-385 ~ T-414; G-386 ~ T-414; T-387 ~ T-414; E-388 ~ T-414; D-389 ~ T-414; S-390 ~ T-414; N-391 ~ T-414; G-392 ~ T-414; S-393 ~ T-414; I-394 ~ T-414; G-395 ~ T-414; P-396 ~ T-414; T-397 ~ T-414; G-398 ~ T-414; A-399 ~ T-414; R-400 ~ T-414; L-401 ~ T-414; T-402 ~ T-414; L-403 ~ T-414; V-404 ~ T-414; L-405 ~ T-414; A-406 ~ T-414; L-407 ~ T-414; T-408 ~ T-414; V-409 ~ T-414

40

。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドは、これらのポリペプチドの1つ以上に結合する抗体と同様に、本発明によって含まれる。さらに、これらのポリペプチドのフラグメントおよび改変体（例えば、本明細書中で記載されるフラグメント、これらの

50

ポリペプチドと少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%同一なポリペプチド、およびストリンジентな条件下で、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドにハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド、またはそれらの相補体)が、本発明によって含まれる。本発明のこれらのフラグメントおよび改変体に結合する抗体もまた、本発明によって含まれる。これらのフラグメントおよび改変体をコードするポリヌクレオチドもまた本発明によって含まれる。

【0159】

従って、本発明は、一般式1-nによって記載されるような、図9A~B(配列番号18)において示されるようなポリペプチドのアミノ酸配列のカルボキシ末端からの1つ以上の残基を欠失するポリペプチドをさらに提供する。ここで、nは、7~413の任意の整数であり、ここでnは、配列番号18において同定されるアミノ酸残基の位置に対応する。さらに、本発明は、以下のC末端欠失の群から選択される配列番号18のアミノ酸配列を含むか、これらからなるポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する：

10

【0160】

【化12】

M-1~L-413; M-1~E-412; M-1

~L-411; M-1~I-410; M-1~V-409; M-1~T-408; M-1~L-407; M-1~A-406; M-1~L-405; M-1~V-404; M-1~L-403; M-1~T-402; M-1~L-401; M-1~R-400; M-1~A-399; M-1~G-398; M-1~T-397; M-1~P-396; M-1~G-395; M-1~I-394; M-1~S-393; M-1~G-392; M-1~N-391; M-1~S-390; M-1~D-389; M-1~E-388; M-1~T-387; M-1~G-386; M-1~R-385; M-1~P-384; M-1~I-383; M-1~N-382; M-1~P-381; M-1~N-380; M-1~E-379; M-1~F-378; M-1~V-377; M-1~I-376; M-1~L-375; M-1~R-374; M-1~T-373; M-1~H-372; M-1~T-371; M-1~D-370; M-1~T-369; M-1~S-368; M-1~G-367; M-1~L-366; M-1~P-365; M-1~N-364; M-1~Q-363; M-1~A-362; M-1~T-361; M-1~C-360; M-1~R-359; M-1~Y-358; M-1~M-357; M-1~S-356; M-1~G-355; M-1~N-354; M-1~L-353; M-1~E-352; M-1~A-351; M-1~P-

20

30

350; M-1 ~ V-349; M-1 ~ R-348; M-1 ~ E-347; M-1 ~ L-346; M-1 ~ V-345; M-1 ~ L-344; M-1 ~ E-343; M-1 ~ K-342; M-1 ~ G-341; M-1 ~ D-340; M-1 ~ F-339; M-1 ~ E-338; M-1 ~ A-337; M-1 ~ S-336; M-1 ~ G-335; M-1 ~ D-334; M-1 ~ L-333; M-1 ~ L-332; M-1 ~ R-331; M-1 ~ S-330; M-1 ~ G-329; M-1 ~ V-328; M-1 ~ R-327; M-1 ~ T-326; M-1 ~ W-325; M-1 ~ T-324; M-1 ~ F-323; M-1 ~ M-322; M-1 ~ P-321; M-1 ~ E-320; M-1 ~ P-319; M-1 ~ F-318; M-1 ~ V-317; M-1 ~ E-316; M-1 ~ N-315; M-1 ~ Q-314; M-1 ~ F-313; M-1 ~ G-312; M-1 ~ H-311; M-1 ~ V-310; M-1 ~ L-309; M-1 ~ I-308; M-1 ~ R-307; M-1 ~ V-306; M-1 ~ T-305; M-1 ~ D-304; M-1 ~ G-303; M-1 ~ V-302; M-1 ~ R-301; M-1 ~ A-300; M-1 ~ R-299; M-1 ~ S-298; M-1 ~ P-297; M-1 ~ T-296; M-1 ~ M-295; M-1 ~ V-294; M-1 ~ I-293; M-1 ~ K-292; M-1 ~ P-291; M-1 ~ G-290; M-1 ~ K-289; M-1 ~ P-288; M-1 ~ A-287; M-1 ~ V-286; M-1 ~ L-285; M-1 ~ T-284; M-1 ~ V-283; M-1 ~ E-282; M-1 ~ A-281; M-1 ~ Q-280; M-1 ~ M-279; M-1 ~ P-278; M-1 ~ M-277; M-1 ~ S-276; M-1 ~ L-275; M-1 ~ A-274; M-1 ~ P-273; M-1 ~ H-272; M-1 ~ K-271; M-1 ~ V-270; M-1 ~ E-269; M-1 ~ C-268; M-1 ~ S-267; M-1 ~ F-266; M-1 ~ L-265; M-1 ~ A-264; M-1 ~ E-263; M-1 ~ N-262; M-1 ~ D-261; M-1 ~ I-260; M-1 ~ Q-259; M-1 ~ P-258; M-1 ~ N-257; M-1 ~ L-256; M-1 ~ T-255; M-1 ~ W-254; M-1 ~ T-253; M-1 ~ L-252; M-1 ~ L-251; M-1 ~ A-250; M-1 ~ R-249; M-1 ~ V-248; M-1 ~ E-247; M-1 ~ V-246; M-1 ~ T-245; M-1 ~ G-244; M-1 ~ D-243; M-1 ~ S-242; M-1 ~ S-241; M-1 ~ P-240; M-1 ~ T-239; M-1 ~ R-238; M-1 ~ S-237; M-1 ~ H-236; M-1 ~ R-235; M-1 ~ L-234; M-1 ~ F-233; M-1 ~ Y-232; M-1 ~ T-231; M-1 ~ P-230; M-1 ~ E-229; M-1 ~ A-228; M-1 ~ S-227; M-1 ~ H-226; M-1 ~ V-225; M-1 ~ W-224; M-1 ~ R-223; M-1 ~ P-222; M-1 ~ F-221; M-1 ~ E-220; M-1 ~ R-219; M-1 ~ S-218; M-1 ~ V-217; M-1 ~ V-216; M-1 ~ T-215; M-1 ~ E-214; M-1 ~ P-213; M-1 ~ I-212; M-1 ~ N-211; M-1 ~ E-210; M-1 ~ T-209; M-1 ~ T-208; M-1 ~ P-207; M-1 ~ Q-206; M-1 ~ L-205; M-1 ~ L-204; M-1 ~ I-203; M-1 ~ N-202; M-1 ~ P-201; M-1 ~ D-200; M-1 ~ P-199; M-1 ~ T-198; M-1 ~ L-197; M-1 ~ G-196; M-1 ~ R-195; M-1 ~ S-194; M-1 ~ P-193; M-1 ~ R-192; M-1 ~ E-191; M-1 ~ T-190; M-1 ~ Y-189; M-1 ~ P-188; M-1 ~ R-187; M-1 ~ G-186; M-1 ~ G-185; M-1 ~ R-184; M-1 ~ N-183; M-1 ~ E-182; M-1 ~ A-181; M-1 ~ D-180; M-1 ~ L-179; M-1 ~ L-178; M-1 ~ S-177; M-1 ~ L-176; M-1 ~ S-175; M-1 ~ K-174; M-1 ~ Q-173; M-1 ~ M-172; M-1 ~ K-171; M-1 ~ T-170; M-1 ~ D-169; M-1 ~ D-168; M-1 ~ L-167; M-1 ~ D-166; M-1 ~ R-165; M-1 ~ H-164; M-1 ~ L-163; M-1 ~ L-162; M-1 ~ S-161; M-1 ~ R-160; M-1 ~ F-159; M-1 ~ P-158; M-1 ~ R-157; M-1 ~ S-156; M-1 ~ D-

10

20

30

155; M-1 ~ Q-154; M-1 ~ L-153; M-1 ~ P-152; M-1 ~ G-151; M-1 ~ S-150; M-1 ~ S-149; M-1 ~ A-148; M-1 ~ A-147; M-1 ~ P-146; M-1 ~ P-145; M-1 ~ E-144; M-1 ~ S-143; M-1 ~ L-142; M-1 ~ P-141; M-1 ~ V-140; M-1 ~ A-139; M-1 ~ D-138; M-1 ~ I-137; M-1 ~ P-136; M-1 ~ E-135; M-1 ~ G-134; M-1 ~ D-133; M-1 ~ R-132; M-1 ~ K-131; M-1 ~ F-130; M-1 ~ Y-129; M-1 ~ V-128; M-1 ~ M-127; M-1 ~ P-126; M-1 ~ A-125; M-1 ~ P-124; M-1 ~ K-123; M-1 ~ G-122; M-1 ~ G-121; M-1 ~ S-120; M-1 ~ V-119; M-1 ~ I-118; M-1 ~ C-117; M-1 ~ V-116; M-1 ~ L-115; M-1 ~ T-114; M-1 ~ F-113; M-1 ~ N-112; M-1 ~ Q-111; M-1 ~ A-110; M-1 ~ Q-109; M-1 ~ Y-108; M-1 ~ R-107; M-1 ~ S-106; M-1 ~ F-105; M-1 ~ P-104; M-1 ~ A-103; M-1 ~ P-102; M-1 ~ T-101; M-1 ~ D-100; M-1 ~ A-99; M-1 ~ A-98; M-1 ~ V-97; M-1 ~ V-96; M-1 ~ E-95; M-1 ~ I-94; M-1 ~ S-93; M-1 ~ T-92; M-1 ~ P-91; M-1 ~ P-90; M-1 ~ A-89; M-1 ~ M-88; M-1 ~ V-87; M-1 ~ N-86; M-1 ~ L-85; M-1 ~ F-84; M-1 ~ I-83; M-1 ~ N-82; M-1 ~ G-81; M-1 ~ S-80; M-1 ~ A-79; M-1 ~ L-78; M-1 ~ V-77; M-1 ~ V-76; M-1 ~ K-75; M-1 ~ E-74; M-1 ~ R-73; M-1 ~ T-72; M-1 ~ A-71; M-1 ~ R-70; M-1 ~ D-69; M-1 ~ Y-68; M-1 ~ I-67; M-1 ~ G-66; M-1 ~ V-65; M-1 ~ H-64; M-1 ~ C-63; M-1 ~ E-62; M-1 ~ Y-61; M-1 ~ P-60; M-1 ~ G-59; M-1 ~ N-58; M-1 ~ D-57; M-1 ~ S-56; M-1 ~ I-55; M-1 ~ R-54; M-1 ~ V-53; M-1 ~ E-52; M-1 ~ P-51; M-1 ~ L-50; M-1 ~ R-49; M-1 ~ V-48; M-1 ~ T-47; M-1 ~ S-46; M-1 ~ Q-45; M-1 ~ Y-44; M-1 ~ V-43; M-1 ~ L-42; M-1 ~ D-41; M-1 ~ E-40; M-1 ~ R-39; M-1 ~ K-38; M-1 ~ R-37; M-1 ~ Y-36; M-1 ~ N-35; M-1 ~ E-34; M-1 ~ M-33; M-1 ~ H-32; M-1 ~ S-31; M-1 ~ Y-30; M-1 ~ N-29; M-1 ~ T-28; M-1 ~ S-27; M-1 ~ F-26; M-1 ~ M-25; M-1 ~ A-24; M-1 ~ D-23; M-1 ~ F-22; M-1 ~ I-21; M-1 ~ F-20; M-1 ~ I-19; M-1 ~ K-18; M-1 ~ Q-17; M-1 ~ K-16; M-1 ~ I-15; M-1 ~ T-14; M-1 ~ G-13; M-1 ~ G-12; M-1 ~ D-11; M-1 ~ T-10; M-1 ~ V-9; M-1 ~ R-8; M-1 ~ Y-7

10

20

。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドはまた、これらのポリペプチドの1つ以上に結合する抗体と同様に、本発明によって含まれる。さらに、これらのポリペプチドのフラグメントおよび改変体（例えば、本明細書中で記載されるフラグメント、これらのポリペプチドと少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%同一なポリペプチド、およびストリンジентな条件下で、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドにハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド、またはそれらの相補体）が、本発明によって含まれる。本発明のこれらのフラグメントおよび改変体に結合する抗体もまた、本発明によって含まれる。これらのフラグメントおよび改変体をコードするポリヌクレオチドもまた本発明によって含まれる。

30

【0161】

また、上記のように、タンパク質のC末端からの1つ以上のアミノ酸の欠失が、このタンパク質の1つ以上の生物学的機能（例えば、リンパ球混合反応を阻害する能力）の損失の改変を生じるとしても、他の機能的活性（例えば、生物学的活性、多量体化する能力、レセプターに結合する能力、抗体を産生する能力、抗体に結合する能力）は、なお保持され得る。例えば、そのポリペプチドの完全な形態または成熟形態を認識する抗体を誘導する短縮型ポリペプチドの能力および/またはこの抗体に結合する短縮型ポリペプチドの能力は、完全なポリペプチドまたは成熟ポリペプチドの大部分に満たない残基が、C末端から除去される場合には、一般的に保持される。完全なポリペプチドのC末端残基を欠く特定のポリペプチドが、このような免疫学的活性を保持するか否かは、本明細書中に記載される慣用的な方法、および当該分野において公知の他の方法によって容易に決定され得る。多数の欠失したC末端アミノ酸残基を有するポリペプチドは、いくつかの生物学的活性または免疫原性活性を保持し得るようである。実際に、6残基程度の少ないアミノ酸残基が

40

50

らなるペプチドは、しばしば免疫応答を惹起し得る。

【0162】

さらに、上記に列挙されたN末端欠失またはC末端欠失のいずれかを組合せてN末端欠失ポリペプチドおよびC末端欠失ポリペプチドを生成し得る。本発明はまた、アミノ末端およびカルボキシル末端の両方から1つ以上のアミノ酸を欠失したポリペプチドあるいはこれらから構成されるポリペプチドを提供する。このポリペプチドは、一般に、配列番号18のm~n残基を有するとして記載され得、ここで、nおよびmは上記のような整数である。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドもまた、本発明によって包含される。本発明はまた、m~nとして本明細書において記載されるポリペプチド配列に対して、少なくとも80%、85%、90%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるポリペプチドを含むタンパク質に関する。好ましい実施形態において、本出願は、本明細書において列挙された特定のN末端欠失およびC末端欠失のアミノ酸配列を有するポリペプチドに対して、少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるポリペプチドを含むタンパク質に関する。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドもまた、本発明によって包含される。

10

【0163】

また、ATCC寄託番号PTA-2332に含まれるcDNAクローンによってコードされる完全アミノ酸配列の一部からなるポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列も含まれる。ここで、この部分は、ATCC寄託番号PTA-2332に含まれたcDNAクローンによってコードされる完全アミノ酸配列のアミノ末端から1~約408アミノ酸の任意の整数のアミノ酸残基を除外するか、または、ATCC寄託番号PTA-2332に含まれたcDNAクローンによってコードされる完全なアミノ酸配列のカルボキシル末端から1~約408アミノ酸の任意の整数のアミノ酸残基を除外するか、または上記のアミノ末端欠失およびカルボキシル末端欠失の任意の組合せを除外する。これらのポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドもまた、本発明によって包含される。

20

【0164】

本明細書において記載されるか、さもなければ当該分野で公知のように、本発明のポリヌクレオチドは、染色体同定、染色体マッピング、および連鎖解析において、プローブまたはプライマーとして役立つことを含むがこれらに限定されない用途を有する。

30

【0165】

この遺伝子が神経組織において発現されることを発見した。

【0166】

本発明のポリヌクレオチドおよびポリペプチドは、生物学的サンプル中に存在する神経系組織または細胞型の示差的同定のため、そして、免疫系活性化、刺激および/またはサーベイランスに関与する(特にT細胞および/または好中球に関与する)疾患および/または障害、ならびに神経系の疾患および/または障害を含むが、これらに限定されない疾患および状態の診断のための試薬として有用である。同様に、ポリペプチドおよびこれらのポリペプチドに対する抗体は、組織または細胞型の示差的同定のための免疫学的プローブを提供するのに有用である。B7-H10タンパク質の活性についてのアンタゴニストとして作用するこのタンパク質の細胞外部分に対する抗体の使用が特に意図される。このようなアンタゴニスト性抗体は、本明細書に開示されるこのような生物学的活性(例えば、T細胞調節活性)の予防および/または阻害に有用である。

40

【0167】

上記組織または細胞の多くの障害、特に、神経系および免疫系の多くの障害について、標準的な遺伝子発現レベル、すなわち、障害を有さない個体からの健常組織または体液中の発現レベルに対して有意により高いまたはより低いレベルのこの遺伝子の発現が、特定の組織または細胞型(例えば、免疫組織、神経組織、癌性組織および創傷組織)または体液(例えば、リンパ、血清、血漿、尿、滑液および髄液)またはこのような障害を有する個体から採取された別の組織もしくは細胞サンプル中で慣用的に検出され得る。

50

【0168】

B7ファミリーのリガンドのメンバーに対する相同性は、この遺伝子に対応するポリヌクレオチドおよびポリペプチドが、免疫系活性化、刺激および/またはサーベイランスに参与する（特にT細胞および/または好中球に参与する）疾患および/または障害の診断、検出および/または処置に有用であることを示す。詳細には、例えば、B7-H10遺伝子の翻訳産物は、T細胞の同時刺激、ICOSへの結合に参与し得、そして/または特定のサイトカインの発現の調節において役割を果たし得る。

【0169】

より一般的には、免疫系細胞における組織分布は、この遺伝子産物が、サイトカイン産生、抗原提示、または癌の処置（例えば、免疫反応をブーストすることによる）においても有用性を示唆し得る他のプロセスの調節に参与し得ることを示す。この遺伝子は、免疫系由来の細胞において発現されるので、この遺伝子またはタンパク質、ならびにこのタンパク質に対する抗体は、上記に挙げられた組織に対する腫瘍マーカーおよび/または免疫治療の標的として有用性を示し得る。従って、この遺伝子産物は、免疫学的障害（関節炎、喘息、免疫欠陥疾患（例えば、AIDS）、白血病、慢性関節リウマチ、炎症性腸疾患、敗血症、挫傷、および乾癬を含む）の薬剤としてもまた使用され得る。さらに、この遺伝子産物は、種々の血液系列の幹細胞および方向付けられた前駆細胞の増大において、ならびに種々の細胞型の分化および/または増殖において商業的有用性を有し得る。タンパク質、およびこのタンパク質に対する抗体は、上記に列挙した組織についての腫瘍マーカーおよび/または免疫療法の標的として有用性を示し得る。さらに、このタンパク質はまた、その栄養補給剤としての使用に加えて、生物学的活性を決定するために、抗体を惹起するために、組織マーカーとして、同族のリガンドまたはレセプターを単離するために、それらの相互作用を調節する薬剤を同定するために使用され得る。

【0170】

神経組織内での発現は、このクローンに対応するポリヌクレオチド、翻訳産物および抗体が、神経変性疾患状態および行動障害、例えば、アルツハイマー病、パーキンソン病、ハンチントン病、ツレット症候群、精神分裂病、躁病、痴呆、妄想症、強迫性障害、恐慌性障害、学習障害、ALS、精神病、自閉症、および行動変化（栄養補給、睡眠パターン、平衡、および知覚の障害を含む）の検出および/または処置に有用であることを示唆する。さらに、この遺伝子または遺伝子産物はまた、胚の発生と関連する発生障害、または性関連障害の処置および/または検出において役割を果たし得る。さらに、この遺伝子に対応する翻訳産物、およびこれらの翻訳産物に対する抗体は、上記に列挙された組織に対する腫瘍マーカーおよび/または免疫療法の標的としての有用性を示し得る。

【0171】

（遺伝子番号6によってコードされるタンパク質の特徴）

本出願の目的のために、この遺伝子およびその対応する翻訳産物は、B7-H12遺伝子およびB7-H12タンパク質として公知である。このB7-H12遺伝子は、B7ファミリーのリガンドのメンバー（すなわち、B7-H1（Genbank Accession AAF25807を参照のこと））と配列相同性を共有する。これらのタンパク質およびその対応するレセプターは、T細胞の増殖（growth）、分化、活性化、増殖（proliferation）および死亡において重要な役割を果たす。例えば、このファミリーのいくつかのメンバー（すなわち、B7-H1）は、T細胞応答の同時刺激に、そしてサイトカインの産生の増大の誘導に参与するが、一方、他のファミリーのメンバーは、T細胞応答の負の調節に参与する。従って、B7-H12遺伝子に対する抗体または低分子のようなアゴニストおよびアンタゴニストは、T細胞媒介免疫系障害、ならびに他の免疫系細胞（例えば、好中球、マクロファージ、および白血球）の障害を処置するのに有用である。

【0172】

本発明の好ましいポリペプチドは、配列番号19において残基：Pro-54~Glu-59, Lys-78~Arg-94, Ala-115~Ile-120, およびGln-

10

20

30

40

50

126 ~ Cys - 131として示される、B7 - H12タンパク質の1個、2個、3個、4個、または4個全ての細胞外部分である免疫原性エピトープを含むかまたはこれからなる。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドもまた、本発明によって包含され、同様に、1つ以上のこれらのポリペプチドに結合する抗体もまた本発明によって包含される。さらに、これらのポリペプチドのフラグメントおよび改変体（例えば、本明細書中に記載のフラグメント、これらのポリペプチドに対して少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であるポリペプチド、およびストリンジентな条件下で、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドにハイブリダイズするポリヌクレオチド、またはその相補体によってコードされるポリペプチド）は、本発明によって包含される。本発明のこれらのフラグメントおよび改変体に結合する抗体もまた、本発明に包含される。これらのフラグメントおよび改変体をコードするポリヌクレオチドもまた、本発明に包含される。

10

【0173】

さらなる非限定的な実施形態において、本発明のポリペプチドは、以下：

B7 - H12タンパク質の成熟ドメイン：

【0174】

【化13】

QVTVVGPTDPILAMVGENTTLRCCLSPEENAEDMEVRWFQSQFSPA V FVYKGG RER

TEEQKEEYRGR TTFVSKDSRGSVALIHNVTAE DNGIYQC YFQEG RSCNEAILHLVVA

DQHNPLSWIPQGTLSL (配列番号 44)

20

および/または

B7 - H12タンパク質のリーダー配列：

MEPAAALHFSPRASLLLLLSLCA LVSA (配列番号45)

からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むか、あるいはこのようなアミノ酸配列からなる。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドもまた、本発明によって包含され、同様に、1つ以上のこれらのポリペプチドに結合する抗体もまた本発明によって包含される。さらに、これらのポリペプチドのフラグメントおよび改変体（例えば、本明細書中に記載のフラグメント、これらのポリペプチドに対して少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であるポリペプチド、およびストリンジентな条件下で、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドにハイブリダイズするポリヌクレオチド、またはその相補体によってコードされるポリペプチド）は、本発明によって包含される。本発明のこれらのフラグメントおよび改変体に結合する抗体もまた、本発明に包含される。これらのフラグメントおよび改変体をコードするポリヌクレオチドもまた、本発明に包含される。

30

【0175】

また、機能的活性を示すB7 - H12タンパク質の成熟部分（配列番号44）のフラグメントを含むか、あるいはこのフラグメントから構成されるポリペプチドが好ましい。これらのポリペプチドのフラグメントおよび/または改変体（例えば、本明細書において記載されるフラグメントおよび/または改変体など）が本発明によって包含される。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチド（フラグメントおよび/または改変体を含む）はまた、本発明により包含され、同様に、これらのポリペプチドに結合する抗体もまた、本発明により包含される。

40

【0176】

機能的な活性とは、全長（完全）B7 - H12タンパク質に関する1つ以上の既知の機能的活性を示し得るポリペプチドフラグメントを意味する。このような機能的活性としては、生物学的活性（例えば、T細胞同時刺激活性、ICOS、CD28またはCTLA4に結合する能力、およびサイトカイン産生を誘導または阻害する能力）、抗原性〔抗B7 - H12抗体と結合する（かまたは結合についてB7 - H12ポリペプチドと競合する）能力〕、免疫原性（B7 - H12ポリペプチドに結合する抗体を生成する能力）、本発明の

50

B7 - H12ポリペプチドとの多量体を形成する能力、ならびにB7 - H12ポリペプチドのレセプターに結合する能力が挙げられるがこれらに限定されない。

【0177】

図11A～Bは、この遺伝子に対応するヌクレオチド（配列番号7）および推定アミノ酸配列（配列番号19）を示す。

【0178】

図12は、アミノ酸配列（配列番号19）の分析を示す。領域、領域、ターン領域、およびコイル領域；親水性および疎水性；両親媒性領域；可撓性領域；抗原性指標および表面確率、が示され、そして全てが列挙されたコンピュータアルゴリズムのデフォルト設定を使用して作製された。「抗原性指標 - Jameson - Wolf」のグラフにおいて、正のピークは、このタンパク質の高度に抗原性の領域（すなわち、本発明のエピトープ保有ペプチドが得られ得る領域）の位置を示す。これらのグラフによって規定されたドメインを含むか、またはこのようなドメインから構成されるポリペプチドは、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドがそうであるように、本発明によって意図される。図12に示すデータはまた、表8に表形式で示される。列を、見出し「Res」「Position」およびローマ数字のI～XIVで表示する。列の見出しは、図12および表8に示されるアミノ酸配列の以下の特性をいう：「Res（残基）」：配列番号19ならびに表11Aおよび11Bのアミノ酸残基；「Position（位置）」：配列番号19ならびに図11Aおよび11Bの対応する残基の位置；I：領域 - Garnier - Robson；II：領域 - Chou - Fasman；III：領域 - Garnier - Robson；IV：領域 - Chou - Fasman；V：ターン、領域 - Garnier - Robson；VI：ターン、領域 - Chou - Fasman；VII：コイル、領域 - Garnier - Robson；VIII：親水性プロット - Kyte - Doolittle；IX：親水性プロット - Hopp - Woods；X：両親媒性領域 - Eisenberg；XI：両親媒性領域 - Eisenberg；XII：可撓性領域 - Karplus - Schulz；XIII：抗原性指数 - Jameson - Wolf；およびXIV：表面確率プロット - Emini。これに関して本発明の好ましい実施形態は、1つ以上の以下の領域を含むかまたは以下からなるフラグメントを含む：ヘリックスおよびヘリックス形成領域（「領域」）、シートおよびシート形成領域（「領域」）、ターンおよびターン形成領域（「ターン - 領域」）、コイルおよびコイル形成領域（「コイル - 領域」）、親水性領域、疎水性領域、両親媒性領域、両親媒性領域、可撓性領域、表面形成領域および高度抗原性指標領域。上記の、図12および/または表8に示されるタンパク質の構造的属性または機能的属性を示すデータを、デフォルトパラメータに設定されるDNA*STARの種々のモジュールおよびアルゴリズムを使用して、作製した。好ましい実施形態において、表8の列VIII、IX、XIII、およびXIVに示されるデータを使用して、抗原性について高度な可能性を示すタンパク質の領域を決定し得る。高抗原性の領域は、抗原認識が免疫応答の開始のプロセスにおいて生じ得る環境で、ポリペプチドの表面におそらく曝露されるポリペプチドの領域を示す値を選択することによって、列VIII、IX、XIII、および/またはXIVに示されるデータから決定される。これらに関して特定の好ましい領域は、図12にて示されるが、表8に示されるように、図12に示されるデータの表形式において表され得るか、または同定され得る。図12（最初のデフォルトパラメータに対して設定される）を作製するために使用されるDNA*STARコンピュータアルゴリズムを使用して、表形式の図12（表8を参照のこと）においてデータを示した。図12（表8を参照のこと）におけるデータの表形式を使用して、好ましい領域の特定の境界を容易に決定し得る。

【0179】

本発明はさらに、本明細書に記載されるポリヌクレオチド配列のフラグメントに関する。例えば、寄託されたcDNAのポリヌクレオチド配列、または配列番号7に示されるヌクレオチド配列のフラグメントとは、本明細書に考察されるように診断プローブおよび診断

プライマーとして有用である、少なくとも約 15ヌクレオチド長、そしてより好ましくは少なくとも約 20ヌクレオチド長、少なくとも約 25ヌクレオチド長、なおより好ましくは少なくとも約 30ヌクレオチド長、少なくとも約 35ヌクレオチド長、そしてなおより好ましくは、少なくとも約 40ヌクレオチド長、少なくとも約 45ヌクレオチド長、少なくとも約 50ヌクレオチド長、少なくとも約 60ヌクレオチド長、少なくとも約 70ヌクレオチド長、少なくとも約 80ヌクレオチド長、少なくとも約 90ヌクレオチド長、少なくとも約 100ヌクレオチド長、少なくとも約 125ヌクレオチド長、少なくとも約 150ヌクレオチド長、少なくとも約 175ヌクレオチド長のポリヌクレオチドフラグメントを意図する。当然ながら、より長い200～1500ヌクレオチド長のフラグメントはまた、寄託されたcDNAのヌクレオチド配列、または配列番号7に示されるヌクレオチド配列の全てではないが、ほとんどに対応するフラグメントがそうであるように、本発明に従って有用である。例えば、少なくとも20ヌクレオチド長のフラグメントとは、寄託されたcDNAのヌクレオチド配列、または配列番号7に示されるヌクレオチド配列由来の20以上の連続する塩基を含むフラグメントを意図する。この文脈において「約(おおよそ)」は、いずれかの末端がまたは両方の末端で、特に記載された大きさ、あるいはそれより数個(5、4、3、2、または1)のヌクレオチドだけ大きいかまたは小さな値を含む。本発明のポリヌクレオチドフラグメントの代表的な例としては、例えば、配列番号7またはその相補鎖、または寄託されたクローンに含まれるcDNAのおおよそ以下のヌクレオチド数の配列を含むか、あるいはそれからなるフラグメントが挙げられる：1～約50、約51～約100、約101～約150、約151～約200、約201～約250、約251～約300、約301～約350、約351～約400、約401～約450、約451～約500、約501～約550、約551～約600、約601～約650、約651～約700、約701～約750、約751～約800、および約801～約860。この文脈において、「おおよそ(約)」は、いずれかの末端もしくは両方の末端において、特に記載された範囲、そしてこれより数個(5、4、3、2、または1)のヌクレオチドだけ大きいか、または小さな範囲を含む。さらなる実施形態において、本発明のポリヌクレオチドは、対応するタンパク質の機能的属性をコードする。

【0180】

本発明の好ましいポリペプチドフラグメントは、アミノ末端もしくはカルボキシ末端またはその両方から、連続した一連の残基を欠失した分泌タンパク質を含むか、あるいはこれからなる。詳細には、B7-H12ポリペプチドのN末端欠失は、一般式m-159で記載され得、ここでmは、2～154の整数であり、mは、配列番号19に同定されるアミノ酸残基の位置に対応する。より詳細には、本発明は、以下の群：配列番号19の

【0181】

【化14】

E-2 ~ L-159; P-

3 ~ L-159; A-4 ~ L-159; A-5 ~ L-159; A-6 ~ L-159; L-7 ~ L-159; H-8 ~ L-159; F-9 ~ L-159; S-10 ~ L-159; R-11 ~ L-159; P-12 ~ L-159; A-13 ~ L-159; S-14 ~ L-159; L-15 ~ L-159; L-16 ~ L-159; L-17 ~ L-159; L-18 ~ L-159; L-19 ~ L-159; S-20 ~ L-159; L-21 ~ L-159; C-22 ~ L-159; A-23 ~ L-159; L-24 ~ L-159; V-25 ~ L-159; S-26 ~ L-159; A-27 ~ L-159; Q-28 ~ L-159; V-29 ~ L-159; T-30 ~ L-159; V-31 ~ L-159; V-32 ~ L-159; G-33 ~ L-159; P-34 ~ L-159; T-35 ~ L-159; D-36 ~ L-159; P-37 ~ L-159; I-38 ~ L-159; L-39 ~ L-159; A-40 ~ L-159; M-41 ~ L-159; V-42 ~ L-159; G-43 ~ L-159; E-44 ~ L-159; N-45 ~ L-159; T-46 ~ L-159; T-47 ~ L-159; L-48 ~ L-159; R-49 ~ L-159; C-50 ~ L-159; C-51 ~ L-159; L-52 ~ L-159; S-53 ~ L-159; P-54 ~ L-159; E-55 ~ L-159; E-56 ~ L-159; N-57 ~ L-159; A-58 ~ L-159; E-59 ~ L-159; D-60 ~ L-159; M-61 ~ L-159; E-62 ~ L-159; V-63 ~ L-159; R-64 ~ L-159; W-65 ~ L-159; F-66 ~ L-159; Q-67 ~ L-159; S-68 ~ L-159; Q-69 ~ L-159; F-70 ~ L-159; S-71 ~ L-159; P-72 ~ L-159; A-73 ~ L-159; V-74 ~ L-159; F-75 ~ L-159; V-76 ~ L-159; Y-77 ~ L-159; K-78 ~ L-159; G-79 ~ L-159; G-80 ~ L-159; R-81 ~ L-159; E-82 ~ L-159; R-83 ~ L-159; T-84 ~ L-159; E-85 ~ L-159; E-86 ~ L-159; Q-87 ~ L-159; K-88 ~ L-159; E-89 ~ L-159; E-90 ~ L-159; Y-91 ~ L-159; R-92 ~ L-159; G-93 ~ L-159; R-94 ~ L-159; T-95 ~ L-159; T-96 ~ L-159; F-97 ~ L-159; V-98 to L-159; S-99 ~ L-159; K-100 ~ L-159; D-101 ~ L-159; S-102 ~ L-159; R-103 ~ L-159; G-104 ~ L-159; S-105 ~ L-159; V-106 ~ L-159; A-107 ~ L-159; L-108 ~ L-159; I-109 ~ L-159; I-110 ~ L-159; H-111 ~ L-159; N-112 ~ L-159; V-113 ~ L-159; T-114 ~ L-159; A-115 ~ L-159; E-116 ~ L-159; D-117 ~ L-159; N-118 ~ L-159; G-119 ~ L-159; I-120 ~ L-159; Y-121 ~ L-159; Q-122 ~ L-159; C-123 ~ L-159; Y-124 ~ L-159; F-125 ~ L-159; Q-126 ~ L-159; E-127 ~ L-159; G-128 ~ L-159; R-129 ~ L-159; S-130 ~ L-159; C-131 ~ L-159; N-132 ~ L-159; E-133 ~ L-159; A-134 ~ L-159; I-135 ~ L-159; L-136 ~ L-159; H-137 ~ L-159; L-138 ~ L-159; V-139 ~ L-159; V-140 ~ L-159; A-141 ~ L-159; D-142 ~ L-159; Q-143 ~ L-159; H-144 ~ L-159; N-145 ~ L-159; P-146 ~ L-159; L-147 ~ L-159; S-148 ~ L-159; W-149 ~ L-159; I-150 ~ L-159; P-151 ~ L-159; I-152 ~ L-159; P-153 ~ L-159; キョウマキ Q-154 ~ L-159

10

20

30

から選択されるアミノ酸配列を含むか、このようなアミノ酸配列から構成されるポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドもまた、本発明によって包含され、同様に、1つ以上のこれらのポリペプチドに結合する抗体もまた本発明によって包含される。さらに、これらのポリペプチドのフラグメントおよび改変体（例えば、本明細書中に記載のフラグメント、これらのポリペプチドに対して少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であるポリペプチド、およびストリンジェントな条件下で、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドにハイブリダイズするポリヌクレオチド、またはその相補体によってコードされるポリペプチド）は、本発明によって包含される。本発明のこれらのフラグメントおよび改変体に結合する抗体もまた、本発明に包含される。これらのフラグメントおよび改変体をコードするポリヌクレオチドもまた、本発明に包含される。

40

【0182】

従って、本発明は、図11A~11Bに示されるポリペプチド（配列番号19）のアミノ

50

酸配列のカルボキシ末端から1つ以上欠失した残基を有するポリペプチドをさらに提供する。この欠失が一般式1-nによって記載される場合、nは7~158の整数であり、nは配列番号19に同定されるアミノ酸残基の位置に対応する。さらに、本発明は、C末端の欠失の以下の群：配列番号19の

【0183】

【化15】

M-1 ~ S-158; M-1

~ L-157; M-1 ~ T-156; M-1 ~ G-155; M-1 ~ Q-154; M-1 ~ P-153; M-1 ~ I-152; M-1 ~ P-151; M-1 ~ I-150; M-1 ~ W-149; M-1 ~ S-148; M-1 ~ L-147; M-1 ~ P-146; M-1 ~ N-145; M-1 ~ H-144; M-1 ~ Q-143; M-1 ~ D-142; M-1 ~ A-141; M-1 ~ V-140; M-1 ~ V-139; M-1 ~ L-138; M-1 ~ H-137; M-1 ~ L-136; M-1 ~ I-135; M-1 ~ A-134; M-1 ~ E-133; M-1 ~ N-132; M-1 ~ C-131; M-1 ~ S-130; M-1 ~ R-129; M-1 ~ G-128; M-1 ~ E-127; M-1 ~ Q-126; M-1 ~ F-125; M-1 ~ Y-124; M-1 ~ C-123; M-1 ~ Q-122; M-1 ~ Y-121; M-1 ~ I-120; M-1 ~ G-119; M-1 ~ N-118; M-1 ~ D-117; M-1 ~ E-116; M-1 ~ A-115; M-1 ~ T-114; M-1 ~ V-113; M-1 ~ N-112; M-1 ~ H-111; M-1 ~ I-110; M-1 ~ I-109; M-1 ~ L-108; M-1 ~ A-107; M-1 ~ V-106; M-1 ~ S-105; M-1 ~ G-104; M-1 ~ R-103; M-1 ~ S-102; M-1 ~ D-101; M-1 ~ K-100; M-1 ~ S-99; M-1 ~ V-98; M-1 ~ F-97; M-1 ~ T-96; M-1 ~ T-95; M-1 ~ R-94; M-1 ~ G-93; M-1 ~ R-92; M-1 ~ Y-91; M-1 ~ E-90; M-1 ~ E-89; M-1 ~ K-88; M-1 ~ Q-87; M-1 ~ E-86; M-1 ~ E-85; M-1 ~ T-84; M-1 ~ R-83; M-1 ~ E-82; M-1 ~ R-81; M-1 ~ G-80; M-1 ~ G-79; M-1 ~ K-78; M-1 ~ Y-77; M-1 ~ V-76; M-1 ~ F-75; M-1 ~ V-74; M-1 ~ A-73; M-1 ~ P-72; M-1 ~ S-71; M-1 ~ F-70; M-1 ~ Q-69; M-1 ~ S-68; M-1 ~ Q-67; M-1 ~ F-66; M-1 ~ W-65; M-1 ~ R-64; M-1 ~ V-63; M-1 ~ E-

10

20

30

62; M-1 ~ M-61; M-1 ~ D-60; M-1 ~ E-59; M-1 ~ A-58; M-1 ~ N-57; M-1 ~ E-56; M-1 ~ E-55; M-1 ~ P-54; M-1 ~ S-53; M-1 ~ L-52; M-1 ~ C-51; M-1 ~ C-50; M-1 ~ R-49; M-1 ~ L-48; M-1 ~ T-47; M-1 ~ T-46; M-1 ~ N-45; M-1 ~ E-44; M-1 ~ G-43; M-1 ~ V-42; M-1 ~ M-41; M-1 ~ A-40; M-1 ~ L-39; M-1 ~ I-38; M-1 ~ P-37; M-1 ~ D-36; M-1 ~ T-35; M-1 ~ P-34; M-1 ~ G-33; M-1 ~ V-32; M-1 ~ V-31; M-1 ~ T-30; M-1 ~ V-29; M-1 ~ Q-28; M-1 ~ A-27; M-1 ~ S-26; M-1 ~ V-25; M-1 ~ L-24; M-1 ~ A-23; M-1 ~ C-22; M-1 ~ L-21; M-1 ~ S-20; M-1 ~ L-19; M-1 ~ L-18; M-1 ~ L-17; M-1 ~ L-16; M-1 ~ L-15; M-1 ~ S-14; M-1 ~ A-13; M-1 ~ P-12; M-1 ~ R-11; M-1 ~ S-10; M-1 ~ F-9; M-1 ~ H-8;

および/または M-1 ~ L-7

から選択されるアミノ酸配列を含むか、またはこのようなアミノ酸配列から構成されるポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドもまた、本発明によって包含され、同様に、1つ以上のこれらのポリペプチドに結合する抗体もまた本発明によって包含される。さらに、これらのポリペプチドのフラグメントおよび改変体（例えば、本明細書中に記載のフラグメント、これらのポリペプチドに対して少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であるポリペプチド、およびストリンジентな条件下で、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドにハイブリダイズするポリヌクレオチド、またはその相補体によってコードされるポリペプチド）は、本発明によって包含される。本発明のこれらのフラグメントおよび改変体に結合する抗体もまた、本発明に包含される。これらのフラグメントおよび改変体をコードするポリヌクレオチドもまた、本発明に包

40

50

含まれる。

【0184】

また、上記のように、タンパク質のC末端からの1つ以上のアミノ酸の欠失が、このタンパク質の1つ以上の生物学的機能（例えば、リンパ球混合反応を阻害する能力）の損失の改変を生じるとしても、他の機能的活性（例えば、生物学的活性、多量体化する能力、レセプターに結合する能力、抗体を産生する能力、抗体に結合する能力）は、なお保持され得る。例えば、そのポリペプチドの完全な形態または成熟形態を認識する抗体を誘導する短縮型ポリペプチドの能力および/またはこの抗体に結合する短縮型ポリペプチドの能力は、完全なポリペプチドまたは成熟ポリペプチドの大部分に満たない残基が、C末端から除去される場合には、一般的に保持される。完全なポリペプチドのC末端残基を欠く特定のポリペプチドが、このような免疫学的活性を保持するか否かは、本明細書中に記載される慣用的な方法、そうでなければ当該分野において公知の他の方法によって容易に決定され得る。多数の欠失したC末端アミノ酸残基を有するポリペプチドは、いくつかの生物学的活性または免疫原性活性を保持し得るようである。実際に、6残基程度の少ないアミノ酸残基からなるペプチドは、しばしば免疫応答を惹起し得る。

10

【0185】

さらに、上記に列挙されたN末端欠失またはC末端欠失のいずれかを組合せてN末端欠失ポリペプチドおよびC末端欠失ポリペプチドを生成し得る。本発明はまた、アミノ末端およびカルボキシ末端の両方から1つ以上のアミノ酸を欠失したポリペプチドあるいはこれらから構成されるポリペプチドを提供する。このポリペプチドは、一般に、配列番号19のm~n残基を有するとして記載され得、ここでnおよびmは上記のような整数である。これらのポリペプチドのフラグメントおよび/または改変体（例えば、本明細書において記載されるフラグメントおよび/または改変体など）が、本発明によって包含される。これらのポリヌクレオチド（フラグメントおよび改変体を含む）をコードするポリヌクレオチドもまた、本発明に包含され、同様に、これらのポリペプチドに結合する抗体もまた、本発明に包含される。

20

【0186】

本発明はまた、m~nとして本明細書において記載されるポリペプチド配列に対して、少なくとも80%、85%、90%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるポリペプチドを含むタンパク質に関する。好ましい実施形態において、本出願は、本明細書において列挙された特定のN末端欠失およびC末端欠失のアミノ酸配列を有するポリペプチドに対して、少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%または99%同一であるポリペプチドを含むタンパク質に関する。これらのポリペプチドのフラグメントおよび/または改変体（例えば、本明細書において記載されるフラグメントおよび/または改変体など）が、本発明によって包含される。これらのポリヌクレオチド（フラグメントおよび改変体を含む）をコードするポリヌクレオチドもまた、本発明に包含され、同様に、これらのポリペプチドに結合する抗体もまた、本発明に包含される。

30

【0187】

また、ATCC寄託番号PTA-2332に含まれるcDNAクローンによってコードされる完全アミノ酸配列の一部からなるポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列も含まれる。ここで、この部分は、ATCC寄託番号PTA-2332に含まれたcDNAクローンによってコードされる完全アミノ酸配列のアミノ末端から1~約153アミノ酸の任意の整数のアミノ酸残基を除外するか、または、ATCC寄託番号PTA-2332に含まれたcDNAクローンによってコードされる完全なアミノ酸配列のカルボキシ末端から1~約153アミノ酸の任意の整数のアミノ酸残基を除外するか、または上記のアミノ末端欠失およびカルボキシ末端欠失の任意の組合せを除外する。これらのポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドもまた、本発明によって包含される。

40

【0188】

本明細書において記載されるか、さもなければ当該分野で公知のように、本発明のポリヌ

50

クレオチドは、染色体同定、染色体マッピング、および連鎖解析において、プローブまたはプライマーとして役立つことを含むがこれらに限定されない用途を有する。

【0189】

この遺伝子が樹状細胞、T細胞、およびホジキンリンパ腫において発現されることを発見した。

【0190】

この遺伝子に対応するポリヌクレオチド、翻訳産物および抗体は、生物学的サンプル中に存在する免疫系組織または細胞型の示差的同定のため、そして、免疫系活性化、刺激および/またはサーベイランスに関与する(特にT細胞、さらに、他の免疫系細胞(例えば、樹状細胞)、好中球および白血球に関与する)疾患および/または障害を含むが、これらに限定されない疾患および状態の診断のための試薬として有用である。同様に、ポリペプチドおよびこれらのポリペプチドに対する抗体は、組織または細胞型の示差的同定のための免疫学的プローブを提供するのに有用である。B7-H12タンパク質の活性についてのアンタゴニストとして作用するこのタンパク質の細胞外部分に対する抗体の使用が特に意図される。このようなアンタゴニスト性抗体は、本明細書に開示されるこのような生物学的活性(例えば、T細胞調節活性)の予防および/または阻害に有用である。

10

【0191】

上記組織または細胞の多くの障害、特に免疫系の多くの障害について、標準的な遺伝子発現レベル、すなわち、障害を有さない個体からの健常組織または体液中の発現レベルに対して有意により高いまたはより低いレベルのこの遺伝子の発現が、特定の組織または細胞型(例えば、免疫組織、癌性組織および創傷組織)または体液(例えば、リンパ、血清、血漿、尿、滑液および髄液)またはこのような障害を有する個体から採取された別の組織もしくは細胞サンプル中で慣用的に検出され得る。

20

【0192】

免疫細胞(例えば、T細胞、樹状細胞)における組織分布、およびB7ファミリーのリガンドのメンバーに対する相同性は、この遺伝子に対応するポリヌクレオチド、翻訳産物および抗体が、免疫系活性化、刺激および/またはサーベイランスに関与する(特にT細胞、好中球、樹状細胞、白血球、および他の免疫系細胞に関与する)疾患および/または障害の診断、検出および/または処置に有用であることを示す。詳細には、B7-H12遺伝子の翻訳産物は、例えば、T細胞の同時刺激、ICOSへの結合に関与し得、そして/または特定のサイトカインの発現の調節において役割を果たし得る。

30

【0193】

より一般的には、免疫系細胞における組織分布は、この遺伝子産物が、サイトカイン産生、抗原提示、または癌の処置(例えば、免疫反応をブーストすることによる)においても有用性を示唆し得る他のプロセスの調節に関与し得ることを示す。この遺伝子は、免疫系由来の細胞において発現されるので、この遺伝子に対応するポリヌクレオチド、翻訳産物および抗体は、上記に挙げられた組織に対する腫瘍マーカーおよび/または免疫治療の標的として有用性を示し得る。

【0194】

この遺伝子に対応するポリヌクレオチド、翻訳産物および抗体は、免疫学的障害(関節炎、喘息、免疫欠陥疾患(例えば、AIDS)、白血病、慢性関節リウマチ、炎症性腸疾患、敗血症、挫瘡、および乾癬を含む)の薬剤としてもまた使用され得る。さらに、この遺伝子産物は、種々の血液系列の幹細胞および方向付けられた前駆細胞の増大において、ならびに種々の細胞型の分化および/または増殖において商業的有用性を有し得る。さらに、このタンパク質はまた、その栄養補給剤としての使用に加えて、生物学的活性を決定するために、抗体を惹起するために、組織マーカーとして、同族のリガンドまたはレセプターを単離するために、それらの相互作用を調節する薬剤を同定するために使用され得る。

40

【0195】

(遺伝子番号7によってコードされるタンパク質の特徴)

本出願の目的のために、この遺伝子およびその対応する翻訳産物は、B7-H13遺伝子

50

および B7-H13 タンパク質として公知である。このタンパク質は、細胞表面分子として存在すると考えられ、そしてこのタンパク質の膜貫通ドメインは、以下の好ましいアミノ酸残基：L G I L C C G L F F G I V（配列番号 46）をほぼ体现すると考えられる。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドもまた、本発明によって包含され、同様に、1つ以上のこれらのポリペプチドに結合する抗体もまた本発明によって包含される。さらに、これらのポリペプチドのフラグメントおよび改変体（例えば、本明細書中に記載のフラグメント、これらのポリペプチドに対して少なくとも 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または 99% 同一であるポリペプチド、およびストリンジентな条件下で、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドにハイブリダイズするポリヌクレオチド、またはその相補体によってコードされるポリペプチド）は、本発明によって包含される。本発明のこれらのフラグメントおよび改変体に結合する抗体もまた、本発明に包含される。これらのフラグメントおよび改変体をコードするポリヌクレオチドもまた、本発明に包含される。当業者が理解するように、この膜貫通ドメインは、コンピューター解析を用いて予測され、そして膜貫通ドメインは、予測された膜貫通ドメインの N 末端および C 末端の 1 個、2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、8 個、9 個、および / または 10 個のアミノ酸が異なり得る。

10

【0196】

この B7-H13 遺伝子は、B7 ファミリーのリガンドのメンバー（すなわち、B7-H1 (Genbank Accession AAF25807 を参照のこと)）と配列相同性を共有する。これらのタンパク質およびその対応するレセプターは、T 細胞の増殖 (growth)、分化、活性化、増殖 (proliferation) および死亡において重要な役割を果たす。例えば、このファミリーのいくつかのメンバー（すなわち、B7-H1）は、T 細胞応答の同時刺激およびサイトカインの産生の増大の誘導に参与するが、一方、他のファミリーのメンバーは、T 細胞応答の負の調節に参与する。従って、B7-H13 遺伝子に対する抗体または低分子のようなアゴニストおよびアンタゴニストは、T 細胞媒介免疫系障害、ならびに他の免疫系細胞（例えば、好中球、マクロファージ、および白血球）の障害を処置するのに有用である。

20

【0197】

本発明の好ましいポリペプチドは、配列番号 20 において残基：

【0198】

【化 16】

30

Tyr-67~

Pro-74, Ser-117 ~ Gln-123, Pro-161 ~ Met-185, His-311 ~ Arg-327, Val-345 ~ Trp-353,

Arg-359 ~ Glu-367, および Pro-447 ~ Gln-461

として示される、B7-H13 タンパク質の 1 個、2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、または 7 個全ての細胞外部分である免疫原性エピトープを含むかまたはこれからなる。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドもまた、本発明によって包含され、同様に、1つ以上のこれらのポリペプチドに結合する抗体もまた本発明によって包含される。さらに、これらのポリペプチドのフラグメントおよび改変体（例えば、本明細書中に記載のフラグメント、これらのポリペプチドに対して少なくとも 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または 99% 同一であるポリペプチド、およびストリンジентな条件下で、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドにハイブリダイズするポリヌクレオチド、またはその相補体によってコードされるポリペプチド）は、本発明によって包含される。本発明のこれらのフラグメントおよび改変体に結合する抗体もまた、本発明に包含される。これらのフラグメントおよび改変体をコードするポリヌクレオチドもまた、本発明に包含される。

40

【0199】

さらなる非限定的な実施形態において、本発明のポリペプチドは、以下：

50

B 7 - H 1 3 タンパク質の細胞外ドメイン :

【 0 2 0 0 】

【 化 1 7 】

MALMLSLVLSLLKLGSGQWQVFGPDKPVQALVGEDAASFSCFLSPKTNAEAMEVRRFF
 RGQFSSVVHLYRDKDQPFMQMPQYQGRTKLVKDSIAEGRISLRLENITVLDAGLYG
 CRISSQSYQQAIWELQVSALGSVPLISITGYVDRDIQLLCQSSGWFPPTAKWKGPQ
 GQDLSTDSRTNRDMHGLFDVEISLTVQENAGSISCSMRHAHLSREVESRVQIGDTFFE
 PISWHLATKV (配列番号 48),

10

B 7 - H 1 3 タンパク質の成熟細胞外ドメイン :

【 0 2 0 1 】

【 化 1 8 】

QWQVFGPDKPVQALVGEDAASFSCFLSPKTNAEAMEVRRFFRGQFSSVVHLYRDKD
 QPFMQMPQYQGRTKLVKDSIAEGRISLRLENITVLDAGLYGCRISSQSYQQAIWEL
 QVSALGSVPLISITGYVDRDIQLLCQSSGWFPPTAKWKGPQGQDLSTDSRTNRDMH
 GLFDVEISLTVQENAGSISCSMRHAHLSREVESRVQIGDTFFEPISWHLATKV (配列

番号 49), および/または

20

および/または

B 7 - H 1 3 タンパク質のリーダー配列 :

M A L M L S V L S L L K L G S G (配列番号 4 7)

からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むか、あるいはこのようなアミノ酸配列からなる。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドもまた、本発明によって包含され、同様に、1つ以上のこれらのポリペプチドに結合する抗体もまた本発明によって包含される。さらに、これらのポリペプチドのフラグメントおよび改変体(例えば、本明細書中に記載のフラグメント、これらのポリペプチドに対して少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であるポリペプチド、およびストリンジェントな条件下で、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドにハイブリダイズするポリヌクレオチド、またはその相補体によってコードされるポリペプチド)は、本発明によって包含される。本発明のこれらのフラグメントおよび改変体に結合する抗体もまた、本発明に包含される。これらのフラグメントおよび改変体をコードするポリヌクレオチドもまた、本発明に包含される。

30

【 0 2 0 2 】

また、機能的活性を示すB 7 - H 1 3 タンパク質の成熟細胞外部分(配列番号 4 9)のフラグメントを含むか、あるいはこのフラグメントから構成されるポリペプチドが好ましい。これらのポリペプチドのフラグメントおよび/または改変体(例えば、本明細書において記載されるフラグメントおよび/または改変体など)が本発明によって包含される。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチド(フラグメントおよび/または改変体を含む)はまた、本発明により包含され、同様に、これらのポリペプチドに結合する抗体もまた、本発明により包含される。

40

【 0 2 0 3 】

機能的な活性とは、全長(完全)B 7 - H 1 3 タンパク質に関する1つ以上の既知の機能的活性を示し得るポリペプチドフラグメントを意味する。このような機能的活性としては、生物学的活性(例えば、T細胞同時刺激活性、ICOS、CD28またはCTLA4に結合する能力、およびサイトカイン産生を誘導または阻害する能力)、抗原性[抗B 7 - H 1 3 抗体と結合する(かまたは結合についてB 7 - H 1 3 ポリペプチドと競合する)能力]、免疫原性(B 7 - H 1 3 ポリペプチドに結合する抗体を生成する能力)、本発明のB 7 - H 1 3 ポリペプチドとの多量体を形成する能力、ならびにB 7 - H 1 3 ポリペプチ

50

ドのレセプターに結合する能力が挙げられるがこれらに限定されない。

【0204】

図13A～Cは、この遺伝子に対応するヌクレオチド（配列番号8）および推定アミノ酸配列（配列番号20）を示す。

【0205】

図14は、アミノ酸配列（配列番号20）の分析を示す。領域、領域、ターン領域、およびコイル領域；親水性および疎水性；両親媒性領域；可撓性領域；抗原性指標および表面確率、が示され、そして全てが列挙されたコンピュータアルゴリズムのデフォルト設定を使用して作製された。「抗原性指標またはJameson-Wolf」のグラフにおいて、正のピークは、このタンパク質の高度に抗原性の領域（すなわち、本発明のエピトープ保有ペプチドが得られ得る領域）の位置を示す。これらのグラフによって規定されたドメインを含むか、またはこのようなドメインから構成されるポリペプチドは、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドがそうであるように、本発明によって意図される。図14に示すデータはまた、表9に表形式で示される。列を、見出し「Res」「Position」およびローマ数字のI～XIVで表示する。列の見出しは、図14および表9に示されるアミノ酸配列の以下の特性をいう：「Res（残基）」：配列番号20ならびに表13A～Cのアミノ酸残基；「Position（位置）」：配列番号20ならびに図13A～Cの対応する残基の位置；I：領域-Garnier-Robson；II：領域-Chou-Fasman；III：領域-Garnier-Robson；IV：領域-Chou-Fasman；V：ターン、領域-Garnier-Robson；VI：ターン、領域-Chou-Fasman；VII：コイル、領域-Garnier-Robson；VIII：親水性プロット-Kyte-Doolittle；IX：親水性プロット-Hopp-Woods；X：両親媒性領域-Eisenberg；XI：両親媒性領域-Eisenberg；XII：可撓性領域-Karplus-Schulz；XIII；抗原性指数-Jameson-Wolf；およびXIV：表面確率プロット-Emini。これに関して本発明の好ましい実施形態は、1つ以上の以下の領域を含むかまたは以下からなるフラグメントを含む：ヘリックスおよびヘリックス形成領域（「領域」）、シートおよびシート形成領域（「領域」）、ターンおよびターン形成領域（「ターン領域」）、コイルおよびコイル形成領域（「コイル領域」）、親水性領域、疎水性領域、両親媒性領域、両親媒性領域、可撓性領域、表面形成領域および高度抗原性指標領域。上記の、図14および/または表9に示されるタンパク質の構造的属性または機能的属性を示すデータを、デフォルトパラメータに設定されるDNA*STARの種々のモジュールおよびアルゴリズムを使用して、作製した。好ましい実施形態において、表9の列VIII、IX、XII、およびXIVに示されるデータを使用して、抗原性について高度な可能性を示すタンパク質の領域を決定し得る。高抗原性の領域は、抗原認識が免疫応答の開始のプロセスにおいて生じ得る環境で、ポリペプチドの表面におそらく曝露されるポリペプチドの領域を示す値を選択することによって、列VIII、IX、XIII、および/またはXIVに示されるデータから決定される。これらに関して特定の好ましい領域は、図14にて示されるが、表9に示されるように、図14に示されるデータの表形式において表され得るか、または同定され得る。図14（最初のデフォルトパラメータに対して設定される）を作製するために使用されるDNA*STARコンピュータアルゴリズムを使用して、表形式の図14（表9を参照のこと）においてデータを示した。図14（表9を参照のこと）におけるデータの表形式を使用して、好ましい領域の特定の境界を容易に決定し得る。

【0206】

本発明はさらに、本明細書に記載されるポリヌクレオチド配列のフラグメントに関する。例えば、寄託されたcDNAのポリヌクレオチド配列、または配列番号8に示されるヌクレオチド配列のフラグメントとは、本明細書に考察されるように診断プローブおよび診断プライマーとして有用である、少なくとも約15ヌクレオチド長、そしてより好ましくは少なくとも約20ヌクレオチド長、少なくとも約25ヌクレオチド長、なおより好ましく

は少なくとも約30ヌクレオチド長、少なくとも約35ヌクレオチド長、そしてなおより好ましくは、少なくとも約40ヌクレオチド長、少なくとも約45ヌクレオチド長、少なくとも約50ヌクレオチド長、少なくとも約60ヌクレオチド長、少なくとも約70ヌクレオチド長、少なくとも約80ヌクレオチド長、少なくとも約90ヌクレオチド長、少なくとも約100ヌクレオチド長、少なくとも約125ヌクレオチド長、少なくとも約150ヌクレオチド長、少なくとも約175ヌクレオチド長のポリヌクレオチドフラグメントを意図する。当然ながら、より長い200~1500ヌクレオチド長のフラグメントはまた、寄託されたcDNAのヌクレオチド配列、または配列番号8に示されるヌクレオチド配列の全てではないが、ほとんどに対応するフラグメントがそうであるように、本発明に従って有用である。例えば、少なくとも20ヌクレオチド長のフラグメントとは、寄託されたcDNAのヌクレオチド配列、または配列番号8に示されるヌクレオチド配列由来の20以上の連続する塩基を含むフラグメントを意図する。この文脈において「約(おおよそ)」は、いずれかの末端がまたは両方の末端で、特に記載された大きさ、あるいはそれより数個(5、4、3、2、または1)のヌクレオチドだけ大きいかまたは小さな値を含む。本発明のポリヌクレオチドフラグメントの代表的な例としては、例えば、配列番号8またはその相補鎖、または寄託されたクローンに含まれるcDNAのおおよそ以下のヌクレオチド数の配列を含むか、あるいはそれからなるフラグメントが挙げられる：1~約50、約51~約100、約101~約150、約151~約200、約201~約250、約251~約300、約301~約350、約351~約400、約401~約450、約451~約500、約501~約550、約551~約600、約601~約650、約651~約700、約701~約750、約751~約800、および約801~約860。この文脈において、「おおよそ(約)」は、いずれかの末端もしくは両方の末端において、特に記載された範囲、そしてこれより数個(5、4、3、2、または1)のヌクレオチドだけ大きいか、または小さな範囲を含む。

10

20

【0207】

さらなる実施形態において、本発明のポリヌクレオチドは、対応するタンパク質の機能的属性をコードする。本発明の好ましいポリペプチドフラグメントは、アミノ末端もしくはカルボキシ末端またはその両方から、連続した一連の残基を欠失した分泌タンパク質を含むか、あるいはこれからなる。詳細には、このポリペプチドのN末端欠失は、一般式m-461で記載され得、ここでmは、2~456の整数であり、mは、配列番号20に同定されるアミノ酸残基の位置に対応する。より詳細には、本発明は、以下の群：配列番号20の

30

【0208】**【化19】**

A-2 ~ Q-461; L-3 ~ Q-461; M-4 ~ Q-461; L-5 ~ Q-461; S-6 ~ Q-461; L-7 ~ Q-461; V-8 ~ Q-461; L-9 ~ Q-461; S-10 ~ Q-461; L-11 ~ Q-461; L-12 ~ Q-461; K-13 ~ Q-461; L-14 ~ Q-461; G-15 ~ Q-461; S-16 ~ Q-461; G-17 ~ Q-461; Q-18 ~ Q-461; W-19 ~ Q-461; Q-20 ~ Q-461; V-21 ~ Q-461; F-22 ~ Q-461; G-23 ~ Q-461; P-24 ~ Q-461; D-25 ~ Q-461; K-26 ~ Q-461; P-27 ~ Q-461; V-28 ~ Q-461; Q-29 ~ Q-461; A-30 ~ Q-461; L-31 ~ Q-461; V-32 ~ Q-461; G-33 ~ Q-461; E-34 ~ Q-461; D-35 ~ Q-461; A-36 ~ Q-461; A-37 ~ Q-461; F-38 ~ Q-461; S-39 ~ Q-461; C-40 ~ Q-461; F-41 ~ Q-461; L-42 ~ Q-461; S-43 ~ Q-461; P-44 ~ Q-461; K-45 ~ Q-461; T-46 ~ Q-461; N-47 ~ Q-461; A-48 ~ Q-461; E-49 ~ Q-461; A-50 ~ Q-461; M-51 ~ Q-461; E-52 ~ Q-461; V-53 ~ Q-461; R-54 ~ Q-461; F-55 ~ Q-461; F-56 ~ Q-461; R-57 ~ Q-461; G-58 ~ Q-461; Q-59 ~ Q-461; F-60 ~ Q-461; S-61 ~ Q-461; S-62 ~ Q-461; V-63 ~ Q-461; V-64 ~ Q-461; H-65 ~ Q-461; L-66 ~ Q-461; Y-67 ~ Q-461; R-68 ~ Q-461; D-69 ~ Q-461; G-70 ~ Q-461; K-71 ~ Q-461; D-72 ~ Q-461; Q-73 ~ Q-461; P-74 ~ Q-461; F-75 ~ Q-461; M-76 ~ Q-461; Q-77 ~ Q-461; M-78 ~ Q-461; P-79 ~ Q-461; Q-80 ~ Q-461; Y-81 ~ Q-461; Q-82 ~ Q-461; G-83 ~ Q-461; R-84 ~ Q-461; T-85 ~ Q-461; K-86 ~ Q-461; L-87 ~ Q-461; V-88 ~ Q-461; K-89 ~ Q-461; D-90 ~ Q-461; S-91 ~ Q-461; I-92 ~ Q-461; A-93 ~ Q-461; E-94 ~ Q-461; G-95 ~ Q-461; R-96 ~ Q-461; I-97 ~ Q-461; S-98 ~ Q-461; L-99 ~ Q-461; R-100 ~ Q-461; L-101 ~ Q-461; E-102 ~ Q-461; N-103 ~ Q-461; I-104 ~ Q-461; T-105 ~ Q-461; V-106 ~ Q-461; L-107 ~ Q-461; D-108 ~ Q-461; A-109 ~ Q-461; G-110 ~ Q-461; L-111 ~ Q-461; Y-112 ~ Q-461; G-113 ~ Q-461; C-114 ~ Q-461; R-115 ~ Q-461; I-116 ~ Q-461; S-117 ~ Q-461; S-118 ~ Q-461; Q-119 ~ Q-461; S-120 ~ Q-461; Y-121 ~ Q-461; Y-122 ~ Q-461; Q-123 ~ Q-461; K-124 ~ Q-461; A-125 ~ Q-461; I-126 ~ Q-461; W-127 ~ Q-461; E-128 ~ Q-461; L-129 ~ Q-461; Q-130 ~ Q-461; V-131 ~ Q-461; S-132 ~ Q-461; A-133 ~ Q-461; L-134 ~ Q-461; G-135 ~ Q-461; S-136 ~ Q-461; V-137 ~ Q-461; P-

10

20

30

138 ~ Q-461; L-139 ~ Q-461; I-140 ~ Q-461; S-141 ~ Q-461; I-142 ~ Q-461; T-143 ~ Q-461; G-144 ~ Q-461; Y-145 ~ Q-461; V-146 ~ Q-461; D-147 ~ Q-461; R-148 ~ Q-461; D-149 ~ Q-461; I-150 ~ Q-461; Q-151 ~ Q-461; L-152 ~ Q-461; L-153 ~ Q-461; C-154 ~ Q-461; Q-155 ~ Q-461; S-156 ~ Q-461; S-157 ~ Q-461; G-158 ~ Q-461; W-159 ~ Q-461; F-160 ~ Q-461; P-161 ~ Q-461; R-162 ~ Q-461; P-163 ~ Q-461; T-164 ~ Q-461; A-165 ~ Q-461; K-166 ~ Q-461; W-167 ~ Q-461; K-168 ~ Q-461; G-169 ~ Q-461; P-170 ~ Q-461; Q-171 ~ Q-461; G-172 ~ Q-461; Q-173 ~ Q-461; D-174 ~ Q-461; L-175 ~ Q-461; S-176 ~ Q-461; T-177 ~ Q-461; D-178 ~ Q-461; S-179 ~ Q-461; R-180 ~ Q-461; T-181 ~ Q-461; N-182 ~ Q-461; R-183 ~ Q-461; D-184 ~ Q-461; M-185 ~ Q-461; H-186 ~ Q-461; G-187 ~ Q-461; L-188 ~ Q-461; F-189 ~ Q-461; D-190 ~ Q-461; V-191 ~ Q-461; E-192 ~ Q-461; I-193 ~ Q-461; S-194 ~ Q-461; L-195 ~ Q-461; T-196 ~ Q-461; V-197 ~ Q-461; Q-198 ~ Q-461; E-199 ~ Q-461; N-200 ~ Q-461; A-201 ~ Q-461; G-202 ~ Q-461; S-203 ~ Q-461; I-204 ~ Q-461; S-205 ~ Q-461; C-206 ~ Q-461; S-207 ~ Q-461; M-208 ~ Q-461; R-209 ~ Q-461; H-210 ~ Q-461; A-211 ~ Q-461; H-212 ~ Q-461; L-213 ~ Q-461; S-214 ~ Q-461; R-215 ~ Q-461; E-216 ~ Q-461; V-217 ~ Q-461; E-218 ~ Q-461; S-219 ~ Q-461; R-220 ~ Q-461; V-221 ~ Q-461; Q-222 ~ Q-461; I-223 ~ Q-461; G-224 ~ Q-461; D-225 ~ Q-461; T-226 ~ Q-461; F-227 ~ Q-461; F-228 ~ Q-461; E-229 ~ Q-461; P-230 ~ Q-461; I-231 ~ Q-461; S-232 ~ Q-461; W-233 ~ Q-461; H-234 ~ Q-461; L-235 ~ Q-461; A-236 ~ Q-461; T-237 ~ Q-461; K-238 ~ Q-461; V-239 ~ Q-461; L-240 ~ Q-461; G-241 ~ Q-461; I-242 ~ Q-461; L-243 ~ Q-461; C-244 ~ Q-461; C-245 ~ Q-461; G-246 ~ Q-461; L-247 ~ Q-461; F-248 ~ Q-461; F-249 ~ Q-461; G-250 ~ Q-461; I-251 ~ Q-461; V-252 ~ Q-461; G-253 ~ Q-461; L-254 ~ Q-461; K-255 ~ Q-461; I-256 ~ Q-461; F-257 ~ Q-461; F-258 ~ Q-461; S-259 ~ Q-461; K-260 ~ Q-461; F-261 ~ Q-461; Q-262 ~ Q-461; W-263 ~ Q-461; K-264 ~ Q-461; I-265 ~ Q-461; Q-266 ~ Q-461; A-267 ~ Q-461; E-268 ~ Q-461; L-269 ~ Q-461; D-270 ~ Q-461; W-271 ~ Q-461; R-272 ~ Q-461; R-273 ~ Q-461; K-274 ~ Q-461; H-275 ~ Q-461; G-276 ~ Q-461; Q-277 ~ Q-461; A-278 ~ Q-461; E-279 ~ Q-461; L-280 ~ Q-461; R-281 ~ Q-461; D-282 ~ Q-461; A-283 ~ Q-461; R-284 ~ Q-461; K-285 ~ Q-461; H-286 ~ Q-461; A-287 ~ Q-461; V-288 ~ Q-461; E-289 ~ Q-461; V-290 ~ Q-461; T-291 ~ Q-461; L-292 ~ Q-461; D-293 ~ Q-461; P-294 ~ Q-461; E-295 ~ Q-461; T-296 ~ Q-461; A-297 ~ Q-461; H-298 ~ Q-461; P-299 ~ Q-461; K-300 ~ Q-461; L-301 ~ Q-461; C-302 ~ Q-461; V-303 ~ Q-461; S-304 ~ Q-461; D-305 ~ Q-461; L-306 ~ Q-461; K-307 ~ Q-461; T-308 ~ Q-461; V-309 ~ Q-461; T-310 ~ Q-461; H-311 ~

Q-461; R-312 ~ Q-461; K-313 ~ Q-461; A-314 ~ Q-461; P-315 ~ Q-461; Q-316 ~ Q-461; E-317 ~ Q-461; V-318 ~ Q-461; P-319 ~ Q-461; H-320 ~ Q-461; S-321 ~ Q-461; E-322 ~ Q-461; K-323 ~ Q-461; R-324 ~ Q-461; F-325 ~ Q-461; T-326 ~ Q-461; R-327 ~ Q-461; K-328 ~ Q-461; S-329 ~ Q-461; V-330 ~ Q-461; V-331 ~ Q-461; A-332 ~ Q-461; S-333 ~ Q-461; Q-334 ~ Q-461; S-335 ~ Q-461; F-336 ~ Q-461; Q-337 ~ Q-461; A-338 ~ Q-461; G-339 ~ Q-461; K-340 ~ Q-461; H-341 ~ Q-461; Y-342 ~ Q-461; W-343 ~ Q-461; E-344 ~ Q-461; V-345 ~ Q-461; D-346 ~ Q-461; G-347 ~ Q-461; G-348 ~ Q-461; H-349 ~ Q-461; N-350 ~ Q-461; K-351 ~ Q-461; R-352 ~ Q-461; W-353 ~ Q-461; R-354 ~ Q-461; V-355 ~ Q-461; G-356 ~ Q-461; V-357 ~ Q-461; C-358 ~ Q-461; R-359 ~ Q-461; D-360 ~ Q-461; D-361 ~ Q-461; V-362 ~ Q-461; D-363 ~ Q-461; R-364 ~ Q-461; R-365 ~ Q-461; K-366 ~ Q-461; E-367 ~ Q-461; Y-368 ~ Q-461; V-369 ~ Q-461; T-370 ~ Q-461; L-371 ~ Q-461; S-372 ~ Q-461; P-373 ~ Q-461; D-374 ~ Q-461; H-375 ~ Q-461; G-376 ~ Q-461; Y-377 ~ Q-461; W-378 ~ Q-461; V-379 ~ Q-461; L-380 ~ Q-461; R-381 ~ Q-461; L-382 ~ Q-461; N-383 ~ Q-461; G-384 ~ Q-461; E-385 ~ Q-461; H-386 ~ Q-461; L-387 ~ Q-461; Y-388 ~ Q-461; F-389 ~ Q-461; T-390 ~ Q-461; L-391 ~ Q-461; N-392 ~ Q-461; P-393 ~ Q-461; R-394 ~ Q-461; F-395 ~ Q-461; I-396 ~ Q-461; S-397 ~ Q-461; V-398 ~ Q-461; F-399 ~ Q-461; P-400 ~ Q-461; R-401 ~ Q-461; T-402 ~ Q-461; P-403 ~ Q-461; P-404 ~ Q-461; T-405 ~ Q-461; K-406 ~ Q-461; I-407 ~ Q-461; G-408 ~ Q-461; V-409 ~ Q-461; F-410 ~ Q-461; L-411 ~ Q-461; D-412 ~ Q-461; Y-413 ~ Q-461; E-414 ~ Q-461; C-415 ~ Q-461; G-416 ~ Q-461; T-417 ~ Q-461; I-418 ~ Q-461; S-419 ~ Q-461; F-420 ~ Q-461; F-421 ~ Q-461; N-422 ~ Q-461; I-423 ~ Q-461; N-424 ~ Q-461; D-425 ~ Q-461; Q-426 ~ Q-461; S-427 ~ Q-461; L-428 ~ Q-461; I-429 ~ Q-461; Y-430 ~ Q-461; T-431 ~ Q-461; L-432 ~ Q-461; T-433 ~ Q-461; C-434 ~ Q-461; R-435 ~ Q-461; F-436 ~ Q-461; E-437 ~ Q-461; G-438 ~ Q-461; L-439 ~ Q-461; L-440 ~ Q-461; R-441 ~ Q-461; P-442 ~ Q-461; Y-443 ~ Q-461; I-444 ~ Q-461; E-445 ~ Q-461; Y-446 ~ Q-461; P-447 ~ Q-461; S-448 ~ Q-461; Y-449 ~ Q-461; N-450 ~ Q-461; E-451 ~ Q-461; Q-452 ~ Q-461; N-453 ~ Q-461; G-454 ~ Q-461; T-455 ~ Q-461; および/または P-456 ~ Q-461

10

20

30

から選択されるアミノ酸配列を含むか、このようなアミノ酸配列から構成されるポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドもまた、本発明によって包含され、同様に、1つ以上のこれらのポリペプチドに結合する抗体もまた本発明によって包含される。さらに、これらのポリペプチドのフラグメントおよび改変体（例えば、本明細書中に記載のフラグメント、これらのポリペプチドに対して少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であるポリペプチド、およびストリンジェントな条件下で、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドにハイブリダイズするポリヌクレオチド、またはその相補体によってコードされるポリペプチド）は、本発明によって包含される。本発明のこれらのフラグメントおよび改変体に結合する抗体もまた、本発明に包含される。これらのフラグメントおよび改変体をコードするポリヌクレオチドもまた、本発明に包含される。

40

【0209】

従って、本発明はさらに、一般式1-nによって記載されるように、図13A~C（配列

50

番号 20) に示されるポリペプチドのアミノ酸配列のカルボキシ末端から欠失した 1 以上の残基を有するポリペプチドを提供し、ここで、n は、7 ~ 460 の整数であり、n は、配列番号 20 において同定されたアミノ酸残基の位置に対応する。さらに、本発明は、以下の群の C 末端欠失から選択されるアミノ酸配列を含むか、あるいはそれらからなるポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する：

配列番号 20 の

【0210】

【化20】

M-1 ~ Q-460; M-1
 ~ K-459; M-1 ~ D-458; M-1 ~ R-457; M-1 ~ P-456; M-1 ~ T-455; M-1 ~ G-454; M-1 ~
 N-453; M-1 ~ Q-452; M-1 ~ E-451; M-1 ~ N-450; M-1 ~ Y-449; M-1 ~ S-448; M-1 ~ P-
 447; M-1 ~ Y-446; M-1 ~ E-445; M-1 ~ I-444; M-1 ~ Y-443; M-1 ~ P-442; M-1 ~ R-441;
 M-1 ~ L-440; M-1 ~ L-439; M-1 ~ G-438; M-1 ~ E-437; M-1 ~ F-436; M-1 ~ R-435; M-
 1 ~ C-434; M-1 ~ T-433; M-1 ~ L-432; M-1 ~ T-431; M-1 ~ Y-430; M-1 ~ I-429; M-1 ~
 L-428; M-1 ~ S-427; M-1 ~ Q-426; M-1 ~ D-425; M-1 ~ N-424; M-1 ~ I-423; M-1 ~ N-
 422; M-1 ~ F-421; M-1 ~ F-420; M-1 ~ S-419; M-1 ~ I-418; M-1 ~ T-417; M-1 ~ G-416;
 M-1 ~ C-415; M-1 ~ E-414; M-1 ~ Y-413; M-1 ~ D-412; M-1 ~ L-411; M-1 ~ F-410; M-
 1 ~ V-409; M-1 ~ G-408; M-1 ~ I-407; M-1 ~ K-406; M-1 ~ T-405; M-1 ~ P-404; M-1 ~
 P-403; M-1 ~ T-402; M-1 ~ R-401; M-1 ~ P-400; M-1 ~ F-399; M-1 ~ V-398; M-1 ~ S-
 397; M-1 ~ I-396; M-1 ~ F-395; M-1 ~ R-394; M-1 ~ P-393; M-1 ~ N-392; M-1 ~ L-391;
 M-1 ~ T-390; M-1 ~ F-389; M-1 ~ Y-388; M-1 ~ L-387; M-1 ~ H-386; M-1 ~ E-385; M-
 1 ~ G-384; M-1 ~ N-383; M-1 ~ L-382; M-1 ~ R-381; M-1 ~ L-380; M-1 ~ V-379; M-1
 ~ W-378; M-1 ~ Y-377; M-1 ~ G-376; M-1 ~ H-375; M-1 ~ D-374; M-1 ~ P-373; M-1 ~
 S-372; M-1 ~ L-371; M-1 ~ T-370; M-1 ~ V-369; M-1 ~ Y-368; M-1 ~ E-367; M-1 ~ K-
 366; M-1 ~ R-365; M-1 ~ R-364; M-1 ~ D-363; M-1 ~ V-362; M-1 ~ D-361; M-1 ~ D-
 360; M-1 ~ R-359; M-1 ~ C-358; M-1 ~ V-357; M-1 ~ G-356; M-1 ~ V-355; M-1 ~ R-
 354; M-1 ~ W-353; M-1 ~ R-352; M-1 ~ K-351; M-1 ~ N-350; M-1 ~ H-349; M-1 ~ G-
 348; M-1 ~ G-347; M-1 ~ D-346; M-1 ~ V-345; M-1 ~ E-344; M-1 ~ W-343; M-1 ~ Y-
 342; M-1 ~ H-341; M-1 ~ K-340; M-1 ~ G-339; M-1 ~ A-338; M-1 ~ Q-337; M-1 ~ F-
 336; M-1 ~ S-335; M-1 ~ Q-334; M-1 ~ S-333; M-1 ~ A-332; M-1 ~ V-331; M-1 ~ V-

10

20

30

(代20のつぎ)

330; M-1 ~ S-329; M-1 ~ K-328; M-1 ~ R-327; M-1 ~ T-326; M-1 ~ F-325; M-1 ~ R-324; M-1 ~ K-323; M-1 ~ E-322; M-1 ~ S-321; M-1 ~ H-320; M-1 ~ P-319; M-1 ~ V-318; M-1 ~ E-317; M-1 ~ Q-316; M-1 ~ P-315; M-1 ~ A-314; M-1 ~ K-313; M-1 ~ R-312; M-1 ~ H-311; M-1 ~ T-310; M-1 ~ V-309; M-1 ~ T-308; M-1 ~ K-307; M-1 ~ L-306; M-1 ~ D-305; M-1 ~ S-304; M-1 ~ V-303; M-1 ~ C-302; M-1 ~ L-301; M-1 ~ K-300; M-1 ~ P-299; M-1 ~ H-298; M-1 ~ A-297; M-1 ~ T-296; M-1 ~ E-295; M-1 ~ P-294; M-1 ~ D-293; M-1 ~ L-292; M-1 ~ I-291; M-1 ~ V-290; M-1 ~ E-289; M-1 ~ V-288; M-1 ~ A-287; M-1 ~ H-286; M-1 ~ K-285; M-1 ~ R-284; M-1 ~ A-283; M-1 ~ D-282; M-1 ~ R-281; M-1 ~ L-280; M-1 ~ E-279; M-1 ~ A-278; M-1 ~ Q-277; M-1 ~ G-276; M-1 ~ H-275; M-1 ~ K-274; M-1 ~ R-273; M-1 ~ R-272; M-1 ~ W-271; M-1 ~ D-270; M-1 ~ L-269; M-1 ~ E-268; M-1 ~ A-267; M-1 ~ Q-266; M-1 ~ I-265; M-1 ~ K-264; M-1 ~ W-263; M-1 ~ Q-262; M-1 ~ F-261; M-1 ~ K-260; M-1 ~ S-259; M-1 ~ F-258; M-1 ~ F-257; M-1 ~ I-256; M-1 ~ K-255; M-1 ~ L-254; M-1 ~ G-253; M-1 ~ V-252; M-1 ~ I-251; M-1 ~ G-250; M-1 ~ F-249; M-1 ~ F-248; M-1 ~ L-247; M-1 ~ G-246; M-1 ~ C-245; M-1 ~ C-244; M-1 ~ L-243; M-1 ~ I-242; M-1 ~ G-241; M-1 ~ L-240; M-1 ~ V-239; M-1 ~ K-238; M-1 ~ T-237; M-1 ~ A-236; M-1 ~ L-235; M-1 ~ H-234; M-1 ~ W-233; M-1 ~ S-232; M-1 ~ I-231; M-1 ~ P-230; M-1 ~ E-229; M-1 ~ F-228; M-1 ~ F-227; M-1 ~ T-226; M-1 ~ D-225; M-1 ~ G-224; M-1 ~ I-223; M-1 ~ Q-222; M-1 ~ V-221; M-1 ~ R-220; M-1 ~ S-219; M-1 ~ E-218; M-1 ~ V-217; M-1 ~ E-216; M-1 ~ R-215; M-1 ~ S-214; M-1 ~ L-213; M-1 ~ H-212; M-1 ~ A-211; M-1 ~ H-210; M-1 ~ R-209; M-1 ~ M-208; M-1 ~ S-207; M-1 ~ C-206; M-1 ~ S-205; M-1 ~ I-204; M-1 ~ S-203; M-1 ~ G-202; M-1 ~ A-201; M-1 ~ N-200; M-1 ~ E-199; M-1 ~ Q-198; M-1 ~ V-197; M-1 ~ T-196; M-1 ~ L-195; M-1 ~ S-194; M-1 ~ I-193; M-1 ~ E-192; M-1 ~ V-191; M-1 ~ D-190; M-1 ~ F-189; M-1 ~ L-188; M-1 ~ G-187; M-1 ~ H-186; M-1 ~ M-185; M-1 ~ D-184; M-1 ~ R-183; M-1 ~ N-182; M-1 ~ T-181; M-1 ~ R-180; M-1 ~ S-179; M-1 ~ D-178; M-1 ~ T-177; M-1 ~ S-176; M-1 ~ L-175; M-1 ~ D-174; M-1 ~ Q-173; M-1 ~ G-172; M-1 ~ Q-171; M-1 ~ P-170; M-1 ~ G-169; M-1 ~ K-168; M-1 ~ W-167; M-1 ~ K-166; M-1 ~ A-165; M-1 ~ T-164; M-1 ~ P-163; M-1 ~ R-162; M-1 ~ P-161; M-1 ~ F-160; M-1 ~ W-159; M-1 ~ G-158; M-1 ~ S-157; M-1 ~ S-156; M-1 ~ Q-155; M-1 ~ C-154; M-1 ~ L-153; M-1 ~ L-152; M-1 ~ Q-151; M-1 ~ I-150; M-1 ~ D-149; M-1 ~ R-148; M-1 ~ D-147; M-1 ~ V-146; M-1 ~ Y-145; M-1 ~ G-144; M-1 ~ T-143; M-1 ~ I-142; M-1 ~ S-141; M-1 ~ I-140; M-1 ~ L-139; M-1 ~ P-138; M-1 ~ V-137; M-1 ~ S-136; M-1 ~ G-135; M-1

10

20

30

(1つ20のつぎ)

~L-134; M-1 ~A-133; M-1 ~S-132; M-1 ~V-131; M-1 ~Q-130; M-1 ~L-129; M-1 ~E-128; M-1 ~W-127; M-1 ~I-126; M-1 ~A-125; M-1 ~K-124; M-1 ~Q-123; M-1 ~Y-122; M-1 ~Y-121; M-1 ~S-120; M-1 ~Q-119; M-1 ~S-118; M-1 ~S-117; M-1 ~I-116; M-1 ~R-115; M-1 ~C-114; M-1 ~G-113; M-1 ~Y-112; M-1 ~L-111; M-1 ~G-110; M-1 ~A-109; M-1 ~D-108; M-1 ~L-107; M-1 ~V-106; M-1 ~T-105; M-1 ~I-104; M-1 ~N-103; M-1 ~E-102; M-1 ~L-101; M-1 ~R-100; M-1 ~L-99; M-1 ~S-98; M-1 ~I-97; M-1 ~R-96; M-1 ~G-95; M-1 ~E-94; M-1 ~A-93; M-1 ~I-92; M-1 ~S-91; M-1 ~D-90; M-1 ~K-89; M-1 ~V-88; M-1 ~L-87; M-1 ~K-86; M-1 ~T-85; M-1 ~R-84; M-1 ~G-83; M-1 ~Q-82; M-1 ~Y-81; M-1 ~Q-80; M-1 ~P-79; M-1 ~M-78; M-1 ~Q-77; M-1 ~M-76; M-1 ~F-75; M-1 ~P-74; M-1 ~Q-73; M-1 ~D-72; M-1 ~K-71; M-1 ~G-70; M-1 ~D-69; M-1 ~R-68; M-1 ~Y-67; M-1 ~L-66; M-1 ~H-65; M-1 ~V-64; M-1 ~V-63; M-1 ~S-62; M-1 ~S-61; M-1 ~F-60; M-1 ~Q-59; M-1 ~G-58; M-1 ~R-57; M-1 ~F-56; M-1 ~F-55; M-1 ~R-54; M-1 ~V-53; M-1 ~E-52; M-1 ~M-51; M-1 ~A-50; M-1 ~E-49; M-1 ~A-48; M-1 ~N-47; M-1 ~T-46; M-1 ~K-45; M-1 ~P-44; M-1 ~S-43; M-1 ~L-42; M-1 ~F-41; M-1 ~C-40; M-1 ~S-39; M-1 ~F-38; M-1 ~A-37; M-1 ~A-36; M-1 ~D-35; M-1 ~E-34; M-1 ~G-33; M-1 ~V-32; M-1 ~L-31; M-1 ~A-30; M-1 ~Q-29; M-1 ~V-28; M-1 ~P-27; M-1 ~K-26; M-1 ~D-25; M-1 ~P-24; M-1 ~G-23; M-1 ~F-22; M-1 ~V-21; M-1 ~Q-20; M-1 ~W-19; M-1 ~Q-18; M-1 ~G-17; M-1 ~S-16; M-1 ~G-15; M-1 ~L-14; M-1 ~K-13; M-1 ~L-12; M-1 ~L-11; M-1 ~S-10; M-1 ~L-9; M-1 ~V-8; M-1 ~L-7

10

20

これらのペプチドをコードするポリヌクレオチドはまた、1つ以上のこれらのポリペプチドに結合する抗体と同様に、本発明によって包含される。さらに、これらのポリペプチドのフラグメントおよび改変体（例えば、本明細書中に記載されるフラグメント、これらのポリペプチドに対して少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%同一なポリペプチド、およびストリンジェントな条件下でこれらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドにハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド、またはそれらの相補体）が、本発明により含まれる。本発明のこれらのフラグメントおよび改変体に結合する抗体もまた、本発明に含まれる。これらのフラグメントおよび改変体をコードするポリヌクレオチドもまた、本発明により含まれる。

30

40

【0211】

また、上で述べたように、1以上のアミノ酸の、タンパク質のC末端からの欠失が、このタンパク質の1以上の生物学的機能（例えば、混合リンパ球反応を阻害する能力）の欠失という改変を生じたとしても、他の機能活性（例えば、生物学的活性、多量体化する能力、レセプターに結合する能力、抗体を産生する能力、抗体に結合する能力）はなお、維持され得る。例えば、ポリペプチドの完全形態または成熟形態を認識する抗体を誘導および/またはこれに結合する短縮化ポリペプチドの能力は、完全ポリペプチドまたは成熟ポリペプチドの過半数の残基より少ない残基が、C末端から除去される場合、一般に維持される。完全ポリペプチドのC末端残基を欠失する特定のポリペプチドが、このような免疫学的活性を維持するか否かは、本明細書中に記載されるかそうでなければ当該分野で公知の慣用的な方法によって容易に決定され得る。多くの欠失されたC末端アミノ酸残基を有するポリペプチドが、幾らかの生物学的活性または免疫学的活性を維持し得ることは、ありそうにないわけではない。実際に、わずか6個のアミノ酸残基から構成されるペプチドは、しばしば、免疫応答を引き起こし得る。

【0212】

50

より詳細には、本発明は、B7-H13タンパク質の成熟細胞外部分のN末端欠失の群から選択されるアミノ酸配列（配列番号49）を含むか、あるいはこれらからなるポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する：

配列番号20の

【0213】

【化21】

W-19～V-239; Q-20～V-239; V-21～V-239; F-22～V-239; G-23～V-239; P-24～V-239; D-25～V-239; K-26～V-239; P-27～V-239; V-28～V-239; Q-29～V-239; A-30～V-239; L-31～V-239; V-32～V-239; G-33～V-239; E-34～V-239; D-35～V-239; A-36～V-239; A-37～V-239; F-38～V-239; S-39～V-239; C-40～V-239; F-41～V-239; L-42～V-239; S-43～V-239; P-44～V-239; K-45～V-239; T-46～V-239; N-47～V-239; A-48～V-239; E-49～V-239; A-50～V-239; M-51～V-239; E-52～V-239; V-53～V-239; R-54～V-239; F-55～V-239; F-56～V-239; R-57～V-239; G-58～V-239; Q-59～V-239; F-60～V-239; S-61～V-239; S-62～V-239; V-63～V-239; V-64～V-239; H-65～V-239; L-66～V-239; Y-67～V-239; R-68～V-239; D-69～V-239; G-70～V-239; K-71～V-239; D-72～V-239; Q-73～V-239; P-74～V-239; F-75～V-239; M-76～V-239; Q-77～V-239; M-78～V-239; P-79～V-239; Q-80～V-239; Y-81～V-239; Q-82～V-239; G-83～V-239; R-84～V-239; T-85～V-239; K-86～V-239; L-87～V-239; V-88～V-239; K-89～V-239; D-90～V-239; S-91～V-239; I-92～V-239; A-93～V-239; E-94～V-239; G-95～V-239; R-96～V-239; I-97～V-239; S-98～V-239; L-99～V-239; R-100～V-239; L-101～V-239; E-102～V-239; N-103～V-239; I-104～V-239; T-105～V-239; V-106～V-239; L-107～V-239; D-108～V-239; A-109～V-239; G-110～V-239; L-111～V-239; Y-112～V-239; G-113～V-239; C-114～V-239; R-115～V-239; I-116～V-239; S-117～V-239; S-118～V-239; Q-119～V-239; S-120～V-239; Y-121～V-239;

10

20

(12) のつぎ)

Y-122 ~ V-239; Q-123 ~ V-239; K-124 ~ V-239; A-125 ~ V-239; I-126 ~ V-239; W-127 ~ V-239; E-128 ~ V-239; L-129 ~ V-239; Q-130 ~ V-239; V-131 ~ V-239; S-132 ~ V-239; A-133 ~ V-239; L-134 ~ V-239; G-135 ~ V-239; S-136 ~ V-239; V-137 ~ V-239; P-138 ~ V-239; L-139 ~ V-239; I-140 ~ V-239; S-141 ~ V-239; I-142 ~ V-239; T-143 ~ V-239; G-144 ~ V-239; Y-145 ~ V-239; V-146 ~ V-239; D-147 ~ V-239; R-148 ~ V-239; D-149 ~ V-239; I-150 ~ V-239; Q-151 ~ V-239; L-152 ~ V-239; L-153 ~ V-239; C-154 ~ V-239; Q-155 ~ V-239; S-156 ~ V-239; S-157 ~ V-239; G-158 ~ V-239; W-159 ~ V-239; F-160 ~ V-239; P-161 ~ V-239; R-162 ~ V-239; P-163 ~ V-239; T-164 ~ V-239; A-165 ~ V-239; K-166 ~ V-239; W-167 ~ V-239; K-168 ~ V-239; G-169 ~ V-239; P-170 ~ V-239; Q-171 ~ V-239; G-172 ~ V-239; Q-173 ~ V-239; D-174 ~ V-239; L-175 ~ V-239; S-176 ~ V-239; T-177 ~ V-239; D-178 ~ V-239; S-179 ~ V-239; R-180 ~ V-239; T-181 ~ V-239; N-182 ~ V-239; R-183 ~ V-239; D-184 ~ V-239; M-185 ~ V-239; H-186 ~ V-239; G-187 ~ V-239; L-188 ~ V-239; F-189 ~ V-239; D-190 ~ V-239; V-191 ~ V-239; E-192 ~ V-239; I-193 ~ V-239; S-194 ~ V-239; L-195 ~ V-239; T-196 ~ V-239; V-197 ~ V-239; Q-198 ~ V-239; E-199 ~ V-239; N-200 ~ V-239; A-201 ~ V-239; G-202 ~ V-239; S-203 ~ V-239; I-204 ~ V-239; S-205 ~ V-239; C-206 ~ V-239; S-207 ~ V-239; M-208 ~ V-239; R-209 ~ V-239; H-210 ~ V-239; A-211 ~ V-239; H-212 ~ V-239; L-213 ~ V-239; S-214 ~ V-239; R-215 ~ V-239; E-216 ~ V-239; V-217 ~ V-239; E-218 ~ V-239; S-219 ~ V-239; R-220 ~ V-239; V-221 ~ V-239; Q-222 ~ V-239; I-223 ~ V-239; G-224 ~ V-239; D-225 ~ V-239; T-226 ~ V-239; F-227 ~ V-239; F-228 ~ V-239; E-229 ~ V-239; P-230 ~ V-239; I-231 ~ V-239; S-232 ~ V-239; W-233 ~ V-239; ~~W-234~~ H-234 ~ V-239

10

20

これらのペプチドをコードするポリヌクレオチドはまた、1つ以上のこれらのポリペプチドに結合する抗体と同様に、本発明によって包含される。さらに、これらのポリペプチドのフラグメントおよび改変体（例えば、本明細書中に記載されるフラグメント、これらのポリペプチドに対して少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%同一なポリペプチド、およびストリンジェントな条件下でこれらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドにハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド、またはそれらの相補体）が、本発明により含まれる。本発明のこれらのフラグメントおよび改変体に結合する抗体もまた、本発明に含まれる。これらのフラグメントおよび改変体をコードするポリヌクレオチドもまた、本発明により含まれる。

30

【0214】

さらに、本発明は、B7-H13タンパク質の成熟細胞外部分のC末端欠失の群から選択されるアミノ酸配列（配列番号49）を含むか、あるいはこれらからなるポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する：

40

配列番号20の

【0215】

【化22】

Q-18 ~ K-238; Q-18 ~ T-237; Q-18 ~ A-236; Q-18 ~ L-235; Q-18 ~ H-234; Q-18 ~ W-233; Q-18 ~ S-232; Q-18 ~ I-231; Q-18 ~ F-230; Q-18 ~ E-229; Q-18 ~ F-228; Q-18 ~ F-227; Q-18 ~ T-226; Q-18 ~ D-225; Q-18 ~ G-224; Q-18 ~ I-223; Q-18 ~ Q-222; Q-18 ~ V-221; Q-18 ~ R-220; Q-18 ~ S-219; Q-18 ~ E-218; Q-18 ~ V-217; Q-18 ~ E-216; Q-18 ~ R-215; Q-18 ~ S-214; Q-18 ~ L-213; Q-18 ~ H-212; Q-18 ~ A-211; Q-18 ~ H-210; Q-18 ~ R-209; Q-18 ~ M-208; Q-18 ~ S-207; Q-18 ~ C-206; Q-18 ~ S-205; Q-18 ~ I-204; Q-18 ~ S-203; Q-18 ~ G-202; Q-18 ~ A-201; Q-18 ~ N-200; Q-18 ~ E-199; Q-18 ~ Q-198; Q-18 ~ V-197; Q-18 ~ T-196; Q-18 ~ L-195; Q-18 ~ S-194; Q-18 ~ I-193; Q-18 ~ E-192; Q-18 ~ V-191; Q-18 ~ D-190; Q-18 ~ F-189; Q-18 ~ L-188; Q-18 ~ G-187; Q-18 ~ H-186; Q-18 ~ M-185; Q-18 ~ D-184; Q-18 ~ R-183; Q-18 ~ N-182; Q-18 ~ T-181; Q-18 ~ R-180; Q-18 ~ S-179; Q-18 ~ D-178; Q-18 ~ T-177; Q-18 ~ S-176; Q-18 ~ L-175; Q-18 ~ D-174; Q-18 ~ Q-173; Q-18 ~ G-172; Q-18 ~ Q-171; Q-18 ~ P-170; Q-18 ~ G-169; Q-18 ~ K-168; Q-18 ~ W-167; Q-18 ~ K-166; Q-18 ~ A-165; Q-18 ~ T-164; Q-18 ~ P-163; Q-18 ~ R-162; Q-18 ~ P-161; Q-18 ~ F-160; Q-18 ~ W-159; Q-18 ~ G-158; Q-18 ~ S-157; Q-18 ~ S-156; Q-18 ~ Q-155; Q-18 ~ C-154; Q-18 ~ L-153; Q-18 ~ L-152; Q-18 ~ Q-151; Q-18 ~ I-150; Q-18 ~ D-149; Q-18 ~ R-148; Q-18 ~ D-147; Q-18 ~ V-146; Q-18 ~ Y-145; Q-18 ~ G-144; Q-18 ~ T-143; Q-18 ~ I-142; Q-18 ~ S-141; Q-18 ~ I-140; Q-18 ~ L-139; Q-18 ~ P-138; Q-18 ~ V-137; Q-18 ~ S-136; Q-18 ~ G-135; Q-18 ~ L-134; Q-18 ~ A-133; Q-18 ~ S-132; Q-18 ~ V-131; Q-18 ~ Q-130; Q-18 ~ L-129; Q-18 ~ E-128; Q-18 ~ W-127; Q-18 ~ I-126; Q-18 ~ A-125; Q-18 ~ K-124; Q-18 ~ Q-123; Q-18 ~ Y-122; Q-18 ~ Y-121; Q-18 ~ S-120; Q-18 ~ Q-119; Q-18 ~ S-118; Q-18 ~ S-117; Q-18 ~ I-116; Q-18 ~ R-115; Q-18 ~ C-114; Q-18 ~ G-113; Q-18 ~ Y-112; Q-18 ~ L-111; Q-18 ~ G-110; Q-18 ~ A-109; Q-18 ~ D-108; Q-18 ~ L-107; Q-18 ~ V-106; Q-18 ~ T-105; Q-18 ~ I-104; Q-18 ~ N-103; Q-18 ~ E-102; Q-18 ~ L-101; Q-18 ~ R-100; Q-18 ~ L-99; Q-18 ~ S-98; Q-18 ~ I-97; Q-18 ~ R-96; Q-18 ~ G-95; Q-18 ~ E-94; Q-18 ~ A-93; Q-18 ~ I-92; Q-18 ~ S-91; Q-18 ~ D-90; Q-18 ~ K-89; Q-18 ~ V-88; Q-18 ~ L-87; Q-18 ~ K-86; Q-18 ~ T-85; Q-18 ~ R-84; Q-18 ~ G-83; Q-18 ~ Q-82; Q-18 ~ Y-81; Q-18 ~ Q-80; Q-18 ~ P-79; Q-18 ~ M-78; Q-18 ~ Q-77; Q-18 ~ M-76; Q-18 ~ F-75; Q-18 ~ P-74; Q-18 ~ Q-73; Q-18 ~ D-72; Q-18 ~ K-71; Q-18 ~ G-70; Q-18 ~ D-69; Q-18 ~ R-68; Q-18 ~ Y-67; Q-18 ~ L-66; Q-18 ~ H-65; Q-18 ~ V-64; Q-18 ~ V-63; Q-18 ~ S-62; Q-18 ~ S-61; Q-18 ~ F-60; Q-18 ~ Q-59; Q-18 ~ G-58; Q-18 ~ R-57; Q-18 ~ F-56; Q-18 ~ F-55; Q-18

10

20

30

(イ(22)のつぎ)

~ R-54; Q-18 ~ V-53; Q-18 ~ E-52; Q-18 ~ M-51; Q-18 ~ A-50; Q-18 ~ E-49; Q-18 ~ A-48; Q-18 ~ N-47; Q-18 ~ T-46; Q-18 ~ K-45; Q-18 ~ P-44; Q-18 ~ S-43; Q-18 ~ L-42; Q-18 ~ F-41; Q-18 ~ C-40; Q-18 ~ S-39; Q-18 ~ F-38; Q-18 ~ A-37; Q-18 ~ A-36; Q-18 ~ D-35; Q-18 ~ E-34; Q-18 ~ G-33; Q-18 ~ V-32; Q-18 ~ L-31; Q-18 ~ A-30; Q-18 ~ Q-29; Q-18 ~ V-28; Q-18 ~ P-27; Q-18 ~ K-26; Q-18 ~ D-25; ~~Q-18 ~ P-24~~ Q-18 ~ P-24

40

これらのペプチドをコードするポリヌクレオチドはまた、1つ以上のこれらのポリペプチドに結合する抗体と同様に、本発明によって包含される。さらに、これらのポリペプチドのフラグメントおよび改変体(例えば、本明細書中に記載されるフラグメント、これらのポリペプチドに対して少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%同一なポリペプチド、およびストリンジентな条件下でこれらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドにハイブリダイズするポリヌクレオチドによっ

50

てコードされるポリペプチド、またはそれらの相補体)が、本発明により含まれる。本発明のこれらのフラグメントおよび改変体に結合する抗体もまた、本発明に含まれる。これらのフラグメントおよび改変体をコードするポリヌクレオチドもまた、本発明により含まれる。

【0216】

さらに、上に列挙した任意のN末端欠失またはC末端欠失は、N末端欠失およびC末端欠失ポリペプチドを産生するために結合され得る。本発明はまた、配列番号20の残基m-nを有するように一般的に記載され得る、アミノ末端およびカルボキシル末端の両方を欠失した1以上のアミノ酸を含むか、あるいはこれらからなるポリペプチドを提供し、mおよびnは、上記のような整数である。これらのポリペプチドのフラグメントおよび/または改変体(例えば、本明細書中で記載されるフラグメントおよび/または改変体)は、本発明に含まれる。これらのポリペプチド(フラグメントおよび/または改変体を含む)をコードするポリヌクレオチドはまた、これらのポリペプチドに結合する抗体と同様に、本発明に含まれる。

10

【0217】

本発明はまた、本明細書中でm-nとして記載されるポリペプチド配列に対して少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%同一なポリペプチドを含むタンパク質に関する。好ましい実施形態において、本願は、本明細書中で記載される特定のN末端欠失およびC末端欠失のアミノ酸配列を有するポリペプチドに対して少なくとも80%、85%、90%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%同一なポリペプチドを含むタンパク質に関する。これらのポリペプチドのフラグメントおよび/または改変体(例えば、本明細書中に記載されるフラグメントおよび/または改変体)は、本発明に含まれる。これらのポリペプチド(フラグメントおよび/または改変体を含む)をコードするポリヌクレオチドもまた、これらのポリペプチドに結合する抗体と同様に、本発明に含まれる。

20

【0218】

ATCC受託番号PTA-2332に含まれるcDNAクローンによってコードされる完全アミノ酸配列の部分からなるポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列もまた含まれ、ここで、この部分はATCC受託番号PTA-2332に含まれるcDNAクローンによってコードされる完全アミノ酸配列のアミノ末端からのアミノ酸残基1~約455のアミノ酸の任意の整数、またはカルボキシル末端からのアミノ酸残基1~約455のアミノ酸の任意の整数、あるいはATCC受託番号PTA-2332に含まれるcDNAクローンによってコードされる完全アミノ酸配列の上記のアミノ末端およびカルボキシル末端の欠失の任意の組み合わせを除外する。これらのポリヌクレオチドによりコードされるポリペプチドもまた、本発明に含まれる。

30

【0219】

本明細書中に記載されるかまたはそうでなければ当該分野で公知であるように、本発明のポリヌクレオチドは、染色体同定、染色体地図作成および連鎖分析におけるプローブまたはプライマーとしての働きを含むが、これに限定されない用途を有する。

【0220】

この遺伝子は、小腸組織および結腸組織において発現されることが発見された。

40

【0221】

この遺伝子に対応するポリヌクレオチド、翻訳産物および抗体は、生物学的サンプル中に存在する胃腸系組織または細胞型の差次的同定のための試薬として、および疾患および状態(これには、免疫系の活性化、刺激および/またはサーベイランス、特に、樹状細胞、好中球および白血球のような他の免疫系細胞に加えて、T細胞を含む疾患および/または障害、ならびに胃腸系の疾患および/または障害が挙げられるが、これらに限定されない)の診断のための試薬として有用である。同様に、ポリペプチドおよびこれらのポリペプチドに指向される抗体は、組織または細胞型の差次的同定のための免疫学的プローブを提供する際に有用である。B7-H13タンパク質の活性に対するアンタゴニストとして作

50

用するこのタンパク質の細胞外部分に対する抗体の使用が特に企図される。このようなアンタゴニストの抗体は、本明細書中で開示されるように（例えば、T細胞調節活性）、このような生物学的活性の予防および/または阻害のために有用である。

【0222】

上記組織または細胞、特に胃腸系および免疫系の多くの障害に関して、標準の遺伝子発現レベル（すなわち、障害を有さない個体由来の健常組織または体液中の発現レベル）に対して有意により高いまたはより低いレベルのこの遺伝子の発現が、このような障害を有する個体から採取された特定の組織もしくは細胞型（例えば、胃腸組織、神経組織、癌組織および創傷組織）または体液（例えば、リンパ、血清、血漿、尿、滑液、および髄液）、または別の組織もしくは細胞サンプルの中で、慣用的に検出され得る。

10

【0223】

リガンドのB7ファミリーのメンバーに対する相同性は、この遺伝子に対応するポリヌクレオチド、翻訳産物および抗体が、特に、T細胞、好中球、樹状細胞、白血球および他の免疫系細胞に関する免疫系の活性化、刺激および/またはサーベイランスを含む、疾患および/または障害の診断、検出および/または処置のために有用であることを示す。特に、B7-H13遺伝子の翻訳産物は、ICOSに結合するT細胞の同時刺激に関連し得、そして/または例えば、特定のサイトカインの発現の調節において役割を果たし得る。

【0224】

より一般的には、免疫系細胞における組織分布は、この遺伝子産物が、サイトカイン産生、抗原提示、または癌の処置（例えば、免疫応答をブーストすることによって）における有用性もまた示唆し得る他のプロセスの調節に関与し得ることを示す。この遺伝子は、免疫系起源の細胞において発現されるため、この遺伝子に対応するポリヌクレオチド、翻訳産物および抗体は、上記の組織に対する腫瘍マーカーおよび/または免疫治療標的としての有用性を示し得る。

20

【0225】

この遺伝子に対応するポリヌクレオチド、翻訳産物および抗体はまた、以下を含む免疫学的障害のための因子として使用され得る：関節炎、喘息、免疫欠損疾患（例えば、AIDS）、白血病、リウマチ様動脈炎、炎症性腸疾患、敗血症、挫瘡、および乾癬。さらに、この遺伝子産物は、様々な血液系統の幹細胞および関係付けられた前駆体の拡大、ならびに様々な細胞型の分化および/または増殖における商業的有用性を有し得る。さらに、この遺伝子に対応するポリヌクレオチド、翻訳産物および抗体は、上記の組織に対する腫瘍マーカーおよび/または免疫治療標的としての有用性を示し得る。さらに、このタンパク質をまた使用して、栄養補給剤としてのその使用に加えて、生物学的活性を決定し、抗体を腫瘍マーカーとして惹起し、同族リガンドまたはレセプターを単離し、これらの相互作用を調節する因子を同定し得る。

30

【0226】

胃腸組織における発現は、この遺伝子に対応するポリヌクレオチド、翻訳産物および抗体が、小腸を含む障害の診断および/または処置のために有用であることを示す。これは、消化および食物吸収に関連する疾患、ならびに小腸のパイアー斑または体内の他の造血細胞および組織を含む造血障害を含み得る。同様に、結腸組織におけるこの遺伝子産物の発現はまた、食物の消化、処理および排泄における関与、ならびに結腸癌、および一般的な癌の発生における診断マーカーまたは原因因子としてのこの遺伝子の潜在的な役割を示唆する。さらに、この遺伝子に対応する翻訳産物ならびにこれらの翻訳産物に対する抗体は、上記の組織に対する腫瘍マーカーおよび/または免疫治療標的としての有用性を示し得る。

40

【0227】

【表1】

表1

遺伝子 No.	cDNA プラスミド V	ATCC 寄託 番号 および 日付	ベクター	NT 配列 番号 X	総 NT 配列	70- 配列 の 5'NT	70- 配列 の 3'NT	開始 コドン の 3'NT	AA 配列 番号 Y	ORF の 数 の AA
1	HE8NC81	PTA-2332 08/07/00	Uni-ZAP XR	2	3357	1	3357	419	14	282
1	HE8NC81	PTA-2332 08/07/00	Uni-ZAP XR	9	2626	1	2626	74	21	13
2	HDPPA04	PTA-2332 08/07/00	pCMVSPor t3.0	3	2406	1	2406	271	15	283
2	HDPPA04	PTA-2332 08/07/00	pCMVSPor t3.0	10	1675	1	1613		22	23
2	HDPPA04	PTA-2332 08/07/00	pCMVSPor t3.0	11	786	1	786	261	23	93
3	HTTDB46	PTA-2332 08/07/00	Uni-ZAP XR	4	3059	1	3059	55	16	318
3	HTTDB46	PTA-2332 08/07/00	Uni-ZAP XR	12	2008	215	2008	153	24	461
4	HCECR39	PTA-2332 08/07/00	Uni-ZAP XR	5	2682	1	2682	135	17	454
4	HCECR39	PTA-2332 08/07/00	Uni-ZAP XR	13	2799	122	2799	249	25	402
5	HCE2X64	PTA-2332 08/07/00	Uni-ZAP XR	6	1726	1	1726	219	18	414
6	HEMFH17	PTA-2332 08/07/00	Uni-ZAP XR	7	1021	1	1021	135	19	159
7	HSIDS22	PTA-2332 08/07/00	Uni-ZAP XR	8	1835	1	1835	9	20	461

表1は、上記の各「遺伝子番号」に対応する情報を要約する。「ヌクレオチド配列番号X」として同定されるヌクレオチド配列は、表1において同定される「cDNAプラスミド：V」から、およびいくつかの場合において、さらなる関連のDNAクローンから得られる部分的に相同な（「重複する」）配列から構築された。重複する配列は、高い重複性の単一の連続した配列に構築され（通常、各ヌクレオチド部位で3～5個の重複する配列）、配列番号Xとして同定される最終的な配列を得た。

【0228】

cDNAプラスミド：Vは、その日付に寄託され、そして「ATCC受託番号Zおよび日付」において列挙される対応する受託番号が与えられた。寄託物のいくつかは、同じ遺伝子に対応する複数の異なるクローンを含む。「ベクター」とは、cDNAプラスミド：Vにおいて含まれるベクターの型をいう。

【0229】

「総ヌクレオチド配列」は、「遺伝子番号」によって同定されるコンティグにおけるヌクレオチドの総数をいう。寄託されたプラスミドは、これらの配列の全てを含み得、これらは、配列番号Xの「クローン配列の5'ヌクレオチド」および「クローン配列の3'ヌクレオチド」として示されるヌクレオチドの位置によって反映される。（存在する場合）推定開始コドン（メチオニン）の配列番号Xのヌクレオチドの位置は、「開始コドンの5'ヌクレオチド」として同定される。同様に、（存在する場合）推定シグナル配列の配列番号Xのヌクレオチドの位置は、「シグナルペプチドの最初のアミノ酸の5'ヌクレオチド」として同定される。

【0230】

翻訳されたアミノ酸配列は、ポリヌクレオチド配列の最初の翻訳コドンで始まり、「アミノ酸配列番号Y」として同定されるが、他のリーディングフレームもまた、公知の分子生物学技術を使用して容易に翻訳され得る。これらの代替のオープンリーディングフレーム

によって生成されるポリペプチドは、本発明によって特に意図される。

【0231】

配列番号 X (ここで X は、配列表に開示される任意のポリヌクレオチド配列であり得る) および翻訳された配列番号 Y (ここで Y は、配列表に開示される任意のポリペプチド配列であり得る) は、十分に正確であり、そしてそうでなければ、当該分野において周知の種々の用途および以下でさらに記載される種々の用途に適切である。例えば、配列番号 X は、配列番号 X において含まれる核酸配列または寄託されたプラスミドに含まれる cDNA を検出する核酸ハイブリダイゼーションプローブの設計を含むがこれに限定されない用途を有する。これらのプローブはまた、生物学的サンプル中の核酸分子にハイブリダイズし、それによって本発明の種々の法医学的方法、および診断方法を可能にする。同様に、配列番号 Y から同定されるポリペプチドは、例えば、表 1 において同定される cDNA クローンによってコードされる分泌タンパク質に特異的に結合する抗体を作製 (これに限定されない) するために使用され得る。

10

【0232】

それにもかかわらず、配列決定反応によって生成される DNA 配列は、配列決定のエラーを含み得る。このエラーは、誤って同定されたヌクレオチドとして、または生成された DNA 配列におけるヌクレオチドの挿入もしくは欠失として存在する。誤って挿入されたか、または欠失されたヌクレオチドは、推定アミノ酸配列のリーディングフレームにおいてフレームシフトを引き起こす。これらの場合において、作製される DNA 配列が、実際の DNA 配列と 99.9% (例えば、1000 塩基を超えるオープンリーディングフレームにおける 1 塩基の挿入または欠失) を超えて同一であり得るとしても、推定アミノ酸配列は、実際のアミノ酸配列とは異なる。

20

【0233】

従って、ヌクレオチド配列またはアミノ酸配列における正確さを必要とするこれらの適用のために、本発明は、SEQ ID NO: X として同定される作製されたヌクレオチド配列、および SEQ ID NO: Y として同定される推定の翻訳されたアミノ酸配列のみならず、表 1 において記載されるような、ATCC に寄託された本発明のヒト cDNA を含むプラスミド DNA のサンプルもまた提供する。各々の寄託されたプラスミドのヌクレオチド配列は、公知の方法に従って、寄託されたプラスミドを配列決定することによって容易に決定され得る。

30

【0234】

次いで、推定アミノ酸配列は、このような寄託物から証明され得る。さらに、特定のプラスミドによってコードされるタンパク質のアミノ酸配列はまた、ペプチド配列決定によって、または寄託されたヒト cDNA を含む適切な宿主細胞中でタンパク質を発現させ、このタンパク質を収集し、そしてその配列を決定することによって、直接的に決定され得る。

【0235】

また、cDNA プラスミドを含むベクターの名前は、表 1 に提供される。各ベクターは、当該分野で慣用的に使用される。以下のさらなる情報は、利便性のために提供される。

【0236】

ベクター Lambda Zap (米国特許第 5,128,256 号および同第 5,286,636 号)、Uni-Zap XR (米国特許第 5,128,256 号および同第 5,286,636 号)、Zap Express (米国特許第 5,128,256 号および同第 5,286,636 号) pBluescript (pBS) (Short, J. M. ら、Nucleic Acids Res. 16:7583-7600 (1988)); Altting-Mees, M. A. および Short, J. M.、Nucleic Acids Res. 17:9494 (1989)) ならびに pBK (Altting-Mees, M. A. ら、Strategies 5:58-61 (1992)) は、Stratagene Cloning Systems, Inc.、11011 N. Torrey Pines Road, La Jolla, CA, 92037 から市販されている

40

50

。pBSは、アンピシリン耐性遺伝子を含み、そしてpBKはネオマイシン耐性遺伝子を含む。ファージミドpBSは、ZapベクターおよびUni-Zap XRベクターから切り出され得、そしてファージミドpBKは、Zap発現ベクターから切り出され得る。両方のファージミドは、E. coli株XL-1 Blue（これもまた、Stratageneから入手可能である）に形質転換され得る。

【0237】

ベクターpSport1、pCMVSport 1.0、pCMVSport 2.0およびpCMVSport 3.0は、Life Technologies、Inc.、P.O. Box 6009、Gaithersburg, MD 20897から得られた。全てのSportベクターはアンピシリン耐性遺伝子を含み、そしてE. coli株DH10B（これもまた、Life Technologiesから入手可能である）に形質転換され得る。例えば、Gruber, C.E.ら、Focus 15:59 (1993)を参照のこと。ベクターlafmid BA (Bento Soares、Columbia University、New York, NY)は、アンピシリン耐性遺伝子を含み、そしてE. coli株XL-1 Blueに形質転換され得る。ベクターpCR (登録商標) 2.1 (これはInvitrogen、1600 Faraday Avenue、Carlsbad、CA 92008から入手可能である)は、アンピシリン耐性遺伝子を含み、そしてE. coli株DH10B (Life Technologiesから入手可能である)に形質転換され得る。例えば、Clark, J.M.、Nuc. Acids Res. 16:9677-9686 (1988)およびMead, D.ら、Bio/Technology 9:(1991)を参照のこと。

【0238】

本発明はまた、配列番号X、配列番号Y、および/または寄託されたプラスミド(cDNAプラスミド:V)に対応する遺伝子に関する。対応する遺伝子は、本明細書中に開示される配列情報を使用して、公知の方法に従って単離され得る。このような方法は、開示された配列からプローブまたはプライマーを調製する工程、およびゲノム物質の適切な供給源から対応する遺伝子を同定または増幅する工程を包含するが、これらに限定されない。

【0239】

本発明においてまた提供されるものは、対立遺伝子改変体、オルトログ(ortholog)、および/または種相同体である。当該分野において公知である手順は、本明細書中に開示された配列またはATCCに寄託されたクローンからの情報を用いて、配列番号X、配列番号Y、および/またはcDNAプラスミド:Vに対応する遺伝子の全長遺伝子、対立遺伝子改変体、スプライス改変体、全長コード部分、オルトログ、および/または種相同体を得るために使用され得る。例えば、対立遺伝子改変体および/または種相同体は、本明細書中に提供される配列から適切なプローブまたはプライマーを作製し、そして対立遺伝子改変体および/または所望の相同体について適切な核酸供給源をスクリーニングすることにより単離および同定され得る。

【0240】

本発明は、配列番号Xの核酸配列および/またはcDNAプラスミド:Vを含むか、または代替的にこれらからなるポリヌクレオチドを提供する。本発明はまた、配列番号Yのポリペプチド配列、配列番号Xによりコードされるポリペプチド、および/またはcDNAプラスミド:V中のcDNAによりコードされるポリペプチドを含むか、または代替的にこれらからなるポリペプチドを提供する。配列番号Yのポリペプチド配列、配列番号Xによりコードされるポリペプチド、および/またはcDNAプラスミド:V中のcDNAによりコードされるポリペプチドを含むか、または代替的にこれらからなるポリペプチドをコードするポリヌクレオチドもまた、本発明により包含される。本発明はさらに、配列番号Xの核酸配列の相補体、および/またはcDNAプラスミド:V中のcDNAのコード鎖の相補体を含むか、または代替的にこれらからなるポリヌクレオチドを包含する。

【0241】

多くのポリヌクレオチド配列(例えば、EST配列)は、公に利用可能であり、そして配

列データベースを通してアクセス可能であり、そして本発明の着想の前に公に利用可能であったかもしれない。好ましくは、このような関連するポリヌクレオチドは、本発明の範囲から特に除外される。全ての関連配列を列挙することは、本出願の開示では非常に煩わしい。従って、好ましくは、配列番号 X は、一般式 a - b により記載されるヌクレオチド配列（ここで、a は配列番号 X の 1 と配列番号 X の最終ヌクレオチド - 15 との間の任意の整数であり、b は 15 ~ 配列番号 X の最終ヌクレオチドの整数であり、ここで a および b の両方は配列番号 X に示されるヌクレオチド残基の位置に対応し、そしてここで b は a + 14 以上である）を含む 1 つ以上のポリヌクレオチドが除外される。

【0242】

（全長遺伝子の回収のための RACE プロトコル）

部分的 cDNA クローンは、Frohman, M. A. ら、Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA, 85: 8998 - 9002 (1988) に記載された cDNA 末端の高速増幅 (RACE) 手順を利用することにより全長を作製し得る。5' 末端または 3' 末端のいずれかが欠失している cDNA クローンは、翻訳の開始コドンまたは終止コドンのそれぞれに伸長する欠失塩基対を含むように再構築され得る。いくつかの場合において、cDNA は、そのために翻訳の開始を欠失している。以下に、この本来の 5' RACE 手順の改変を簡単に記載する。ポリ A+ または全 RNA を、Superscript II (Gibco/BRL) および cDNA 配列に特異的なアンチセンスプライマーまたは相補的プライマーを用いて逆転写する。そのプライマーを、Microcon Concentrator (Amicon) を用いて反応から除去する。次いで、第 1 鎖 cDNA を、dATP および末端デオキシヌクレオチドトランスフェラーゼ (Gibco/BRL) を用いて、添付する。このように、アンカー配列を産生し、これは、PCR 増幅のために必要である。第 2 鎖を dA-テイル含有 PCR 緩衝液、Taq DNA ポリメラーゼ (Perkin-Elmer Cetus)、5' 末端で 3 つの隣接制限部位 (XhoI、SalI および ClaI) を含むオリゴ dT プライマーならびにこれらの制限部位を正しく含むプライマーから合成する。この 2 本鎖 cDNA を同じプライマーならびにネストした cDNA 特異的アンチセンスプライマーを用いて 40 サイクルで PCR 増幅する。この PCR 産物を、エチジウムブロマイドアガロースゲル上でサイズ分離し、そして欠失しているタンパク質コード DNA の推定サイズの cDNA 産物を含むゲルの領域を取り出す。cDNA を Magic PCR Prep kit (Promega) を用いてアガロースゲルから精製し、XhoI または SalI を用いて制限消化し、そしてプラスミド（例えば、pBluescript SKII (Stratagene)）に XhoI 部位および EcoRV 部位で連結する。この DNA を細菌に形質転換し、そしてこのプラスミドクローンを配列決定して、正確なタンパク質コード挿入物を同定する。正確な 5' 末端を、推定的に同定された相同体を有するこの配列と部分的 cDNA クローンを有する重複を比較することにより確認する。当該分野において公知の同様の方法および/または市販のキットを使用して、増幅し、そして 3' 末端を回収する。

【0243】

いくつかの、品質制御キットが購入のために市販されている。上記のそれらと同様の試薬および方法は、全長遺伝子を回収をするための 5' RACE および 3' RACE の両方について、Gibco/BRL からキットの形態で供給される。第 2 のキットは、Clontech から入手可能である。このキットは、Dumas ら、Nucleic Acids Res., 19: 5227 - 32 (1991) により開発された、関連技術の改変 (SLIC (一本鎖 cDNA への、一本鎖の連結)) である。手順における主な違いは、RNA を、逆転写後にアルカリ加水分解し、そして RNA リガーゼを使用して、第 1 鎖 cDNA に、制限部位を含むアンカープライマーを連結することである。これは、過去に配列決定をするのが困難なポリ T の伸長を生じる dA テーリング反応における必要性を除去する。

【0244】

RNA から 5' cDNA または 3' cDNA を産生する代替は、cDNA ライブラリーニ

10

20

30

40

50

本鎖DNAを使用することである。非対称性PCR増幅アンチセンスcDNA鎖を、アンチセンスcDNA特異的プライマーおよびプラスミドアンカープライマーを用いて合成する。これらのプライマーを除去し、そして対称PCR反応を、ネストしたcDNA特異的アンチセンスプライマーおよびプラスミドアンカープライマーを用いて実施する。

【0245】

(5'末端配列または3'末端配列を産生し、全長遺伝子を得るための、RNAリガーゼのプロトコル)

一旦、目的の遺伝子が同定されると、本来のcDNAプラスミド中には存在しないかもしれない遺伝子の5'部分または3'部分の同定のためのいくつかの方法が利用可能になる。これらの方法は、以下を含むがこれらに限定されない：フィルター探索、特異的プローブを使用するクローン富化、ならびに5'RACEおよび3'RACEと類似および同一のプロトコル。全長遺伝子は、ライブラリー中に存在し得、そして探索によって同定され得るが、一方、5'末端または3'末端を生成するために有用な方法は、欠けている情報を生成するために、本来のcDNAからの既存の配列情報を、使用することである。5'RACEに類似する方法は、所望の全長遺伝子の欠けている5'末端を生成するために利用可能である(この方法は、Fromont-Racineら、Nucleic Acids Res., 21(7):1683-1684(1993)によって発表された)。簡潔には、特定のRNAオリゴヌクレオチドを、全長遺伝子RNA転写物をおそらく含むRNAの集団の5'末端に連結し、そして連結されたRNAオリゴヌクレオチドに特異的なプライマーおよび目的の遺伝子の公知の配列に特異的なプライマーを含むプライマーセットを使用して、所望の全長遺伝子の5'部分をPCR増幅する。次いで、この増幅した産物を配列決定し得、そしてこれを使用して全長遺伝子を生成し得る。この方法は、所望の供給源から単離された総RNAを用いて開始し、この手順における必要条件ではないが、ポリA RNAを使用し得る。次いで、RNA調製物を、必要ならばホスファターゼで処理して、後のRNAリガーゼ工程を妨害し得る分解または損傷RNAの5'リン酸基を排除し得る。次いで、使用された場合、ホスファターゼを不活化し、そしてRNAをメッセンジャーRNAの5'末端に存在するキャップ構造を除去するために、タバコ酸性ピロホスファターゼを用いて処理する。この反応は、次いでT4 RNAリガーゼを用いてRNAオリゴヌクレオチドに連結され得る、キャップ切断RNAの5'末端に5'リン酸基を残す。次いで、この改変型RNA調製物を、遺伝子特異的なオリゴヌクレオチドを用いる、第一鎖cDNA合成のためのテンプレートとして使用し得る。次いで、第一鎖合成反応物を、連結されたRNAオリゴヌクレオチドに特異的なプライマーおよび目的のB7様遺伝子の公知の配列に特異的なプライマーを用いる、所望の5'末端のPCR増幅のためのテンプレートとして使用し得る。次いで、得られた生成物を配列決定し、そして分析して5'末端配列が関連するB7様遺伝子に属することを確認する。

【0246】

(ポリヌクレオチドフラグメントおよびポリペプチドフラグメント)

本発明はまた、本発明のポリヌクレオチド(核酸)の、ポリヌクレオチドフラグメントに関する。本発明において、「ポリヌクレオチドフラグメント」とは、以下である核酸配列を有するポリヌクレオチドをいう：cDNAプラスミド：Vに含まれるcDNAの一部か、もしくはcDNAプラスミド：Vに含まれるcDNAによりコードされるポリペプチドをコードするcDNAの一部；配列番号Xもしくはその相補鎖におけるポリヌクレオチド配列の一部；配列番号Yのポリペプチドの一部をコードするポリヌクレオチド配列；または配列番号Xによりコードされるポリペプチドの一部をコードするポリヌクレオチド配列。本発明のヌクレオチドフラグメントは、好ましくは、少なくとも約15ヌクレオチド長、そしてより好ましくは少なくとも約20ヌクレオチド長、さらにより好ましくは少なくとも約30ヌクレオチド長、そしてなおより好ましくは少なくとも約40ヌクレオチド長、少なくとも約50ヌクレオチド長、少なくとも約75ヌクレオチド長、少なくとも約100ヌクレオチド長、少なくとも約125ヌクレオチド長、または少なくとも約150ヌクレオチド長である。例えば、「少なくとも約20ヌクレオチド長」のフラグメントは、

例えば、cDNAプラスミド：VのcDNA配列に含まれる配列または配列番号Xもしくはその相補鎖に示されるヌクレオチド配列由来の20以上の連続する塩基を含むことが意図される。この文脈において「約（おおよそ）」は、特に記載された値、あるいはそれより数個（5、4、3、2、または1）のヌクレオチドだけ大きいかまたは小さな値を含む。これらのヌクレオチドフラグメントは、本明細書中で議論されるように、診断プローブおよびプライマーとしての使用を含むが、それらに限定されない使用を有する。もちろん、より大きなフラグメント（例えば、少なくとも150、175、200、250、500、600、1000または2000のヌクレオチドの長さ）もまた、本発明に含まれる。

【0247】

10

さらに、本発明のポリヌクレオチドフラグメントの代表例としては、例えば、以下の配列番号X、またはその相補鎖のおおよそのヌクレオチド数の配列を含むか、あるいは以下からなるフラグメントが挙げられる：

【0248】

【数1】

1-50, 51-100, 101-150, 151-200, 201-250, 251-300, 301-350, 351-400, 401-450, 451-500, 501-550, 551-600, 651-700, 701-750, 751-800, 800-850, 851-900, 901-950, 951-1000, 1001-1050, 1051-1100, 1101-1150, 1151-1200, 1201-1250, 1251-1300, 1301-1350, 1351-1400, 1401-1450, 1451-1500, 1501-1550, 1551-1600, 1601-1650, 1651-1700, 1701-1750, 1751-1800, 1801-1850, 1851-1900, 1901-1950, 1951-2000, 2001-2050, 2051-2100, 2101-2150, 2151-2200, 2201-2250, 2251-2300, 2301-2350, 2351-2400, 2401-2450, 2451-2500, 2501-2550, 2551-2600, 2601-2650, 2651-2700, 2701-2750, 2751-2800, 2801-2850, 2851-2900, 2901-2950, 2951-3000, 3001-3050, 3051-3100, 3101-3150, 3151-3200, 3201-3250, 3251-3300, ~~3301-3350~~ 3301-3357

20

この文脈において、「おおよそ（約）」は、特に記載された範囲、またはいずれかの末端もしくは両方の末端において、これより数個（5、4、3、2、または1）のヌクレオチドだけ大きいか、または小さな範囲を含む。好ましくは、これらのフラグメントは、配列の一部であるポリヌクレオチドによりコードされるポリペプチドの機能的活性（例えば、生物学的活性）を有するポリペプチドをコードする。より好ましくは、これらのフラグメントは、本明細書中で議論されるようにプローブまたはプライマーとして使用され得る。ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下あるいはより低いストリンジェンシー条件下でこれらのフラグメントの1つ以上にハイブリダイズするポリヌクレオチドもまた本発明に含まれ、これらのポリヌクレオチドによりコードされるポリペプチドまたはフラグメントも同様に含まれる。

30

【0249】

さらに、本発明のポリヌクレオチドフラグメントの代表例としては、例えば、cDNAプラスミド：Vに含まれるcDNAヌクレオチド配列、またはその相補鎖の以下のおおよそのヌクレオチド数の配列を含むか、あるいは以下からなるフラグメントが挙げられる：

40

【0250】

【数2】

1-50, 51-100, 101-150, 151-200, 201-250, 251-300, 301-350, 351-400, 401-450, 451-500, 501-550, 551-600, 601-650, 651-700, 701-750, 751-800, 801-850, 851-900, 901-950, 951-1000, 1001-1050, 1051-1100, 1101-1150, 1151-1200, 1201-1250, 1251-1300, 1301-1350, 1351-1400, 1401-1450, 1451-1500, 1501-1550, 1551-1600, 1601-1650, 1651-1700, 1701-1750, 1751-1800, 1801-1850, 1851-1900, 1901-1950, 1951-2000, 2001-2050, 2051-2100, 2101-2150, 2151-2200, 2201-2250, 2251-2300, 2301-2350, 2351-2400, 2401-2450, 2451-2500, 2501-2550, 2551-2600, 2601-2650, 2651-2700, 2701-2750, 2751-2800, 2801-2850, 2851-2900, 2901-2950, 2951-3000, 3001-3050, 3051-3100, 3101-3150, 3151-3200, 3201-3250, 3251-3300, ~~3301-3350~~ 3301-3357

10

この文脈において、「おおよそ(約)」は、特に記載された範囲、あるいはいずれかの末端もしくは両方の末端において、これより数個(5、4、3、2、または1)のヌクレオチドだけ大きいか、または小さな範囲を含む。好ましくは、これらのフラグメントは、cDNAプラスミド：Vに含まれるcDNAヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチドの機能的活性(例えば、生物学的活性)を有するポリペプチドをコードする。より好ましくは、これらのフラグメントは、本明細書中で議論されるように、プローブまたはプライマーとして使用され得る。ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下あるいはより低いストリンジェンシー条件下で1つ以上のこれらのフラグメントにハイブリダイズするポリヌクレオチドもまた本発明に含まれ、これらのポリヌクレオチドによりコードされるポリペプチドまたはフラグメントもまた、含まれる。

20

【0251】

本発明において、「ポリペプチドフラグメント」とは、配列番号Yに含まれるアミノ酸配列の一部、配列番号Xのポリヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸配列の一部、および/またはcDNAプラスミド：V中のcDNAによってコードされるアミノ酸配列の一部であるアミノ酸配列をいう。タンパク質(ポリペプチド)フラグメントは、「自立構造(free-standing)」であり得るか、あるいはより大きなポリペプチド(このフラグメントが、部分または領域(最も好ましくは単一の連続した領域として)を形成する)内に含まれ得る。本発明のポリペプチドフラグメントの代表例としては、例えば、以下の配列番号Yのコード領域の、おおよそのアミノ酸数のアミノ酸配列を含むか、あるいは以下からなるフラグメントが挙げられる：1~20、21~40、41~60、61~80、81~100、101~120、121~140、141~160、161~180、181~200、201~220、221~240、241~260、261~280、281~300、301~320、321~340、341~360、361~380、381~400、401~420、421~440、および/または441~461。さらに、本発明のポリペプチドフラグメントは、少なくとも約10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、100、110、120、130、140、または150のアミノ酸の長さであり得る。この文脈において、「約(おおよそ)」とは、特に記載された範囲または値、あるいはいずれかの末端もしくは両方の末端において、これより数個(5、4、3、2、または1)のアミノ酸だけ大きいかまたは小さな、範囲または値を含む。これらのポリペプチドフラグメントをコードするポリヌクレオチドもまた、本発明に含まれる。

30

40

【0252】

タンパク質のN末端からの1つ以上のアミノ酸の欠失が、タンパク質の1つ以上の生物学的機能の損失の改変を生じるとしても、他の機能的活性(例えば、生物学的活性、多量体化する能力、リガンドに結合する能力)は、なお保持され得る。例えば、ポリペプチドの完全な形態または成熟形態を認識する抗体を誘導するおよび/またはこの抗体に結合する、短縮型ムテインの能力は、完全なポリペプチド、または成熟ポリペプチドの大部分より少ない残基が、N末端から除去される場合には、一般的に保持される。完全なポリペプチ

50

ドのN末端残基を欠く特定のポリペプチドが、このような免疫原性活性を保持するか否かは、本明細書中に記載される慣用的な方法、およびそうでなければ当該分野において公知の別の方法によって容易に決定され得る。多数の欠失したN末端アミノ酸残基を有するムテインは、いくつかの生物学的活性または免疫源性活性を保持し得るようである。実際に、6つと同じくらい少ないアミノ酸残基からなるペプチドは、しばしば免疫応答を惹起し得る。

【0253】

従って、本発明のポリペプチドフラグメントとしては、分泌タンパク質および成熟形態が挙げられる。さらに好ましいポリペプチドフラグメントとしては、アミノ末端もしくはカルボキシ末端またはその両方から、連続した一連の欠失した残基を有する分泌タンパク質、もしくは成熟形態が挙げられる。例えば、任意の数のアミノ酸(1~60の範囲)は、分泌ポリペプチドもしくは成熟形態のいずれかのアミノ末端から欠失され得る。同様に、任意の数のアミノ酸(1~30の範囲)が、分泌タンパク質もしくは成熟形態のカルボキシ末端から欠失され得る。さらに、上記のアミノ末端およびカルボキシ末端の欠失の任意の組み合わせが好ましい。同様に、これらのポリペプチドフラグメントをコードするポリヌクレオチドもまた好ましい。

10

【0254】

本発明は、本明細書中で開示されるポリペプチド(例えば、配列番号Yのポリペプチド、配列番号Xに含まれるポリヌクレオチド配列によりコードされるポリペプチド、および/またはcDNAプラスミド:Vに含まれるcDNAによりコードされるポリペプチド)のアミノ酸配列のアミノ末端から、1つ以上の欠失した残基を有するポリペプチドを、さらに提供する。特に、N末端の欠失は、一般式 $m - q$ によって記載され得、ここで q は、本発明のポリペプチド(例えば、配列番号Yに開示されるポリペプチド)におけるアミノ酸残基の総数を表す全整数であり、そして m は、 $2 \sim q - 6$ の範囲の任意の整数として定義される。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチド(フラグメントおよび/または改変体を含む)もまた、本発明に含まれる。

20

【0255】

また上記のように、タンパク質のC末端からの1つ以上のアミノ酸の欠失が、このタンパク質の1つ以上の生物学的機能の損失の改変を生じるとしても、他の機能的活性(例えば、生物学的活性、多量体化する能力、リガンドに結合する能力)は、なお保持され得る。例えば、ポリペプチドの完全な形態または成熟形態を認識する抗体を誘導するおよび/またはこの抗体に結合する、短縮型ムテインの能力は、完全なポリペプチド、または成熟ポリペプチドの大部分より少ない残基が、C末端から除去される場合には、一般的に保持される。完全なポリペプチドのC末端残基を欠く特定のポリペプチドが、このような免疫原性活性を保持するか否かは、本明細書中に記載される慣用的な方法、およびそうでなければ当該分野において公知の他の方法によって容易に決定され得る。多数の欠失したC末端アミノ酸残基を有するムテインは、いくつかの生物学的活性または免疫源性活性を保持し得るようである。実際に、6つと同じくらい少ないアミノ酸残基からなるペプチドは、しばしば免疫応答を惹起し得る。

30

【0256】

従って、本発明は、本明細書中で開示されるポリペプチド(例えば、配列番号Yのポリペプチド、配列番号Xに含まれるポリヌクレオチド配列によりコードされるポリペプチド、および/またはcDNAプラスミド:Vに含まれるcDNAによりコードされるポリペプチド)のアミノ酸配列のカルボキシ末端の1つ以上の残基を有するポリペプチドを、さらに提供する。特に、C末端の欠失は、一般式 $1 - n$ によって記載され得、ここで n は、 $6 \sim q - 1$ の範囲の任意の全整数であり、そしてここで n は、本発明のポリペプチドにおけるアミノ酸残基の位置に対応する。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチド(フラグメントおよび/または改変体を含む)もまた、本発明により含まれる。

40

【0257】

さらに、上記のN末端またはC末端の欠失のいずれかを組み合わせて、N末端およびC末

50

端欠失型ポリペプチドを産生し得る。本発明はまた、アミノ末端およびカルボキシ末端の両方から1つ以上の欠失したアミノ酸を有するポリペプチドを提供する。このポリペプチドは、一般的に、配列番号X（例えば、好ましくは配列番号Yとして開示されるポリペプチドを含むが、これに限定されない）および/またはcDNAプラスミド：V中のcDNA、ならびに/あるいはそれらの相補体によってコードされるポリペプチドの、残基m-nを有する場合に記載され得、ここでnおよびmは、上記のような整数である。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチド（フラグメントおよび/または改変体を含む）もまた、本発明に含まれる。

【0258】

配列番号Yのポリペプチドに含まれる任意のポリペプチド配列、配列番号Xとして記載されるポリヌクレオチド配列によってコードされる、任意のポリペプチド配列、またはcDNAプラスミド：V中のcDNAによってコードされる任意のポリペプチド配列は、そのポリペプチドの特定の好ましい領域を決定するために、分析され得る。例えば、配列番号XまたはcDNAプラスミド：V中のcDNAのポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチドのアミノ酸配列は、DNASTARコンピュータアルゴリズム（DNASTAR, Inc., 1228 S. Park St., Madison, WI 53715 USA; <http://www.dnastar.com/>）のデフォルトパラメータを使用して、分析され得る。

10

【0259】

DNASTARコンピュータアルゴリズムを使用して慣用的に得られ得るポリペプチドの領域としては、以下が挙げられるが、それらに限定されない：Garnier-Robsonの-領域、-領域、ターン領域、およびコイル領域、Chou-Fasmanの-領域、-領域、およびターン領域、Kyte-Doolittleの親水性領域および疎水性領域、Eisenbergの-両親媒性領域および-両親媒性領域、Karpplus-Schulzの可撓性領域、Eminiの表面形成領域ならびに高い抗原性指標のJameson-Wolfの領域。この点で、本発明の非常に好ましいポリヌクレオチドの中に、いくつかの構造的特徴（例えば、上記の特徴のいくつか（例えば、1、2、3または4））と組み合わせられる領域を含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチドがある。

20

【0260】

さらに、Kyte-Doolittle親水性領域および疎水性領域、Emini表面形成領域、ならびに高い抗原性指標のJameson-Wolf領域（すなわち、Jameson-Wolfプログラムのデフォルトパラメータを使用して同定されるような、1.5より大きいか、または1.5に等しい抗原性指標を有する、4つ以上の連続するアミノ酸を含む）を慣用的に使用して、抗原性に対する高い程度の潜在性を表すポリペプチドの領域を決定する。高い抗原性の領域は、免疫応答の開始プロセスにおいて、抗原認識が生じ得る環境中のポリペプチドの表面上に曝されるようであるポリペプチドの領域を表す値を選択することによって、DNASTAR分析によるデータから決定される。

30

【0261】

本発明の好ましいポリペプチドフラグメントは、そのアミノ酸配列がフラグメントであるポリペプチド配列の、機能的活性（例えば、生物学的活性）を示すアミノ酸配列を含むか、またはあるいは、これらからなるフラグメントである。「機能的活性」を示すポリペプチドとは、全長タンパク質と関連した1つ以上の公知の機能的活性（例えば、前述のような、生物学的活性、抗原性、免疫原性、および/または多量体化など）を示し得るポリペプチドを意味する。

40

【0262】

他の好ましいポリペプチドフラグメントは、生物学的に活性なフラグメントである。生物学的に活性なフラグメントとは、本発明のポリペプチドの活性に対して、同一である必要はないが、類似する活性を示すフラグメントである。このフラグメントの生物学的活性は、改善された所望の活性、または低下した望ましくない活性を含み得る。

50

【0263】

好ましい実施形態において、本発明のポリペプチドは、配列番号 Y のポリペプチドの 1、2、3、4、5 以上の抗原性フラグメントか、またはその部分を含むか、またはあるいはそれらからなる。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチド（フラグメントおよび/または改変体を含む）もまた、本発明に含まれる。

【0264】

本発明は、以下のポリペプチドを含むか、またはあるいは以下からなるポリペプチドを含む：配列番号 Y に示されるポリペプチド配列のエピトープ、または cDNA プラスミド：V 中の cDNA によりコードされるポリペプチド配列のエピトープ、あるいは前述で定義されるように、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下またはより低いストリンジェンシーハイブリダイゼーション条件下で、配列番号 X のエピトープコード配列または cDNA プラスミド：V に含まれるエピトープコード配列の相補鎖にハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド配列のエピトープ。本発明はさらに、本発明のポリペプチド配列のエピトープをコードするポリヌクレオチド配列（例えば、配列番号 X に開示される配列など）、本発明のエピトープをコードするポリヌクレオチド配列の相補鎖のポリヌクレオチド配列、および前記で定義されるように、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下またはより低いストリンジェンシーハイブリダイゼーション条件下で、この相補鎖にハイブリダイズするポリヌクレオチド配列を含む。

10

【0265】

用語「エピトープ」とは、本明細書中で使用される場合、動物において、好ましくは哺乳動物において、そして最も好ましくはヒトにおいて抗原性活性または免疫原性活性を有するポリペプチドの部分を用いる。好ましい実施形態において、本発明は、エピトープを含むポリペプチド、およびこのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む。「免疫原性エピトープ」とは、本明細書中で使用される場合、当該分野で公知の任意の方法によって決定されるような（例えば、下記に記載される抗体を産生するための方法による）、動物における抗体応答を誘発するタンパク質の一部として定義される（例えば、Geysenら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:3998-4002 (1983) を参照のこと）。用語「抗原性エピトープ」とは、本明細書中で使用される場合、当該分野で周知の任意の方法（例えば、本明細書中に記載される免疫アッセイによる）によって決定されるような、抗体がその抗原に免疫特異的に結合し得るタンパク質の一部として定義される。免疫特異的結合は、非特異的結合は除外するが、他の抗原との交差反応を除外する必要はない。抗原性エピトープは、免疫原性である必要はない。

20

30

【0266】

エピトープとして機能するフラグメントは、任意の従来の方法によって産生され得る。（例えば、Houghten, R. A., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:5131-5135 (1985) を参照のこと。これはさらに、米国特許第 4,631,211 号に記載される）。

【0267】

本発明においては、抗原性エピトープは、好ましくは、少なくとも 4、少なくとも 5、少なくとも 6、少なくとも 7 アミノ酸配列を含み、より好ましくは、少なくとも 8、少なくとも 9、少なくとも 10、少なくとも 11、少なくとも 12、少なくとも 13、少なくとも 14、少なくとも 15、少なくとも 20、少なくとも 25、少なくとも 30、少なくとも 40、少なくとも 50 アミノ酸配列を含み、そして最も好ましくは約 15 アミノ酸と約 30 アミノ酸との間の配列を含む。免疫原性エピトープまたは抗原性エピトープを含有する好ましいポリペプチドは、少なくとも 10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95 または 100 アミノ酸残基の長さである。さらなる非排他的に好ましい抗原性エピトープは、本明細書中で開示される抗原性エピトープおよびその一部を含む。抗原性エピトープは、有用である（例えば、エピトープに特異的に結合する抗体（モノクローナル抗体を含む）を惹起するため）。好ましい抗原性エピトープは、本明細書中で開示される抗原性エピトープ、および 2

40

50

、3、4、5以上のこれらの抗原性エピトープの任意の組合わせを含む。抗原性エピトープは、イムノアッセイにおいて、標的分子として使用され得る。(例えば、Wilsonら、Cell 37:767-778(1984); Sutcliffeら、Science 219:660-666(1983)を参照のこと)。

【0268】

同様に、免疫原性エピトープを使用して、例えば、当該分野で周知の方法に従う抗体を誘導し得る。(例えば、Sutcliffeら、前出; Wilsonら、前出; Chowら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:910-914; および Bittleら、J. Gen. Virol. 66:2347-2354(1985)を参照のこと)。好ましい免疫原性エピトープは、本明細書で開示される免疫原性および2、3、4、5以上のこれらの免疫原性エピトープの任意の組合せを含む。1つ以上の免疫原性エピトープを含むポリペプチドは、キャリアタンパク質(例えば、アルブミン)とともに動物系(例えば、ウサギまたはマウス)に対する抗体応答を誘発するために提示され得るか、またはこのポリペプチドが十分に長い場合(少なくとも約25アミノ酸)、そのポリペプチドはキャリアなしで提示され得る。しかし、8~10個程度の少なさのアミノ酸を含む免疫原性エピトープは、少なくとも変性ポリペプチド中の直鎖状エピトープに結合し得る抗体を惹起するには十分であることが示されている(例えば、ウェスタンブロッティングにおいて)。

10

【0269】

本発明のエピトープ保有ポリペプチドは、当該分野で周知の方法に従って抗体を誘導するために使用され得る。これらの周知の方法としては、インビボ免疫、インビトロ免疫、およびファージディスプレイ法が挙げられるが、それらに限定されない。例えば、Sutcliffeら、前出; Wilsonら、前出、および Bittleら、J. Gen. Virol.、66:2347-2354(1985)を参照のこと。インビボ免疫を使用する場合、動物を遊離ペプチドを用いて免疫し得る;しかし、抗ペプチド抗体力価は、高分子キャリア(例えば、キーホールリンベットヘモシアニン(KLH)または破傷風トキソイド)にペプチドを結合させることによりブーストされ得る。例えば、システイン残基を含むペプチドは、マレイミドベンゾイル-N-ヒドロキシスクシンイミドエステル(MBS)のようなリンカーを用いてキャリアに結合され得る。その一方、他のペプチドは、より一般的な結合剤(例えば、グルタルアルデヒド)を用いてキャリアに結合され得る。ウサギ、ラット、およびマウスのような動物は、遊離のペプチドまたはキャリア結合ペプチドのいずれかを用いて、例えば、約100 μ gのペプチドまたはキャリアタンパク質およびフロイントアジュバントまたは免疫応答を刺激することが公知である他のアジュバントを含むエマルジョンを腹腔内注射および/または皮内注射することにより免疫される。いくつかのブースター注射が、抗ペプチド抗体の有用な力価を提供するために、例えば、約2週間の間隔で、必要とされ得る。この力価は、例えば、固体表面に吸着した遊離のペプチドを用いるELISAアッセイにより検出され得る。免疫した動物由来の血清中の抗ペプチド抗体の力価は、抗ペプチド抗体の選択(例えば、当該分野で周知の方法に従う固体支持体上のペプチドへの吸着および選択された抗体の溶出による)により上昇し得る。

20

30

【0270】

当業者に理解されるように、そして上記で考察されるように、本発明のポリペプチドおよびその免疫原性エピトープフラグメントおよび/または抗原性エピトープフラグメントは、他のポリペプチド配列に融合され得る。例えば、本発明のポリペプチドは、免疫グロブリン(IgA、IgE、IgG、IgM)の定常ドメインまたはそれらの部分(CH1、CH2、CH3、またはそれらの任意の組み合わせ、およびこれらの部分)と融合し得、これがキメラポリペプチドを生じる。このような融合タンパク質は、精製を容易にし得、そしてインビボにおける半減期を増加し得る。このことは、ヒトCD4ポリペプチドの最初の2つのドメインおよび哺乳動物の免疫グロブリンの重鎖または軽鎖の定常領域の種々のドメインからなるキメラタンパク質について示された。例えば、EP 394,827; Traunekerら、Nature, 331:84-86(1988)を参照のこと

40

50

と。上皮の関門を横切った免疫系への抗原の増強された送達は、FcRn結合パートナー（例えば、IgGフラグメントまたはFcフラグメント（例えば、PCT公開WO 96/22024およびWO 99/04813を参照のこと）に結合体化した抗原（例えば、インスリン）について実証されている。ジスルフィド架橋二量体構造を有するIgG融合タンパク質はまた、そのIgG部分ジスルフィド結合に起因して、単量体ポリペプチドまたはそれらのフラグメント単独よりも、他の分子の結合および中和において効果的であることが見出された。例えば、Fountoulakisら、J. Biochem., 270:3958-3964(1995)を参照のこと。

【0271】

同様に、EP-A-O 464 533（カナダ国対応出願2045869）は、別のヒトタンパク質またはその一部とともに免疫グロブリン分子の定常領域の種々の部分を含む、融合タンパク質を開示する。多くの場合、融合タンパク質中のFc部分は、治療および診断において有利であり、従って、例えば改善された薬物動態学的特性を生じ得る（EP-A 0232 262）。あるいは、融合タンパク質が発現、検出、および精製された後に、Fc部分が欠失され得ることが望ましい。例えば、融合タンパク質が、免疫の抗原として使用される場合、そのFc部分は、治療および診断を妨げ得る。薬物探索において、例えばhIL-5のようなヒトタンパク質が、hIL-5のアンタゴニストを同定するためのハイスループットスクリーニングアッセイの目的のためにFc部分と融合されている。（D. Bennettら、J. Molecular Recognition 8:52-58(1995); K. Johansonら、J. Biol. Chem. 270:9459-9471(1995)を参照のこと。）

さらに、本発明のポリペプチドは、融合されたポリペプチドの精製を容易にするペプチドのような、マーカー配列と融合され得る。好ましい実施形態において、このマーカーアミノ酸配列は、とりわけ、pQEベクター（QIAGEN, Inc., 9259 Eton Avenue, Chatsworth, CA, 91311）において提供されるタグのようなヘキサ-ヒスチジンペプチドであり、それらの多くは市販されている。例えば、Gentzら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:821-824(1989)に記載されるように、ヘキサ-ヒスチジンは、融合タンパク質の簡便な精製を提供する。精製に有用な他のペプチドタグである「HA」タグは、インフルエンザ赤血球凝集素タンパク質由来のエピトープに対応する（Wilsonら、Cell 37:767(1984)）。

【0272】

従って、これら上記の任意の融合物は、本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチドを用いて操作され得る。

【0273】

上記のエピトープをコードする核酸はまた、エピトープタグ（例えば、血球凝集素（「HA」）タグまたはフラグタグ（flag tag））として目的の遺伝子と組換えられ、発現されたポリペプチドの検出および精製を補助し得る。例えば、Janknechtらによって記載された系は、ヒト細胞株において発現される非変性融合タンパク質の迅速な精製を可能にする（Janknechtら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:8972-897(1991)）。この系において、目的の遺伝子は、遺伝子の読み取り枠が、6つのヒスチジン残基からなるアミノ末端タグと翻訳で融合されるように、ワクシニア組換えプラスミド中にサブクローンされる。このタグは、融合タンパク質についての基質結合ドメインとしてはたらく。組換えワクシニアウイルスに感染した細胞由来の抽出物は、Ni²⁺ニトリロ三酢酸アガロースカラムに充填され、そしてヒスチジントグ化したタンパク質が、イミダゾール含有緩衝液を用いて選択的に溶出され得る。

【0274】

本発明のさらなる融合タンパク質は、遺伝子シャッフリング、モチーフシャッフリング、エキソンシャッフリング、および/またはコドンシャッフリング（総称して「DNAシャッフリング」）を用いて生成され得る。

「シャッフリング」といわれる)の技術を通じて生成され得る。DNAシャッフリングを使用して、本発明のポリペプチドの活性を調節し得、このような方法を用いて、変化した活性を有するポリペプチド、ならびにそのポリペプチドのアゴニストおよびアンタゴニストを生成し得る。一般には、米国特許第5,605,793号;同第5,811,238号;同第5,830,721号;同第5,834,252号;および同第5,837,458号、ならびにPattenら、Curr. Opin. Biotechnol. 8:724-33(1997);Harayama、Trends Biotechnol. 16(2):76-82(1998);Hanssonら、J. Mol. Biol. 287:265-76(1999);ならびにLorenzoおよびBlasco、Biotechniques 24(2):308-13(1998)(これらの特許および刊行物の各々は、本明細書によってその全体が参考として援用される)を参照のこと。1つの実施形態において、配列番号Xに対応するポリヌクレオチドおよびこれらのポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドの改変は、DNAシャッフリングにより達成され得る。DNAシャッフリングは、相同組換えまたは部位特異的組換えにより、2つ以上のDNAセグメントをアセンブリして、ポリヌクレオチド配列における変化を産生することを含む。別の実施形態において、本発明のポリヌクレオチドまたはコードされるポリペプチドは、組換え前に、エラープローンPCR、ランダムヌクレオチド挿入または他の方法による、ランダムな変異誘発に供されることによって改変され得る。別の実施形態において、本発明のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドの1つ以上の成分、モチーフ、セクション(section)、部分、ドメイン、フラグメントなどは、1つ以上の異種分子の1つ以上の成分、モチーフ、セクション、部分、ドメイン、フラグメントなどと組み換えられ得る。

【0275】

(ポリヌクレオチド改変体およびポリペプチド改変体)

本発明はまた、B7様改変体を含む。本発明は、配列番号Xに開示されるポリヌクレオチド配列の改変体またはそれらに対する相補鎖の改変体、および/またはcDNAプラスミド:V中に含まれるcDNA配列の改変体に関する。

【0276】

本発明はまた、配列番号Yに開示されるポリペプチド配列の改変体、配列番号Xのポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド配列の改変体および/またはcDNAプラスミド:V中のcDNAによってコードされるポリペプチド配列の改変体を含む。

【0277】

「改変体」とは、本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチドとは異なるがそれらの特性は保持している、ポリヌクレオチドまたはポリペプチドをいう。一般的に、改変体は全体的に非常に類似しており、そして、多くの領域において、本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチドと同一である。

【0278】

従って、本発明の1つの局面は、以下からなる群より選択されるヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチドを含むか、あるいはこれらのポリヌクレオチドからなる単離された核酸分子を提供する:(a)配列番号Xに記載されるか、またはプラスミド:VのcDNA配列に含まれるヌクレオチド配列;(b)配列番号Yの完全アミノ酸配列またはプラスミド:V中のcDNAによりコードされる完全アミノ酸配列をコードする、配列番号Xまたはプラスミド:V中のcDNAのヌクレオチド配列;(c)成熟B7様ポリペプチドをコードする、配列番号X中またはプラスミド:VのcDNA中のヌクレオチド配列;(d)B7様関連ポリペプチドの生物学的活性フラグメントをコードする、配列番号X中またはプラスミド:VのcDNAのヌクレオチド配列;(e)B7様ポリペプチドの抗原性フラグメントをコードする、配列番号X中またはプラスミド:V中のcDNA配列のヌクレオチド配列;(f)配列番号Yの完全アミノ酸配列またはプラスミド:V中のcDNAによりコードされる完全アミノ酸配列を含むB7様ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列;(g)配列番号Yのアミノ酸配列またはプラスミド:V中のcDNAによりコードさ

れるアミノ酸配列の成熟 B 7 様ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列；(h) 配列番号 Y の完全アミノ酸配列またはプラスミド：V 中の c D N A によりコードされる完全アミノ酸配列を有する B 7 様ポリペプチドの生物学的に活性なフラグメントをコードするヌクレオチド配列；(i) 配列番号 Y の完全アミノ酸配列またはプラスミド：V 中の c D N A によりコードされる完全アミノ酸配列を有する B 7 様ポリペプチドの抗原性フラグメントをコードするヌクレオチド配列；および(j) 上記の(a)、(b)、(c)、(d)、(e)、(f)、(g)、(h)または(i)における任意のヌクレオチド配列に相補的なヌクレオチド配列。

【0279】

本発明はまた、以下を含むか、あるいはこれらからなる、核酸分子に関する：例えば上記の(a)、(b)、(c)、(d)、(e)、(f)、(g)、(h)、(i)または(j)中の任意のヌクレオチド配列に少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%または100%同一であるヌクレオチド配列；配列番号 X またはその相補鎖中のヌクレオチドコード配列；プラスミド：V に含まれる c D N A またはその相補鎖のヌクレオチドコード配列；配列番号 Y のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列；配列番号 X のヌクレオチド配列によりコードされるポリペプチド配列をコードするヌクレオチド配列；配列番号 X のポリヌクレオチド配列の相補体によりコードされるポリペプチド配列；プラスミド：V に含まれる c D N A によりコードされるポリペプチドをコードされるヌクレオチド配列；表 1 の 10 欄で規定されるポリペプチド配列をコードする、配列番号 X のヌクレオチド配列またはその相補鎖；表 1 の 10 欄で規定されるポリペ
 20
 プチドをコードするヌクレオチド配列またはその相補鎖；ならびに/またはこれらの核酸分子のいずれかのポリヌクレオチドフラグメント(例えば、本明細書中に記載されるフラグメント)。ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下あるいは低いストリンジェンシー条件下でこれらの核酸分子の相補体にハイブリダイズするポリヌクレオチドもまた、本発明によって含まれ、これらのポリヌクレオチドおよび核酸によってコードされるポリペプチドも同様である。

【0280】

好ましい実施形態において、本発明は、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下またはあるいは低いストリンジェンシー条件下で、上記の(a)、(b)、(c)、(d)、(e)、(f)、(g)、(h)または(i)のポリヌクレオチドに、ハイブリダイ
 30
 ズするポリヌクレオチドを含むか、またあるいはこれらのポリヌクレオチドからなる核酸分子を包含し、これらのポリヌクレオチドによりコードされるポリペプチドも同様に包含する。別の好ましい実施形態において、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下またはあるいは低いストリンジェンシー条件下で、これらの核酸分子の相補体にハイブリダイズするポリヌクレオチドもまた本発明に包含され、これらのポリヌクレオチドによりコードされるポリペプチドも同様に包含される。

【0281】

別の実施形態において、本発明は、以下からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチドを含むか、またあるいはこれらのポリペプチドからなる精製されたタンパク質を提供する：(a) 配列番号 Y の完全アミノ酸配列またはプラスミド：V の c D N A によりコードされる完全アミノ酸配列；(b) 配列番号 Y のアミノ酸配列またはプラスミド
 40
 : V の c D N A によりコードされるアミノ酸配列を有する B 7 様ポリペプチドの成熟形態のアミノ酸配列；(c) 配列番号 Y の完全アミノ酸配列またはプラスミド：V の c D N A によりコードされる完全アミノ酸配列を有する B 7 様ポリペプチドの生物学的活性フラグメントのアミノ酸配列；および(d) 配列番号 Y の完全アミノ酸配列またはプラスミド：V の c D N A によりコードされる完全アミノ酸配列を有する B 7 様ポリペプチドの抗原性フラグメントのアミノ酸配列。

【0282】

本発明はまた、例えば、以下のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%または100%同一であるアミノ酸配列を含
 50

むか、またあるいはこれらのアミノ酸配列からなるタンパク質に関する：上記の（a）、（b）、（c）、または（d）のアミノ酸配列のいずれか；配列番号Yで示されるアミノ酸配列；プラスミド：Vに含まれるcDNAによりコードされるアミノ酸配列；表1の10欄に規定されるアミノ酸配列；配列番号Xのヌクレオチド配列によりコードされるアミノ酸配列；および配列番号Xのポリヌクレオチド配列の相補体によりコードされるアミノ酸配列。これらのポリペプチドのフラグメントもまた提供される（例えば、本明細書中に記載されるフラグメント）。ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下またはあるいは低いストリンジェンシー条件下で、これらのアミノ酸配列をコードする核酸分子の相補体にハイブリダイズするポリヌクレオチドによりコードされるさらなるタンパク質もまた本発明に包含され、これらのタンパク質をコードするポリヌクレオチドも同様である。

10

【0283】

本発明の参照ヌクレオチド配列に、例えば、少なくとも95%「同一」であるヌクレオチド配列を有する核酸によって、その核酸のヌクレオチド配列が、そのヌクレオチド配列がポリペプチドをコードする参照ヌクレオチド配列の各100ヌクレオチドあたり5つまでの点変異を含み得ることを除いて、参照配列に対して同一であることを意図する。換言すれば、参照ヌクレオチド配列に対して少なくとも95%同一のヌクレオチド配列を有する核酸を得るために、参照配列のヌクレオチドの5%までが、欠失され得るか、または別のヌクレオチドで置換され得るか、あるいは参照配列中の総ヌクレオチドの5%までの数のヌクレオチドが参照配列中に挿入され得る。問い合わせ（query）配列は、表1に示される配列全体、ORF（オープンリーディングフレーム）、または本明細書中で記載されるように特定される任意のフラグメントであり得る。

20

【0284】

実際問題として、任意の特定の核酸分子またはポリペプチドが、本発明のヌクレオチド配列に対して少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であるか否かは、公知のコンピュータープログラムを使用して従来的に決定され得る。問い合わせ配列（本発明の配列）と対象配列との間の最も良好な全体的な適合性（全体的な配列整列とも呼ばれる）を決定するための好ましい方法は、Brutlagら（Comp. App. Biosci. 6: 237-245 (1990)）のアルゴリズムに基づくFASTDBコンピュータープログラムを使用して決定され得る。配列整列において、問い合わせ配列および対象配列は、両方ともにDNA配列である。RNA配列は、UからTに変換することによって比較され得る。この全体的な配列整列の結果は、同一性パーセント（%）で示される。同一性パーセントを算定するためにDNA配列のFASTDB整列において使用される好ましいパラメーターは：Matrix = Unitary、k-tuple = 4、Mismatch Penalty = 1、Joining Penalty = 30、Randomization Group Length = 0、Cutoff Score = 1、Gap Penalty = 5、Gap Size Penalty = 0.05、Window Size = 500または対象ヌクレオチド配列の長さ（どちらかより短い方）である。

30

【0285】

対象配列が、5'または3'欠失のために（内部欠失のためではなく）問い合わせ配列より短い場合、手動の補正が結果に対してなされなければならない。これは、同一性パーセントを計算する場合に、FASTDBプログラムが対象配列の5'および3'の短縮を考慮しないからである。5'末端または3'末端で短縮されている対象配列について、問い合わせ配列に対して、同一性パーセントは、問い合わせ配列の総塩基のパーセントとして一致/整列されない対象配列の5'および3'である問い合わせ配列の塩基の数を計算することによって補正される。ヌクレオチドが一致/整列されるか否かは、FASTDB配列整列の結果によって決定される。次いで、このパーセントは、特定のパラメーターを用いて上記のFASTDBプログラムによって算定された同一性パーセントから差し引かれ、最終的な同一性パーセントのスコアに到達する。この補正されたスコアが、本発明の目的に使用されるものである。FASTDB整列によって示されるように、問い合わせ配列

40

50

と一致 / 整列されない、対象配列の 5' および 3' の塩基の外側の塩基のみが、同一性パーセントのスコアを手動で調整する目的で算定される。

【0286】

例えば、90塩基の対象配列が、同一性パーセントを決定するために100塩基の問い合わせ配列に整列される。欠失が、対象配列の5'末端で生じ、従って、FASTDB整列は、5'末端の最初の10塩基で一致 / 整列を示さない。10個の不对合塩基は、配列の10% (一致していない5'および3'の末端の塩基の数 / 問い合わせ配列の塩基の総数) を表し、そのため10%が、FASTDBプログラムによって算定される同一性パーセントのスコアから差し引かれる。残りの90塩基が完全に一致する場合は、最終的な同一性パーセントは90%である。別の例では、90塩基の対象配列が、100塩基の問い合わせ配列と比較される。この場合、欠失は、内部欠失であり、その結果、対象配列の5'または3'に問い合わせと一致 / 整列しない塩基が存在しない。この場合、FASTDBによって算定される同一性パーセントは手動で補正されない。再び、問い合わせ配列と一致 / 整列しない対象配列の5'または3'の塩基のみが手動で補正される。他の手動の補正は、本発明の目的のためにはなされない。

10

【0287】

本発明の問い合わせアミノ酸配列に、例えば、少なくとも95%「同一」であるアミノ酸配列を有するポリペプチドにより、対象ポリペプチドのアミノ酸配列は、その対象ポリペプチド配列が問い合わせアミノ酸配列の各100個のアミノ酸あたり5つまでのアミノ酸の変更を含み得ることを除いて、問い合わせ配列に同一であることが意図される。換言すれば、問い合わせアミノ酸配列に少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を有するポリペプチドを得るために、対象配列におけるアミノ酸残基の5%までが、挿入、欠失、(インデル (i n d e l s)) または別のアミノ酸で置換され得る。参照配列のこれらの改変は、参照アミノ酸配列のアミノ末端もしくはカルボキシ末端位置で生じ得るか、またはそれらの末端位置の間どこにでも生じ得、参照配列中の残基間で個々にかまたは参照配列内の1個以上連続する群の状態かのいずれかで、散在する。

20

【0288】

実際問題として、任意の特定のポリペプチドが、例えば、表1に示されるアミノ酸配列またはそのフラグメント、配列番号Xにおけるヌクレオチド配列によりコードされるアミノ酸配列またはそのフラグメント、あるいはcDNAプラスミド: VにおけるcDNAによりコードされるアミノ酸配列またはそのフラグメントに対して、少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であるか否かは、公知のコンピュータプログラムを使用して従来のように決定され得る。問い合わせ配列 (本発明の配列) と対象配列との間での最良の全体的な一致 (全体的配列整列とも呼ばれる) を決定するための好ましい方法は、Brutlagら (Comp. App. Biosci. 6: 237-245 (1990)) のアルゴリズムに基づくFASTDBコンピュータプログラムを使用して決定され得る。配列整列において、問い合わせ配列および対象配列は、両方ともヌクレオチド配列であるかまたは両方ともアミノ酸配列であるかのいずれかである。上記の全体的配列整列の結果は、同一性パーセントで示される。FASTDBアミノ酸整列に用いられる好ましいパラメータは: Matrix = PAM 0、k - t u p l e = 2、M i s m a t c h P e n a l t y = 1、J o i n i n g P e n a l t y = 20、R a n d o m i z a t i o n G r o u p L e n g t h = 0、C u t o f f S c o r e = 1、W i n d o w S i z e = 配列の長さ、G a p P e n a l t y = 5、G a p S i z e P e n a l t y = 0.05、W i n d o w S i z e = 500または対象アミノ酸配列の長さ (どちらかより短い方) である。

30

40

【0289】

対象配列が、N末端またはC末端欠失により (内部の欠失のためではなく) 問い合わせ配列よりも短い場合、手動の補正が結果に対してなされなければならない。これは、FASTDBプログラムが、全体的な同一性パーセントを算定する場合に、対象配列のN末端短縮およびC末端短縮を考慮しないからである。N末端およびC末端で短縮されている対象

50

配列について、問い合わせ配列に対して、同一性パーセントは、問い合わせ配列の総塩基のパーセントとして、対応する対象残基と一致/整列しない、対象配列のN末端およびC末端である問い合わせ配列の残基の数を計算することによって補正される。残基が一致/整列されているか否かは、FASTDB配列整列の結果によって決定される。次いで、このパーセントは、上記のFASTDBプログラムによって特定のパラメーターを使用して計算された同一性パーセントから差し引かれ、最終的な同一性パーセントのスコアに到達する。この最終的な同一性パーセントのスコアが、本発明の目的で使用されるものである。問い合わせ配列と一致/整列していない対象配列のN末端側およびC末端側の残基のみが、同一性パーセントのスコアを手動で調整する目的のために考慮される。すなわち、対象配列の最も遠いN末端およびC末端残基の外側の問い合わせ残基位置のみである。

10

【0290】

例えば、90アミノ酸残基の対象配列が、同一性パーセントを決定するために100残基の問い合わせ配列と整列される。欠失が対象配列のN末端で生じ、そしてそれゆえFASTDB整列は、N末端での最初の10残基の一致/整列を示さない。この10個の不对合残基は、配列の10%（一致していないN末端およびC末端の残基の数/問い合わせ配列中の残基の総数）を表し、その結果FASTDBプログラムによって計算される同一性パーセントのスコアから10%が差し引かれる。残りの90残基が完全に一致した場合、最終的な同一性パーセントは90%である。別の例において、90残基の対象配列が、100残基の問い合わせ配列と比較される。この場合、欠失は、内部欠失であり、そのため問い合わせ配列と一致/整列しない対象配列のN末端またはC末端の残基は存在しない。この場合、FASTDBによって算定される同一性パーセントは、手動で補正されない。再び、FASTDB整列において示される、問い合わせ配列と一致/整列しない対象配列のN末端およびC末端の外側の残基位置のみが手動で補正される。他の手動の補正は、本発明の目的のためにはなされない。

20

【0291】

改変体は、コード領域、非コード領域、またはその両方における変化を含み得る。特に好ましいものは、サイレントな置換、付加、または欠失を生成するがコードされるポリペプチドの特性または活性を変化させない変化を含む、ポリヌクレオチド改変体である。遺伝コードの縮重に起因するサイレントな置換によって生成されるヌクレオチド改変体が、好ましい。さらに、50アミノ酸未満、40アミノ酸未満、30アミノ酸未満、20アミノ酸未満、10アミノ酸未満、あるいは5~50アミノ酸、5~25アミノ酸、5~10アミノ酸、1~5アミノ酸、または1~2アミノ酸が、任意の組合せで置換、欠失、または付加されている改変体もまた、好ましい。ポリヌクレオチド改変体は、種々の理由（例えば、特定の宿主についてのコドン発現を最適化する（ヒトmRNAにおけるコドンを、E. coliのような細菌宿主によって好ましいコドンに変化させる））のために、生成され得る。

30

【0292】

天然に存在する改変体は、「対立遺伝子改変体」と呼ばれ、そして生物の染色体上の所定の遺伝子座を占有する遺伝子のいくつかの代替の形態のうちの1つをいう。（Genes I I, Lewin, B., 編 John Wiley & Sons, New York (1985)）。これらの対立遺伝子改変体は、ポリヌクレオチドレベルおよび/またはポリペプチドレベルのいずれかで変化し得、そして本発明に含まれる。あるいは、天然に存在しない改変体は、変異誘発技術によってまたは直接的な合成によって生成され得る。

40

【0293】

タンパク質工学および組換えDNA技術の公知の方法を使用して、改変体は、本発明のポリペプチドの特性を改善または変化させるために作製され得る。例えば、本明細書中に考察されるように、1つ以上のアミノ酸が、生物学的機能の実質的な欠損を伴わずに、本発明のポリペプチドのN末端またはC末端から欠失され得る。Ronら、J. Biol. Chem. 268: 2984-2988 (1993)の著者らは、3個、8個、または27

50

個のアミノ末端アミノ酸残基を欠失させた後でさえもヘパリン結合活性を有する改変体 KGF タンパク質を報告した。同様に、インターフェロン は、このタンパク質のカルボキシ末端から 8 ~ 10 個のアミノ酸残基を欠失させた後、10 倍までのより高い活性を示した (Dobelira, J. Biotechnology 7: 199 - 216 (1988))。

【0294】

さらに、豊富な証拠は、改変体が、天然に存在するタンパク質の生物学的活性に類似する活性をしばしば保持することを実証する。例えば、Gayle および共同研究者ら (J. Biol. Chem 268: 22105 - 22111 (1993)) は、ヒトサイトカイン IL-1a の広範囲にわたる変異分析を行った。彼らは、ランダムな変異誘発を使用して、改変体の分子全長当たり平均 2.5 アミノ酸の変化になる、3,500 個を超える個々の IL-1a 改変体を作製した。複数の変異が、全ての可能なアミノ酸位置で試験された。この研究者らは、「分子の大部分は、[結合活性または生物学的活性]のいずれに対してもほとんど影響を伴わないで変化され得る」ことを見出した。(要約を参照のこと)。実際、試験された 3,500 個を超えるヌクレオチド配列のうち、わずか 23 個の独特なアミノ酸配列が、野生型と活性が有意に異なるタンパク質を生成した。

10

【0295】

さらに、本明細書中に議論されるように、ポリペプチドの N 末端または C 末端からの 1 つ以上のアミノ酸の欠失が、1 つ以上の生物学的機能の改変または欠失を生じたとしても、他の生物学的活性はなお保持され得る。例えば、分泌形態を認識する抗体を誘導および / または結合する、欠失改変体の能力は、分泌形態の大多数より少ない残基が、N 末端または C 末端から除去される場合に保持されるようである。タンパク質の N 末端残基または C 末端残基を欠損する特定のポリペプチドが、このような免疫原性活性を保持するか否かは、本明細書中に記載される慣用的な方法、およびそうでなければ当該分野において公知の慣用的な方法によって容易に決定され得る。

20

【0296】

従って、本発明はさらに、本発明のポリペプチドの機能的活性 (例えば、生物学的活性) を示すポリペプチド改変体を含み、このポリペプチド改変体は、本発明のポリペプチドの改変体である。このような改変体としては、活性に対する影響をほとんど有さないように、当該分野において公知の一般的な法則に従って選択される、欠失、挿入、逆位、反復、および置換が挙げられる。

30

【0297】

本願は、本明細書中に開示される核酸配列 (例えば、N 末端欠失および / または C 末端欠失のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする) と少なくとも 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99% または 100% 同一である、核酸分子に関し、これは、その核酸が機能的活性を有するポリペプチドをコードするか否かに関わらない。これは、特定の核酸分子が機能的活性を有するポリペプチドをコードしない場合でさえ、例えば、ハイブリダイゼーションプローブまたはポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) プライマーとしてその核酸分子を使用する方法を、当業者はなお知っているからである。機能的活性を有するポリペプチドをコードしない本発明の核酸分子の使用としては、とりわけ、(1) cDNA ライブラリーにおいて遺伝子改変体またはその対立遺伝子改変体もしくはスプライス改変体を単離すること; (2) Verma ら、Human Chromosomes: A Manual of Basic Techniques, Pergamon Press, New York (1988) に記載されるような、遺伝子の正確な染色体位置を提供するための、中期染色体スプレッドに対するインサイチュハイブリダイゼーション (例えば、FISH); ならびに (3) 特定の組織における mRNA 発現を検出するためのノーザンプロット分析が、挙げられる。

40

【0298】

しかし、好ましいのは、本発明のポリペプチドの機能的活性を有するポリペプチドを実際にコードする、本明細書中に開示される核酸配列と少なくとも 80%、85%、90%、

50

95%、96%、97%、98%、99%または100%同一である配列を有する、核酸分子である。

【0299】

当然、遺伝子コードの縮重が原因で、例えば、cDNAプラスミド：V中のcDNAの核酸配列、表1に示される核酸配列（配列番号X）またはそれらのフラグメントと少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一な配列を有する核酸分子の大多数が、「機能的活性を有する」ポリペプチドをコードすることを、当業者は直ちに認識する。実際、これらのヌクレオチド配列のいずれかの縮重改変体は全て同じポリペプチドをコードするので、多くの場合において、上記の比較アッセイを実施せずとも、これは当業者には明らかである。縮重改変体でない核酸分子について、妥当な数がまた、機能的活性を有するポリペプチドをコードすることが、当該分野でさらに認識される。これは、下記にさらに議論されるように、タンパク質の機能にあまり影響しそうにないかまたは有意には影響しそうにないかのいずれかであるアミノ酸置換（例えば、1つの脂肪族アミノ酸を第2の脂肪族アミノ酸で置換すること）を当業者が完全に承知しているからである。

10

【0300】

例えば、表現型的にサイレントなアミノ酸置換を作製する方法に関する指針が、Bowier「Deciphering the Message in Protein Sequences: Tolerance to Amino Acid Substitutions」Science 247:1306~1310(1990)に提供され、この著者は、変化に対するアミノ酸配列の許容性を研究する2つの主なストラテジーが存在することを示している。

20

【0301】

第1のストラテジーは、進化の過程の間の自然の選択によるアミノ酸置換の許容性を利用する。異なる種におけるアミノ酸配列を比較して、保存的アミノ酸が同定され得る。これらの保存的アミノ酸は、タンパク質の機能について重要であるようである。対照的に、置換が自然の選択によって許容されたアミノ酸の位置は、これらの位置がタンパク質の機能に重要ではないことを示す。従って、アミノ酸置換を許容する位置は、タンパク質の生物学的活性をなおも維持しつつ改変され得る。

【0302】

第2のストラテジーは、タンパク質機能に重要な領域を同定するために、クローン化された遺伝子の特定の位置でアミノ酸変化を導入するための遺伝子工学を使用する。例えば、部位特異的変異誘発またはアラニンスキャニング変異誘発（分子中のどの残基にも1つのアラニン変異の導入）が、使用され得る。（CunninghamおよびWells, Science 244:1081-1085(1989)）。次いで、得られた変異分子は生物学的活性について試験され得る。

30

【0303】

著者らが述べるように、これらの2つのストラテジーは、タンパク質がアミノ酸置換に驚くほど寛容であることを明らかにした。著者らはさらに、どのアミノ酸変化が、タンパク質中の特定のアミノ酸位置で許容されるようであることを示す。例えば、最も埋もれている（タンパク質の三次構造内の）アミノ酸残基は、非極性側鎖を必要とするが、表面側鎖の特徴は、一般にほとんど保存されない。さらに、寛容される保存的なアミノ酸置換は、脂肪族または疎水性アミノ酸のAla、Val、Leu、およびIleの置換；ヒドロキシル残基のSerおよびThrの置換；酸性残基のAspおよびGluの置換；アミド残基のAsnおよびGlnの置換、塩基性残基のLys、Arg、およびHisの置換；芳香族残基のPhe、Tyr、およびTrpの置換、ならびに小さなサイズのアミノ酸のAla、Ser、Thr、Met、およびGlyの置換を含む。保存的なアミノ酸置換以外に、本発明の改変体は、(i)1つ以上の非保存的なアミノ酸残基での置換、ここでは置換されるアミノ酸残基は、遺伝コードによってコードされるアミノ酸残基であってもよく、もしくはそうでなくてもよい、または(ii)置換基を有する1つ以上のアミノ酸残基で

40

50

の置換、または (i i i) 別の化合物 (例えば、ポリペプチドの安定性および/もしくは可溶性を増加するための化合物 (例えば、ポリエチレングリコール)) との成熟ポリペプチドの融合、または (i v) さらなるアミノ酸 (例えば、I g G F c 融合領域ペプチド、またはリーダーもしくは分泌配列、または精製を容易にする配列) とのポリペプチドの融合または (v) 別の化合物 (例えば、アルブミン (これは、組換えアルブミン (例えば、1999年3月2日に公布された米国特許第5,876,969号、EP特許0413622、および1998年6月16日に公布された米国特許第5,766,883号 (これらは、その全体が本明細書中で参考として援用される) を参照のこと) を含むが、これに限定されない) とのポリペプチド融合を含む。このような改変体ポリペプチドは、本明細書中の教示から、当業者の範囲内であることが考えられる。

10

【0304】

例えば、他の荷電されたアミノ酸または中性のアミノ酸での、荷電されたアミノ酸のアミノ酸置換を含むポリペプチド改変体は、改善された特徴 (例えば、より少ない凝集性) を有するタンパク質を生成し得る。薬学的処方物の凝集は、凝集体の免疫原活性に起因して、活性を減少し、かつクリアランスを増加する。 (P i n c k a r d ら、C l i n . E x p . I m m u n o l . 2 : 3 3 1 - 3 4 0 (1 9 6 7) ; R o b b i n s ら、D i a b e t e s 3 6 : 8 3 8 - 8 4 5 (1 9 8 7) ; C l e e l a n d ら、C r i t . R e v . T h e r a p e u t i c D r u g C a r r i e r S y s t e m s 1 0 : 3 0 7 - 3 7 7 (1 9 9 3)) 。

【0305】

本発明のさらなる実施形態は、少なくとも1つのアミノ酸置換を含むが、50アミノ酸置換を超えず、さらにより好ましくは、40アミノ酸置換を超えず、なおより好ましくは、30アミノ酸置換を超えず、そしてなおさらにより好ましくは、20アミノ酸置換を超えないアミノ酸配列を有するポリペプチドのアミノ酸配列を含むポリペプチドに関する。もちろん、ポリペプチドは、配列番号Yのポリペプチドのアミノ酸配列を含むアミノ酸配列、配列番号Xによりコードされるアミノ酸配列、および/または少なくとも1つのアミノ酸置換を含むが、好ましさの増大する順番に、10、9、8、7、6、5、4、3、2、または1アミノ酸置換を超えないアミノ酸置換を含むcDNAプラスミド：V中のcDNAによりコードされるアミノ酸配列を有することが非常に好ましい。特定の実施形態において、配列番号Yのアミノ酸配列またはそのフラグメント (例えば、本明細書に記載の成熟形態および/または他のフラグメント) 、配列番号Xによりコードされるアミノ酸配列またはそのフラグメント、ならびに/あるいはcDNAプラスミドXZによりコードされるアミノ酸配列またはそのフラグメントにおける付加、置換、および/または欠失の数は、1~5、5~10、5~25、5~50、10~50、または50~150であり、保存的アミノ酸置換が好ましい。本明細書中で議論されるように、本発明の任意のポリペプチドは、融合タンパク質を生成するために使用され得る。例えば、本発明のポリペプチドは、第2のタンパク質と融合される場合、抗原性タグとして使用され得る。本発明のポリペプチドに対して惹起される抗体は、ポリペプチドに結合することによって、第2のタンパク質を間接的に検出するために使用され得る。さらに、分泌されるタンパク質は、細胞位置を輸送シグナルに基づいて標的化するので、分泌されることが示されている本発明のポリペプチドは、他のタンパク質に一旦融合されると標的化分子として使用され得る。

20

30

40

【0306】

本発明のポリペプチドと融合され得るドメインの例は、異種シグナル配列のみならず、また他の異種機能性領域をも含む。融合は、必ずしも直接的である必要はないが、リンカー配列を介して起こり得る。

【0307】

特定の好ましい実施形態において、本発明のタンパク質は、ポリペプチドがN末端欠失変異体および/またはC末端欠失変異体である融合タンパク質を含む。好ましい実施形態において、本出願は、特定のN末端欠失変異体およびC末端欠失変異体のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする核酸配列に対して、少なくとも80%、85%、90%、

50

95%、96%、97%、98%または99%同一の核酸分子に関する。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチド（フラグメントおよび/または改変体を含む）はまた、本発明に含まれる。

【0308】

さらに、融合タンパク質はまた、本発明のポリペプチドの特徴を改良するために操作され得る。例えば、さらなるアミノ酸、特に荷電アミノ酸の領域が、宿主細胞からの精製または続く取り扱いおよび貯蔵の間の安定性ならびに持続性を改良するためにポリペプチドのN末端に付加され得る。また、ペプチド部分は、精製を容易にするためにポリペプチドに付加され得る。このような領域は、ポリペプチドの最終調製の前に除去され得る。ポリペプチドの取り扱いを容易にするためのペプチド部分の付加は、当該分野でよく知られ、そして慣用技術である。

10

【0309】

当業者に理解されるように、本発明のポリペプチドおよび上記のそれらのエピトープ保有フラグメントは、異種ポリペプチド配列と組合わされ得る。例えば、本発明のポリペプチドは、異種ポリペプチド配列に融合され得る。例えば、本発明のポリペプチドは、免疫グロブリン（IgA、IgE、IgG、IgM）の定常ドメインまたはそれらの部分（ドメイン全体もしくはその部分の両方を含む、CH1、CH2、CH3、およびそれらの任意の組み合わせ）と融合され得、キメラポリペプチドを生じる。これらの融合タンパク質は、精製を容易にし、そしてインビボでの半減期の増大を示す。1つの報告された例は、ヒトCD4-ポリペプチドの最初の2つのドメインおよび哺乳動物の免疫グロブリンの重鎖または軽鎖の定常領域の種々のドメインからなるキメラタンパク質を記載する（EPA 394,827; Traunckerら、Nature, 331:84~86(1988)）。（IgGに起因する）ジスルフィド結合二量体構造を有する融合タンパク質はまた、単量体タンパク質またはそれらのタンパク質フラグメント単独よりも、他の分子の結合および中和においてより効果的であり得る（Fountoulakisら、J. Biochem., 270:3958-3964(1995)）。

20

【0310】

（ベクター、宿主細胞、およびタンパク質産生）

本発明はまた、本発明のポリヌクレオチドを含むベクター、宿主細胞、および組換え技術によるポリペプチドの産生に関する。例えば、ベクターは、ファージベクター、プラスミドベクター、ウイルスベクター、またはレトロウイルスベクターであり得る。レトロウイルスベクターは、複製コンピテント、または複製欠損であり得る。後者の場合、一般にウイルス増殖は、宿主細胞を補完する（complementing）際にのみ生じる。

30

【0311】

本発明のポリヌクレオチドは、宿主における増殖のために選択可能マーカールを含むベクターに連結され得る。一般に、プラスミドベクターは、リン酸カルシウム沈澱物のような沈澱物、または荷電脂質との複合体において導入される。ベクターがウイルスである場合、ウイルスベクターは、適切なパッケージング細胞株を使用してインビトロでパッケージングされ得、次いで宿主細胞に形質導入され得る。

【0312】

ポリヌクレオチド挿入物は、適切なプロモーター（いくつか挙げれば、例えば、ファージPLプロモーター、E. coli lacプロモーター、trpプロモーター、phoAプロモーターおよびtacプロモーター、SV40初期プロモーターおよびSV40後期プロモーター、ならびにレトロウイルスLTRのプロモーター）に作動可能に連結されるべきである。他の適切なプロモーターは当業者に公知である。発現構築物はさらに、転写開始、転写終結のための部位、および転写領域において、翻訳のためのリボソーム結合部位を含む。構築物によって発現される転写物のコード部分は、好ましくは、始めに翻訳開始コドン、および翻訳されるポリペプチドの末端に適切に位置される終結コドン（UAA、UGAまたはUAG）を含む。

40

【0313】

50

示されるように、発現ベクターは、好ましくは少なくとも1つの選択可能マーカ―を含む。このようなマーカ―は、真核細胞培養のためのジヒドロ葉酸レダクターゼ、G418、またはネオマイシン耐性、ならびに*E. coli*および他の細菌において培養するためのテトラサイクリン、カナマイシンまたはアンピシリン耐性遺伝子を含む。適切な宿主の代表的な例は、細菌細胞（例えば、*E. coli*、*Streptomyces*および*Salmonella typhimurium*細胞）；酵母細胞のような真菌細胞（例えば、*Saccharomyces cerevisiae*または*Pichia pastoris*（ATCC登録番号201178））；*Drosophila S2*および*Spodoptera Sf9*細胞のような昆虫細胞；CHO細胞、COS細胞、293細胞、およびBowesメラノーマ細胞のような動物細胞；ならびに植物細胞を含むが、これらに限定されない。上記の宿主細胞のための適切な培養培地および条件は、当該分野で公知である。

10

【0314】

細菌における使用のために好ましいベクターの中には、pQE70、pQE60およびpQE-9（QIAGEN, Inc. から入手可能）；pBluescriptベクター、Phagescriptベクター、pNH8A、pNH16a、pNH18A、pNH46A（Stratagene Cloning Systems, Inc. から入手可能）；ならびにptrc99a、pKK223-3、pKK233-3、pDR540、pRIT5（Pharmacia Biotech, Inc. から入手可能）を含む。好ましい真核生物ベクターの中には、pWLNEO、pSV2CAT、pOG44、pXT1およびpSG（Stratageneから入手可能）；ならびにpSVK3、pBPV、pMSGおよびpSVL（Pharmaciaから入手可能）がある。酵母系における使用のために好ましいベクターは、pYES2、pYD1、pTEF1/Zeo、pYES2/GS、pPICZ、pGAPZ、pGAPZalph、pPIC9、pPIC3.5、pHIL-D2、pHIL-S1、pPIC3.5K、pPIC9K、およびPAO815（全てInvitrogen, Carlsbad, CAから入手可能）が挙げられるが、これらに限定されない。他の適切なベクターは当業者に容易に明らかである。

20

【0315】

宿主細胞への構築物の導入は、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、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、感染、または他の方法によってもたらされ得る。このような方法は、Davisら、*Basic Methods In Molecular Biology*（1986）のような多くの標準的な研究室マニュアルに記載される。本発明のポリペプチドは、実際、組換えベクターを欠損する宿主細胞によって発現され得ることが特に意図される。

30

【0316】

本発明のポリペプチドは、硫酸アンモニウム沈澱またはエタノール沈澱、酸抽出、陰イオンまたは陽イ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、ヒドロキシル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む周知の方法によって組換え細胞培養物から回収され得、そして精製され得る。最も好ましくは、高速液体クロマトグラフィー（「HPLC」）が精製のために使用される。

40

【0317】

本発明のポリペプチドはまた、以下から回収され得る：直接単離されるかまたは培養されるかにかかわらず、体液、組織および細胞を含む天然の供給源から精製される産物；化学的合成手順の産物；ならびに、例えば、細菌細胞、酵母細胞、高等植物細胞、昆虫細胞、および哺乳動物細胞を含む、原核生物宿主または真核生物宿主から組換え技術によって産生された産物。組換え産生手順において使用される宿主に依存して、本発明のポリペプチドは、グリコシル化されてもよく、またはグリコシル化されていなくてもよい。さらに、本発明のポリペプチドはまた、宿主媒介プロセスの結果として、いくつかの場合において

50

、最初の改変されたメチオニン残基を含み得る。従って、一般に、翻訳開始コドンによってコードされるN末端メチオニンが、すべての真核生物細胞における翻訳後の任意のタンパク質から高い効率で除去されることが、当該分野において周知である。ほとんどのタンパク質においてN末端メチオニンはまた、ほとんどの原核生物において効率的に除去されるが、いくつかのタンパク質について、この原核生物除去プロセスは、N末端メチオニンが共有結合するアミノ酸の性質に依存して、非効率的である。

【0318】

1つの実施形態において、酵母 *Pichia pastoris* は、真核細胞系において、本発明のポリペプチドを発現させるために使用される。*Pichia pastoris* は、メタノールをその唯一の炭素供給源として代謝し得るメチル栄養性 (methylo-trophic) 酵母である。メタノール代謝経路における主要な工程は、O₂ を使用してのホルムアルデヒドへのメタノールの酸化である。この反応は、酵素アルコールオキシダーゼによって触媒される。その唯一の炭素供給源としてメタノールを代謝するために、*Pichia pastoris* は、O₂ に対するアルコールオキシダーゼの比較的低い親和性に部分的に起因して、高レベルのアルコールオキシダーゼを生成する。結果的に、主要な炭素供給源としてメタノールに依存する増殖培地において、2つのアルコールオキシダーゼ遺伝子 (AOX1) のうちの1つのプロモーター領域は、非常に活性である。メタノールの存在下で、AOX1 遺伝子から産生されるアルコールオキシダーゼは、*Pichia pastoris* における総可溶性タンパク質のうちのおよそ30%までを含む。Ellis, S. B. ら、Mol. Cell. Biol. 5: 1111~21 (1985); Koutz, P. J. ら、Yeast 5: 167~77 (1989); Tschopp, J. F. ら、Nucl. Acids Res. 15: 3859~76 (1987)。従って、AOX1 調節配列の全てまたは一部の転写調節下の異種コード配列 (例えば、本発明のポリヌクレオチドなど) は、メタノールの存在下で増殖した *Pichia* 酵母において、指数関数的に高レベルで発現される。

10

20

【0319】

1つの例において、プラスミドベクター pPIC9K は、「*Pichia Protocols: Methods in Molecular Biology*」, D. R. Higgins および J. Cregg 編 (The Humana Press, Totowa, NJ, 1998) において本質的に記載されるように、*Pichia* 酵母系において、本明細書中に示されるように本発明のポリペプチドをコードするDNAを発現させるために使用される。この発現ベクターは、マルチクロニング部位の上流に位置する *Pichia pastoris* アルカリホスファターゼ (PHO) 分泌シグナルペプチド (すなわち、リーダー) に連結された強力な AOX1 プロモーターによって、本発明のタンパク質の発現および分泌を可能にする。

30

【0320】

多くの他の酵母ベクター (例えば、pYES2、pYD1、pTEF1/Zeo、pYES2/GS、pPICZ、pGAPZ、pGAPZ alpha、pPIC9、pPIC3.5、pHIL-D2、pHIL-S1、pPIC3.5K、および PAO815) は、当業者が容易に理解するように、提案された発現構築物が必要とされる場合インフレイムの AUG を含む転写、翻訳、分泌 (所望される場合) などの適切に配置されたシグナルを提供する限り、pPIC9K の代わりに使用され得る。

40

【0321】

別の実施形態において、異種コード配列 (例えば、本発明のポリヌクレオチドなど) の高レベルの発現は、本発明の異種ポリヌクレオチドを発現ベクター (例えば、pGAPZ または pGAPZ alpha など) 中にクロニングし、そしてメタノールの非存在下で酵母培養物を増殖させることによって達成され得る。

【0322】

本明細書において議論されるベクター構築物を含む宿主細胞を含むことに加えて、本発明はまた、脊椎動物起源 (特に、哺乳動物起源) の一次 (primary) 宿主細胞、二次

50

(secondary) 宿主細胞、および不死化宿主細胞を含む。これらの宿主細胞は、内因性の遺伝物質（例えば、コード配列）を欠失または置換するように操作されており、そして/あるいは本発明のポリヌクレオチドと作動可能に連結された遺伝物質（例えば、異種ポリヌクレオチド配列）を含むように操作され、そして内因性のポリヌクレオチドを活性化、変更、および/または増幅する。例えば、当該分野で公知の技術は、相同組換えを介して、異種制御領域（例えば、プロモーターおよび/またはエンハンサー）ならびに内因性ポリヌクレオチド配列を作動可能に連結するために使用され得る（例えば、1997年6月24日に発行された米国特許第5,641,670号；1996年9月26日に公開された国際公開第WO 96/29411号；1994年8月4日に公開された国際公開第WO 94/12650号；Kollerら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:8932-8935(1989)；およびZijlstraら, Nature 342:435-438(1989)を参照のこと。これらの開示の各々は、それら全体において参考として援用される）。

10

20

30

【0323】

さらに、本発明のポリペプチドは、当該分野で公知の技術を用いて化学合成され得る（例えば、Creighton, 1983, Proteins: Structures and Molecular Principles, W.H. Freeman & Co., N.Y. およびHunkapillerら, Nature, 310:105-111(1984)を参照のこと）。例えば、ポリペプチドのフラグメントに対応するポリペプチドは、ペプチド合成機の使用により合成され得る。さらに、所望の場合、非古典的アミノ酸または化学的アミノ酸アナログが、置換または付加としてこのポリペプチド配列に導入され得る。非古典的アミノ酸としては、以下が挙げられるがこれらに限定されない：通常のアミノ酸のD異性体、2,4-ジアミノ酪酸、 α -アミノイソ酪酸、4-アミノ酪酸、Abu、2-アミノ酪酸、g-Abu、e-Ahx、6-アミノヘキサン酸、Aib、2-アミノイソ酪酸、3-アミノプロピオン酸、オルニチン、ノルロイシン、ノルバリン、ヒドロキシプロリン、サルコシン、シトルリン、ホモシトルリン、システイン酸、t-ブチルグリシン、t-ブチルアラニン、フェニルグリシン、シクロヘキシルアラニン、b-アラニン、フルオロアミノ酸、デザイナーアミノ酸（例えば、b-メチルアミノ酸）、Ca-メチルアミノ酸、Na-メチルアミノ酸、および一般のアミノ酸アナログ。さらに、アミノ酸はD（右旋性）またはL（左旋性）であり得る。

【0324】

本発明は、翻訳の間または翻訳後に、例えば、グリコシル化、アセチル化、リン酸化、アミド化、公知の保護基/ブロック基による誘導体化、タンパク質分解切断、抗体分子または他の細胞性リガンドへの結合などによって差示的に改変される本発明のポリペプチドを含む。任意の多数の化学的改変は、以下を含むがこれらに限定されない公知の技術によって実施され得る：臭化シアン、トリプシン、キモトリプシン、パパイン、V8プロテアーゼ、NaBH₄による特異的化学的切断；アセチル化、ホルミル化、酸化、還元；ツニカマイシンの存在下での代謝合成；など。

【0325】

本発明によって含まれるさらなる翻訳後修飾としては、例えば、以下などが挙げられる：N結合型もしくはO結合型の炭水化物鎖（N末端またはC末端のプロセッシング）、アミノ酸骨格への化学部分の結合、N結合型もしくはO結合型の炭水化物鎖の化学修飾、および原核生物宿主細胞発現の結果としてのN末端メチオニン残基の付加もしくは欠失。このポリペプチドはまた、検出可能な標識（例えば、酵素標識、蛍光標識、同位体標識または親和性標識）を用いて改変して、このタンパク質の検出および単離が可能にされ得る。

40

【0326】

本発明によってまた、さらなる利点（例えば、このポリペプチドの溶解度、安定性および循環時間の増加、または免疫原性の減少）を提供し得る、本発明のポリペプチドの化学修飾誘導体が提供される（米国特許第4,179,337号を参照のこと）。誘導体化のための化学部分は、水溶性ポリマー（例えば、ポリエチレングリコール、エチレングリコー

50

ルノプロピレングリコールコポリマー、カルボキシメチルセルロース、デキストラン、ポリビニルアルコールなど)から選択され得る。このポリペプチドは、この分子内のランダムな位置で、またはこの分子内の所定の位置で改変され得、そして1、2、3以上の結合した化学部分を含み得る。

【0327】

このポリマーは、任意の分子量のポリマーであり得、そして分枝状であっても非分枝状であってもよい。ポリエチレングリコールに関しては、好ましい分子量は、取り扱いおよび製造の容易さのために、約1kDaと約100kDaとの間(用語「約」は、ポリエチレングリコールの調製において、いくつかの分子は示した分子量よりも重く、いくつかは示した分子量よりも軽いことを示す)である。所望の治療的プロフィール(例えば、所望される持続放出の持続時間、ある場合には生物学的活性に対する効果、取り扱いの容易さ、抗原性の程度または抗原性がないこと、および治療タンパク質またはアナログに対するポリエチレングリコールの他の公知の効果)に依存して、他のサイズが用いられ得る。

10

【0328】

ポリエチレングリコール分子(または他の化学的部分)は、このタンパク質の機能的ドメインまたは抗原性ドメインに対する影響を考慮してタンパク質に結合されるべきである。当業者に利用可能な多数の結合方法が存在する(例えば、本明細書中に参考として援用される、EP 0 401 384(G-CSFにPEGを結合する)、Malikら、Exp. Hematol. 20:1028-1035(1992)(塩化トレスルを用いたGM-CSFのペグ化(pegylation)を報告する)もまた参照のこと)。例えば、ポリエチレングリコールは、反応性基(例えば、遊離のアミノ基またはカルボキシル基)によってアミノ酸残基を介して共有結合され得る。反応性基は、活性化ポリエチレングリコール分子が結合し得る基である。遊離のアミノ基を有するアミノ酸残基としては、リジン残基およびN末端アミノ酸残基が挙げられ得る;遊離のカルボキシル基を有するアミノ酸残基としては、アスパラギン酸残基、グルタミン酸残基およびC末端アミノ酸残基が挙げられ得る。スルフヒドリル残基もまた、ポリエチレングリコール分子を結合するための反応性基として用いられ得る。治療目的のために好ましいのは、アミノ基での結合、例えば、N末端またはリジン基での結合である。

20

【0329】

N末端で化学修飾されたタンパク質を具体的に所望し得る。ポリエチレングリコールを本発明の組成の例示として用いて、種々のポリエチレングリコール分子から(分子量、分枝などによって)、反応混合物中でのポリエチレングリコール分子のタンパク質(ポリペプチド)分子に対する比、行われるべきペグ化反応の型、および選択されたN末端ペグ化タンパク質の獲得方法を選択し得る。N末端ペグ化調製物の獲得方法(すなわち、必要な場合、この部分を他のモノペグ化部分から分離すること)は、ペグ化タンパク質分子の集団からの、N末端ペグ化物質の精製により行われ得る。N末端修飾で化学修飾された選択的タンパク質は、特定のタンパク質における誘導体化に利用可能な異なる型の第1級アミノ基(リジン対N末端)の差示的反応性を利用する還元的アルキル化によって達成され得る。適切な反応条件下では、カルボニル基含有ポリマーを用いた、N末端でのタンパク質の実質的に選択的な誘導体化が達成される。

30

40

【0330】

本発明のポリペプチドは、単量体または多量体(すなわち、二量体、三量体、四量体およびより高度の多量体)であり得る。従って、本発明は、単量体および多量体の本発明のポリペプチド、それらの調製ならびにそれらを含む組成物(好ましくは治療剤)に関する。特定の実施形態では、本発明のポリペプチドは、単量体、二量体、三量体または四量体である。さらなる実施形態では、本発明の多量体は、少なくとも二量体、少なくとも三量体、または少なくとも四量体である。

【0331】

本発明によって含まれる多量体は、ホモマーまたはヘテロマーであり得る。本明細書中で用いられる場合、用語ホモマーは、配列番号Yのアミノ酸配列に対応するかまたは配列番

50

号 X によってコードされるアミノ酸配列または配列番号 X の相補体、および / または c D N A プラスミド : V によってコードされるアミノ酸配列 (本明細書中に記載されるこれらに対応する、フラグメント、改変体、スプライス改変体および融合タンパク質を含む) のみを含む多量体をいう。これらのホモマーは、同一または異なるアミノ酸配列を有するポリペプチドを含み得る。特定の実施形態では、本発明のホモマーは、同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドのみを含む多量体である。別の特定の実施形態では、本発明のホモマーは、異なるアミノ酸配列を有するポリペプチドを含む多量体である。特定の実施形態では、本発明の多量体は、ホモ二量体 (例えば、同一または異なるアミノ酸配列を有するポリペプチドを含む) あるいはホモ三量体 (例えば、同一および / または異なるアミノ酸配列を有するポリペプチドを含む) である。さらなる実施形態では、本発明のホモマー性多量体は、少なくともホモ二量体、少なくともホモ三量体または少なくともホモ四量体である。

10

【 0 3 3 2 】

本明細書中で用いられる場合、用語ヘテロマーとは、本発明のポリペプチドに加えて、1 つ以上の異種ポリペプチド (すなわち、異なるタンパク質のポリペプチド) を含む多量体をいう。特定の実施形態では、本発明の多量体は、ヘテロ二量体、ヘテロ三量体またはヘテロ四量体である。さらなる実施形態では、本発明のヘテロマー性多量体は、少なくともヘテロ二量体、少なくともヘテロ三量体または少なくともヘテロ四量体である。

【 0 3 3 3 】

本発明の多量体は、疎水性、親水性、イオン性および / もしくは共有結合性の結合の結果であり得、ならびに / または例えば、リポソーム形成によって間接的に連結され得る。従って、1 つの実施形態では、本発明の多量体 (例えば、ホモ二量体またはホモ三量体など) は、本発明のポリペプチドが溶液中で互いに接触する場合に形成される。別の実施形態では、本発明のヘテロ多量体 (例えば、ヘテロ三量体またはヘテロ四量体など) は、本発明のポリペプチドが、溶液中で本発明のポリペプチドに対する抗体 (本発明の融合タンパク質中の異種ポリペプチド配列に対する抗体を含む) と接触する場合に、形成される。他の実施形態では、本発明の多量体は、本発明のポリペプチドとの、および / または本発明のポリペプチド間での共有結合によって形成される。このような共有結合は、ポリペプチド配列 (例えば、配列番号 Y に列挙されるか、または配列番号 X および / もしくは c D N A プラスミド : V によってコードされるポリペプチド中に含まれる、ポリペプチド配列) 中に含まれる 1 以上のアミノ酸残基を含み得る。1 例では、この共有結合は、ネイティブ (すなわち、天然に存在する) ポリペプチドにおいて相互作用するポリペプチド配列間に存在するシステイン残基間での架橋である。別の例では、この共有結合は、化学的操作または組換え操作の結果である。あるいは、このような共有結合は、融合タンパク質中の異種ポリペプチド配列において含まれる、1 以上のアミノ酸残基を含み得る。1 例では、共有結合は、本発明の融合タンパク質に含まれる異種配列間にある (例えば、米国特許第 5 , 4 7 8 , 9 2 5 号を参照のこと) 。特定の例では、この共有結合は、(本明細書中に記載されるような) 本発明の F c 融合タンパク質に含まれる異種配列間にある。別の特定の例では、本発明の融合タンパク質の共有結合は、共有結合した多量体を形成し得る別のタンパク質 (例えば、オステオプロテゲリン (o s t e o p r o t e g e r i n) (例えば、国際公開第 W O 9 8 / 4 9 3 0 5 号 (この内容はその全体が本明細書中で参考として援用される) を参照のこと) など) 由来の異種ポリペプチド配列間にある。別の実施形態では、2 以上の本発明のポリペプチドは、ペプチドリンカーを介して連結される。例としては、米国特許第 5 , 0 7 3 , 6 2 7 号 (本明細書中に参考として援用される) に記載されるペプチドリンカーが挙げられる。ペプチドリンカーによって隔てられた本発明の複数のポリペプチドを含むタンパク質は、従来の組換え D N A 技術を用いて生成され得る。

20

30

40

【 0 3 3 4 】

本発明の多量体ポリペプチドを調製する別の方法は、ロイシンジッパーまたはイソロイシンジッパーのポリペプチド配列に融合した本発明のポリペプチドの使用を含む。ロイシンジッパードメインおよびイソロイシンジッパードメインは、それらが発見されたタンパク

50

質の多量体化を促進するポリペプチドである。ロイシンジッパーは、本来、いくつかのDNA結合タンパク質(Landschulzら、Science 240:1759(1988))において同定され、そしてそれ以来、種々の異なるタンパク質から見出されている。公知のロイシンジッパーは、二量体化または三量体化する天然に存在するペプチド、およびそれらの誘導体である。本発明の可溶性多量体タンパク質を産生するために適切なロイシンジッパードメインの例は、PCT出願WO94/10308(本明細書中で参考として援用される)に記載されるロイシンジッパードメインである。溶液中で二量体化または三量体化するポリペプチド配列と融合した、本発明のポリペプチドを含む組換え融合タンパク質は、適切な宿主細胞において発現され、そして得られる可溶性多量体融合タンパク質は、当該分野で公知の技術を使用して、培養上清から回収される。

10

【0335】

本発明の三量体ポリペプチドは、増大した生物学的活性の利点を提供し得る。好ましいロイシンジッパー部分およびイソロイシン部分は、優先的に三量体を形成するものである。1つの例は、Hoppeら(FEBS Letters 344:191,(1994))および米国特許出願第08/446,922号(本明細書中で参考として援用される)に記載されるような、肺サーファクタントタンパク質D(SPD)から誘導されるロイシンジッパーである。天然に存在する三量体タンパク質から誘導される他のペプチドは、本発明の三量体ポリペプチドの調製において使用され得る。

【0336】

別の例において、本発明のタンパク質は、Flag(登録商標)ポリペプチド配列を含む本発明の融合タンパク質に含まれるFlag(登録商標)ポリペプチド配列間の相互作用によって結合される。さらなる実施形態において、本発明の結合タンパク質は、本発明のFlag(登録商標)融合タンパク質に含まれる異種ポリペプチド配列と抗Flag(登録商標)抗体との間の相互作用によって結合される。

20

【0337】

本発明の多量体は、当該分野で公知の化学技術を用いて生成され得る。例えば、本発明の多量体中に含まれることが所望されるポリペプチドは、当該分野で公知のリンカー分子およびリンカー分子長最適化技術を用いて化学的に架橋され得る(例えば、米国特許第5,478,925号を参照のこと、これは、本明細書中でその全体が参考として援用される)。さらに、本発明の多量体は、多量体中に含まれることが所望されるポリペプチドの配列中に位置するシステイン残基間に1つ以上の分子間架橋を形成するために、当該分野で公知の技術を用いて生成され得る(例えば、米国特許第5,478,925号を参照のこと、これは、本明細書中でその全体が参考として援用される)。さらに、本発明のポリペプチドは、そのポリペプチドのC末端またはN末端へのシステインまたはビオチンの付加によって慣用的に改変され得、そして当該分野で公知の技術が、1つ以上のこれらの改変したポリペプチドを含む多量体を生成するために適用され得る(例えば、米国特許第5,478,925号を参照のこと、これは、本明細書中でその全体が参考として援用される)。さらに、当該分野で公知の技術は、本発明の多量体に含まれることが所望されるポリペプチド成分を含むリポソームを生成するために適用され得る(例えば、米国特許第5,478,925号を参照のこと、これは、本明細書中でその全体が参考として援用される)。

30

40

【0338】

あるいは、本発明の多量体は、当該分野で公知の遺伝子工学技術を用いて生成され得る。1つの実施形態において、本発明の多量体中に含まれるポリペプチドは、本明細書中に記載されるかまたはさもなくば当該分野で公知の融合タンパク質技術を用いて組換え産生される(例えば、米国特許第5,478,925号を参照のこと、これは、本明細書中でその全体が参考として援用される)。特定の実施形態において、本発明のホモ二量体をコードするポリヌクレオチドは、本発明のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列を、リンカーポリペプチドをコードする配列に連結し、次いで、もともとのC末端からN末端へ逆方向にポリペプチドの翻訳産物をコードする合成ポリヌクレオチド(リーダー配列

50

を欠く)に、さらに連結することによって生成される(例えば、米国特許第5,478,925号を参照のこと、これは、本明細書中でその全体が参考として援用される)。別の実施形態において、本明細書中に記載されるかまたはさもなくば当該分野で公知の組換え技術が適用されて、膜貫通ドメイン(あるいは疎水性ペプチドまたはシグナルペプチド)を含む本発明の組換えポリペプチドを生成し、そしてこれは、膜再構成技術によってリポソームに組み込まれ得る(例えば、米国特許第5,478,925号を参照のこと、これは、本明細書中でその全体が参考として援用される)。

【0339】

(抗体)

本発明のさらなるポリペプチドは、本発明の配列番号Yのポリペプチド、ポリペプチドフラグメント、もしくは改変体、および/または本発明のエピトープに免疫特異的に結合する(特異的抗体-抗原結合をアッセイするための当該分野で周知のイムノアッセイにより決定されるような)抗体およびT-細胞抗原レセプター(TCR)に関する。本発明の抗体としては、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、多重特異的抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、またはキメラ抗体、単鎖抗体、Fabフラグメント、F(ab')フラグメント、Fab発現ライブラリーによって産生されたフラグメント、抗イディオタイプ(抗Id)抗体(例えば、本発明の抗体に対する抗Id抗体が挙げられる)、および任意の上記抗体のエピトープ結合フラグメントが挙げられるが、これらに限定されない。本明細書中で使用される場合、用語「抗体」とは、免疫グロブリン分子および免疫グロブリン分子の免疫学的に活性な部分(すなわち、抗原に免疫特異的に結合する抗原結合部位を含む分子)をいう。本発明の免疫グロブリン分子は、免疫グロブリン分子の任意の型(例えば、IgG、IgE、IgM、IgD、IgA、およびIgY)、クラス(例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1およびIgA2)またはサブクラスの分子であり得る。

【0340】

最も好ましくは、抗体は、本発明のヒト抗原結合抗体フラグメントであり、そしてFab、Fab'およびF(ab')₂、Fd、単鎖Fv(scFv)、単鎖抗体、ジスルフィド連結Fv(sdFv)およびVLドメインまたはVHドメインのいずれかを含むフラグメントが挙げられるが、これらに限定されない。単鎖抗体を含む抗原結合抗体フラグメントは、可変領域を、単独であるいは以下:ヒンジ領域、CH1ドメイン、CH2ドメインおよびCH3ドメインの全体または部分との組み合わせで含み得る。ヒンジ領域、CH1ドメイン、CH2ドメインおよびCH3ドメインと可変領域の任意の組み合わせをもまた含む抗原結合フラグメントもまた、本発明に含まれる。本発明の抗体は、鳥類および哺乳動物を含む任意の動物起源由来であり得る。好ましくは、この抗体は、ヒト、ネズミ(例えば、マウスおよびラット)、ロバ、ウサギ(ship rabbit)、ヤギ、モルモット、ラクダ、ウマ、またはニワトリである。本明細書中で使用される場合、「ヒト」抗体は、ヒト免疫グロブリンのアミノ酸配列を有する抗体を含み、そしてヒト免疫グロブリンライブラリーから、または1つ以上のヒト免疫グロブリンについてトランスジェニックでかつ内因性免疫グロブリンを発現しない動物(以下および、例えば、Kucherlapaらによる米国特許第5,939,598号に記載されるような)から単離された抗体を含む。

【0341】

本発明の抗体は、一重特異的、二重特異的、三重特異的またはより多価の多重特異的であり得る。多重特異的な抗体は、本発明のポリペプチドの異なるエピトープに対して特異的であり得るか、または本発明のポリペプチドおよび異種エピトープ(例えば、異種ポリペプチドまたは固体支持体物質)の両方に特異的であり得る。例えば、PCT公開WO 93/17715; WO 92/08802; WO 91/00360; WO 92/05793; Tuttleら、J. Immunol. 147:60-69(1991); 米国特許第4,474,893号; 同第4,714,681号; 同第4,925,648号; 同第5,573,920号; 同第5,601,819号; Kostelnyら、J. Immun

10

20

30

40

50

o 1 . 1 4 8 : 1 5 4 7 - 1 5 5 3 (1 9 9 2) を参照のこと。

【 0 3 4 2 】

本発明の抗体は、これらが認識または特異的に結合する、本発明のポリペプチドのエピトープまたは部分に関して記載または特定化され得る。このエピトープまたはポリペプチドの部分は、例えば、N末端およびC末端位置によって、連続するアミノ酸残基におけるサイズによって本明細書中に記載されるように特定され得る。本発明の任意のエピトープまたはポリペプチドに特異的に結合する抗体はまた、除外され得る。従って、本発明は、本発明のポリペプチドを特異的に結合する抗体を含み、そしてこの抗体の除外について考慮する。

【 0 3 4 3 】

本発明の抗体はまた、その交差反応性について記載または特定化され得る。本発明のポリペプチドの任意の他のアナログ、オルソログまたはホモログを結合しない抗体が、含まれる。本発明のポリペプチドに対して少なくとも95%、少なくとも90%、少なくとも85%、少なくとも80%、少なくとも75%、少なくとも70%、少なくとも65%、少なくとも60%、少なくとも55%および少なくとも50%の同一性（当該分野で公知の方法および本明細書中に記載される方法を用いて計算されるように）を有するポリペプチドを結合する抗体もまた、本発明に含まれる。特定の実施形態において、本発明の抗体は、ヒトタンパク質の、マウスホモログ、ラットホモログおよび/またはウサギホモログならびに対応するそれらのエピトープと交差反応する。本発明のポリペプチドに対して95%未満、90%未満、85%未満、80%未満、75%未満、70%未満、65%未満、60%未満、55%未満および50%未満の同一性（当該分野で公知の方法および本明細書中に記載される方法を用いて計算されるように）を有するポリペプチドを結合しない抗体もまた、本発明に含まれる。特定の実施形態において、上記の交差反応性は、本明細書中に開示された、任意の単一特異的な抗原性または免疫原性ポリペプチド、あるいは2、3、4、5以上の特異的抗原性および/または免疫原性ポリペプチドの組み合わせに関する。さらに、ストリンジентなハイブリダイゼーション条件下（本明細書中で記載されるような）で本発明のポリヌクレオチドにハイブリダイズするポリヌクレオチドによりコードされるポリペプチドを結合する抗体が、本発明に含まれる。本発明の抗体はまた、本発明のポリペプチドに対するそれらの結合親和性について記載または特定化され得る。好ましい結合親和性としては、 5×10^{-2} M未満、 10^{-2} M未満、 5×10^{-3} M未満、 10^{-3} M未満、 5×10^{-4} M未満、 10^{-4} M未満、 5×10^{-5} M未満、 10^{-5} M未満、 5×10^{-6} M未満、 10^{-6} M未満、 5×10^{-7} M未満、 10^{-7} M未満、 5×10^{-8} M未満、 10^{-8} M未満、 5×10^{-9} M未満、 10^{-9} M未満、 5×10^{-10} M未満、 10^{-10} M未満、 5×10^{-11} M未満、 10^{-11} M未満、 5×10^{-12} M未満、 10^{-12} M未満、 5×10^{-13} M未満、 10^{-13} M未満、 5×10^{-14} M未満、 10^{-14} M未満、 5×10^{-15} M未満または 10^{-15} M未満の解離定数すなわちKdを有する親和性が挙げられる。

【 0 3 4 4 】

本発明はまた、競合性結合を決定するための当該分野で公知の任意の方法（例えば、本明細書中で記載されるイムノアッセイ）によって決定されるような、本発明のエピトープに対する抗体の結合を競合的に阻害する抗体を提供する。好ましい実施形態において、この抗体は、少なくとも95%、少なくとも90%、少なくとも85%、少なくとも80%、少なくとも75%、少なくとも70%、少なくとも60%、または少なくとも50%、エピトープへの結合を競合的に阻害する。

【 0 3 4 5 】

本発明の抗体は、本発明のポリペプチドのアゴニストまたはアンタゴニストとして作用し得る。例えば、本発明は、本発明のポリペプチドとのレセプター/リガンド相互作用を部分的または完全にのいずれかで破壊する抗体を含む。好ましくは、本発明の抗体は、本明細書中で開示された抗原性エピトープ、またはその部分を結合する。本発明は、レセプター特異的抗体およびリガンド特異的抗体の両方の特徴を有する。本発明はまた、リガンド

10

20

30

40

50

結合を妨害しないがレセプター活性化を妨害するレセプター特異的抗体の特徴を有する。レセプター活性化(すなわち、シグナル伝達)は、本明細書中に記載の技術、そうでなければ、当該分野で公知の技術により決定され得る。例えば、レセプター活性化は、レセプターのリン酸化(例えば、チロシンもしくはセリン/トレオニン)、または免疫沈降それに続いてウェスタンブロット分析(例えば、上記のような)によってその基質を検出することにより、決定され得る。特定の実施形態において、この抗体の非存在下で、リガンド活性またはレセプター活性を、その活性の少なくとも95%、少なくとも90%、少なくとも85%、少なくとも80%、少なくとも75%、少なくとも70%、少なくとも60%、または少なくとも50%阻害する抗体が提供される。

【0346】

本発明はまた、リガンド結合およびレセプター活性化の両方を妨げるレセプター特異的抗体、ならびにレセプターリガンド複合体を認識し、そして好ましくは、結合していないレセプターまたは結合していないリガンドを特異的に認識しないレセプター特異的抗体の特徴を有する。同様に、本発明は、リガンドと結合し、そしてレセプターへのリガンドの結合を妨げる中和抗体、およびリガントと結合し、それによりレセプター活性化を妨げるが、リガンドがレセプターを結合することを妨げない抗体を含む。さらに、本発明は、レセプターを活性化する抗体を含む。これらの抗体は、レセプターアゴニストとして作用し得、すなわち、例えば、レセプターの二量化を誘発することによってリガンド媒介レセプター活性化の生物学的活性化の全てまたはサブセットのいずれかを増強するかまたは活性化し得る。この抗体は、本明細書中に開示される本発明のペプチドの特異的生物学的活性を含む生物学的活性についてのアゴニスト、アンタゴニストまたは逆アゴニストとして特定化され得る。上記抗体アゴニストは、当該分野で公知の方法を用いて作製され得る。例えば、PCT公開WO96/40281; 米国特許第5,811,097号; Dengら、Blood 92(6):1981-1988(1998); Chenら、Cancer Res. 58(16):3668-3678(1998); Harropら、J. Immunol. 161(4):1786-1794(1998); Zhuら、Cancer Res. 58(15):3209-3214(1998); Yoonら、J. Immunol. 160(7):3170-3179(1998); Pratら、J. Cell. Sci. 111(Pt2):237-247(1998); Pitardら、J. Immunol. Methods 205(2):177-190(1997); Liautarら、Cytokine 9(4):233-241(1997); Carlsonら、J. Biol. Chem. 272(17):11295-11301(1997); Tarymanら、Neuron 14(4):755-762(1995); Mullerら、Structure 6(9):1153-1167(1998); Bartunekら、Cytokine 8(1):14-20(1996)(上記の文献は、全て、その全体が参考として本明細書中に援用される)を参照のこと。

【0347】

本発明の抗体は、例えば、これらに限定されないが、本発明のポリペプチドを精製し、検出し、そして標的化するために使用され得る。これらは、インビトロおよびインビボの両方での診断方法および治療方法を含む。例えば、この抗体は、生物学的サンプルにおける本発明のポリペプチドのレベルを定性的におよび定量的に測定するためのイムノアッセイにおける使用を有す。例えば、Harlowら、Antibodies: A Laboratory Manual, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 第2版, 1988)(本明細書中でその全体が参照として援用される)を参照のこと。

【0348】

以下にさらに詳細に議論されるように、本発明の抗体は、単独または他の化合物との組み合わせのいずれかで使用され得る。この抗体はさらに、ポリペプチドまたは他の組成物へN末端でもしくはC末端で異種ポリペプチドに組換え的に融合され得るか、または化学的に結合(共有結合および非共有結合を含む)され得る。例えば、本発明の抗体は、検出ア

10

20

30

40

50

ッセイにおける標識として有用な分子および異種ポリペプチド、薬剤、放射性核種、または毒素のようなエフェクター分子へ組換え的に融合または結合され得る。例えば、PCT公開WO92/08495; WO91/14438; WO89/12624; 米国特許第5,314,995号; および欧州特許第396,387号を参照のこと。

【0349】

本発明の抗体は、改変された(すなわち、共有結合性付着(covale n t a t t a c h m e n t)が、抗体が抗イディオタイプ応答を生じるのを妨げないような、抗体に対する任意の型の分子の共有結合性付着による)誘導体を含む。例えば、制限されないが、抗体誘導体には、例えば、グリコシル化、アセチル化、ペグ化(pegylation)、リン酸化(phosphorylation)、アミド化、既知の保護基/ブロック基(blocking group)による誘導体化、タンパク質分解性切断、細胞性リガンドまたは他のタンパク質への連結などによって改変された抗体が挙げられる。多数の任意の化学的改変が、特異的切断、アセチル化、ホルミル化、ツニカマイシンの代謝的合成などを含むが、これらに制限されない公知の技術によって実行され得る。さらに、誘導体は、1つ以上の非古典的アミノ酸を含み得る。

10

【0350】

本発明の抗体は、当該分野で公知の任意の適切な方法によって産生され得る。目的の抗原に対するポリクローナル抗体は、当該分野で周知の種々の手順によって産生され得る。例えば、本発明のポリペプチドが種々の宿主動物(ウサギ、マウス、ラットなどが挙げられるがこれらに限定されない)に投与されて、抗原に対して特異的なポリクローナル抗体を含む血清の産生を誘導し得る。種々のアジュバントが、宿主種に依存して、免疫学的応答を増加させるために使用され得、そしてフロイント(完全および不完全)、水酸化アルミニウムのようなミネラルゲル(mineral gel)、リゾレシチンのような界面活性物質、プルロニック(pluronic)ポリオール、ポリアニオン、ペプチド、油エマルジョン、キーホールリンペットヘモシアニン、ジニトロフェノール、ならびにBCG(カルメット-ゲラン桿菌)およびcorynebacterium parvumのような潜在的に有用なヒトアジュバントを含むが、これらに限定されない。このようなアジュバントはまた、当該分野で周知である。

20

【0351】

モノクローナル抗体は、ハイブリドーマ、組換え、およびファージディスプレイ技術、またはそれらの組み合わせの使用を含む、当該分野で公知の広範な種々の技術を用いて調製され得る。例えば、モノクローナル抗体は、当該分野で公知の以下に挙げられるハイブリドーマ技術を使用して産生され得、例えば、Harlowら、Antibodies: A Laboratory Manual, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 第2版、1988); Hammerlingら、Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas 563-681 (Elsevier, N.Y. 1981) (上記の参考文献は、その全体が参考として援用される)に教示される。本明細書中で使用される場合、用語「モノクローナル抗体」とは、ハイブリドーマ技術を通して生成された抗体に限定されない。用語「モノクローナル抗体」とは、任意の真核生物、原核生物、またはファージクローンを

30

40

【0352】

ハイブリドーマ技術を用いて特異的抗体を産生およびスクリーニングする方法は、当該分野で慣用的かつ周知であり、そして実施例に詳細に議論される。非限定的な例において、マウスは、本発明のポリペプチドまたはそのようなペプチドを発現する細胞を用いて免疫され得る。一旦免疫応用が検出される(例えば、抗原に特異的な抗体がマウスの血清中に検出されると)、マウスの脾臓を収集しそして脾細胞を単離する。次に、その脾細胞を周知の技術によって任意の適切な骨髓腫細胞(例えば、ATCCから入手可能な細胞株SP20由来の細胞)に融合させる。ハイブリドーマを限界希釈によって選択およびクローニ

50

ングする。次に、ハイブリドーマクローンを、本発明のポリペプチドに結合し得る抗体を分泌する細胞について、当該分野で公知の方法によってアッセイする。一般的に高いレベルの抗体を含む腹水 (ascites fluid) が、陽性ハイブリドーマクローンをを用いてマウスを免疫することによって、産生され得る。

【0353】

従って、本発明は、モノクローナル抗体および本発明の抗体を分泌するハイブリドーマ細胞を培養する工程を包含する方法によって産生される抗体を、生成する方法を提供し、ここで、好ましくは、このハイブリドーマは、骨髓腫細胞と本発明の抗原で免疫したマウスから単離された脾細胞とを融合させ、次いで本発明のポリペプチドと結合し得る抗体を分泌するハイブリドーマクローンについて、融合物から生じるハイブリドーマをスクリーニングすることによって生成される。

10

【0354】

特定のエピトープを認識する抗体フラグメントは、公知の技術により産生され得る。例えば、本発明の Fab フラグメントおよび F(ab')₂ フラグメントは、パパイン (Fab フラグメントを産生するため) またはペプシン (F(ab')₂ フラグメントを産生するため) のような酵素を使用して、免疫グロブリン分子のタンパク質分解性切断によって産生され得る。F(ab')₂ フラグメントは、可変領域、軽鎖定常領域および重鎖の C_H1 ドメインを含む。

【0355】

例えば、本発明の抗体はまた、当該分野に公知の種々のファージディスプレイ方法を用いて産生され得る。ファージディスプレイ方法において、機能的な抗体ドメインは、それらをコードするポリヌクレオチド配列を保有するファージ粒子の表面上に提示される。特定の実施形態において、このようなファージを、レパートリー抗体ライブラリーまたはコンビナトリアル抗体ライブラリー (例えば、ヒトまたはマウス) から発現される抗原結合ドメインを提示するために利用し得る。目的の抗原と結合する抗原結合ドメインを発現するファージを、抗原を用いて、(例えば、標識化抗原、あるいは固体表面または固体ビーズへ結合または捕捉された抗原を使用して) 選択または同定し得る。これらの方法において使用されるファージは、代表的に、ファージ遺伝子 III タンパク質またはファージ遺伝子 VIII タンパク質のいずれかに組換え的に融合された Fab、Fv またはジスルフィド安定化された Fv の抗体ドメインを有するファージから発現された fd および M13 結合ドメインを含む糸状 (filamentous) ファージである。本発明の抗体を作製するために用いられ得るファージディスプレイ方法の例としては、以下に開示される方法が挙げられる: Brinkman ら、J. Immunol. Methods 182: 41~50 (1995); Ames ら、J. Immunol. Methods 184: 177~186 (1995); Kettleborough ら、Eur. J. Immunol. 24: 952~958 (1994); Persic ら、Gene 187: 9~18 (1997); Burton ら、Advances in Immunology 57: 191~280 (1994); PCT 出願 PCT/GB91/01134; PCT 公開 WO90/02809; WO91/10737; WO92/01047; WO92/18619; WO93/11236; WO95/15982; WO95/20401; ならびに米国特許第 5,698,426 号; 同第 5,223,409 号; 同第 5,403,484 号; 同第 5,580,717 号; 同第 5,427,908 号; 同第 5,750,753 号; 同第 5,821,047 号; 同第 5,571,698 号; 同第 5,427,908 号; 同第 5,516,637 号; 同第 5,780,225 号; 同第 5,658,727 号; 同第 5,733,743 号および同第 5,969,108 号 (これらのそれぞれは、その全体が参考として援用される)。

20

30

40

【0356】

上記参考文献に記載されているように、ファージ選択後、ファージ由来の抗体をコードする領域は、ヒト抗体を含む抗体の全体、または任意の他の所望の抗原結合フラグメントを作製するために単離および使用され得、そして例えば、以下に詳細に記載されるように、

50

哺乳動物細胞、昆虫細胞、植物細胞、酵母および細菌を含む任意の所望の宿主において発現され得る。例えば、Fab、Fab'およびF(ab')₂フラグメントを組換え的に産生するための技術はまた、当該分野で公知の方法を用いて使用され得る。この方法は、例えば、以下に開示される方法である：PCT公開WO92/22324；Mullinaxら、BioTechniques 12(6)：864-869(1992)；およびSawaiら、AJRI 34：26-34(1995)；およびBetterら、Science 240：1041-1043(1998)(上記の参考文献は、その全体が参考として援用される)。

【0357】

単鎖のFvおよび抗体を産生するために用いられ得る技術の例としては、米国特許第4,946,778号および同第5,258,498号；Hustonら、Methods in Enzymology 203：46-88(1991)；Shuら、PNAS 90：7995-7999(1993)；およびSkerraら、Science 240：1038-1040(1988)に記載される技術が挙げられる。ヒトにおける抗体のインビボにおける使用およびインビトロ検出アッセイを含むいくつかの用途のために、キメラ抗体、ヒト化抗体またはヒト抗体の使用が好ましくあり得る。キメラ抗体とは、抗体の異なる部分が、異なる動物種に由来する分子(例えば、マウスモノクローナル抗体由来の可変領域およびヒト免疫グロブリン定常領域を有する抗体)である。キメラ抗体を産生するための方法は、当該分野において公知である。例えば、Morrisson, Science 229：1202(1985)；Oira, BioTechniques 4：214(1986)；Gilliesら、(1989) J. Immunol. Methods 125：191-202；米国特許第5,807,715号；同第4,816,567号；および同第4,816,397号を参照のこと(これらはそれらの全体が、参考として本明細書中に援用される)。ヒト化抗体は、非ヒト種由来の1つ以上の相補性決定領域(CDR)およびヒト免疫グロブリン分子由来のフレームワーク領域を有する所望された抗原に結合する非ヒト種抗体由来の抗体分子である。しばしば、ヒトフレームワーク領域内のフレームワーク残基(framework residue)は、抗原結合を変化させるため(好ましくは改善させるために)CDRドナー抗体由来の対応残基と置換される。これらフレームワークの置換は、当該分野で周知の方法によって同定され、例えば、抗原結合に重要なフレームワーク残基を同定するためのCDRおよびフレームワーク残基の相互作用のモデリング、ならびに特定の位置における異常なフレームワーク残基を同定するための配列比較による。(例えば、Queenら、米国特許第5,585,089号；Riechmannら、Nature 332：323(1988)を参照のこと(これらはそれらの全体が参考として本明細書中に援用される)。)抗体は、以下を含む当該分野で公知の種々の技術を用いてヒト化され得る：例えば、CDR-移植(欧州特許第239,400号；PCT公開WO 91/09967；米国特許第5,225,539号；同第5,530,101号および同第5,585,089号)、ベニヤリング(veneering)またはリサーフェイシング(resurfacing)(欧州特許第592,106号；同第519,596号；Padlan, Molecular Immunology 28(4/5)：489-498(1991)；Studnickaら、Protein Engineering 7(6)：805-814(1994)；Roguskaら、PNAS 91：969-973(1994))、およびチェーンシャッフリング(chain shuffling)(米国特許第5,565,332号)。

【0358】

完全なヒト抗体は、ヒト患者の治療的処置に対して特に所望される。ヒト抗体は、ヒト免疫グロブリン配列に由来する抗体ライブラリーを用いた上記のファージディスプレイ法を含む当該分野で公知の種々の方法により作製され得る。米国特許第4,444,887号、同第4,716,111号；およびPCT公開WO 98/46645、WO 98/50433、WO 98/24893、WO 98/16654、WO 96/3409

6、WO 96/33735、およびWO 91/10741；（これらの各々はその全体が参考として本明細書中に援用される）もまた参照のこと。

【0359】

ヒト抗体はまた、機能的内因性免疫グロブリンの発現は出来ないが、ヒト免疫グロブリン遺伝子を発現し得るトランスジェニックマウスを用いて産生され得る。例えば、ヒト重鎖免疫グロブリン遺伝子およびヒト軽鎖免疫グロブリン遺伝子の複合体は、無作為にまたは相同組換えによってマウス胚性幹細胞に導入され得る。あるいは、ヒト可変領域、定常領域および多様性領域 (diversity region) は、ヒト重鎖遺伝子およびヒト軽鎖遺伝子に加えて、マウスの胚性幹細胞に導入され得る。マウス重鎖免疫グロブリン遺伝子およびマウス軽鎖免疫グロブリン遺伝子は、相同組換えによるヒト免疫グロブリン座の導入と別々にまたは同時に非機能的にされ得る。特に、JH領域のホモ接合性の欠失は、内因性抗体の産生を妨げる。改変された胚性幹細胞を発展させ、そしてキメラマウスを産生するために胚盤胞中に微量注入する。次に、キメラマウスを、ヒト抗体を発現するホモ接合性の子孫を産生するために繁殖させる。トランスジェニックマウスを、選択された抗原（例えば、本発明のポリペプチドの全体または部分）を用いて通常の様式で免疫する。抗原に対するモノクローナル抗体は、従来ハイブリドーマ技術を用いた免疫したトランスジェニックマウスから得られ得る。トランスジェニックマウスに保持されたヒト免疫グロブリン導入遺伝子は、B細胞分化の間に再編成し、そしてその後、クラススイッチングおよび体細胞変異を受ける。従って、そのような技術の使用によって、治療的に有用なIgG抗体、IgA抗体、IgM抗体およびIgE抗体の産生が可能である。ヒト抗体を産生するためのこの技術の概要については、LonbergおよびHuszar、Int. Rev. Immunol. 13: 65-93 (1995)を参照のこと。ヒト抗体およびヒトモノクローナル抗体を産生するためのこの技術のならびにそのような抗体を産生するためのプロトコールの詳細な議論については、例えば、PCT公開WO98/24893；WO92/01047；WO96/34096；WO96/33735；欧州特許第0598877；米国特許第5,413,923号；同第5,625,126号；同第5,633,425号；同第5,569,825号；同第5,661,016号；同第5,545,806号；同第5,814,318号；同第5,885,793号；同第5,916,771号；および同第5,939,598号を参照のこと（これらはその全体が本明細書中に参考として援用される）。さらに、Abgenix, Inc. (Freemont, CA) および Genpharm (San Jose, CA) のような企業は、上記の技術に類似した技術を用いて選択された抗原に対するヒト抗体を提供することに従事し得る。

【0360】

選択されたエピトープを認識する完全なヒト抗体を、「ガイドされた (guided) 選択」といわれる技術を用いて産生し得る。このアプローチにおいて、選択された非ヒトモノクローナル抗体（例えば、マウス抗体）は、同じエピトープを完全に認識するヒト抗体の選択を導くために使用される。（Jespersら、Bio/technology 12: 899-903 (1988)）。

【0361】

さらに、本発明のポリペプチドに対する抗体は、当業者に周知の技術を用いて本発明のポリペプチドを「模倣する」抗イディオタイプ抗体を産生するために順々に利用され得る。（例えば、GreenspanおよびBona、FASEB J. 7(5): 437-444；(1989) および Nissinoff, J. Immunol. 147(8): 2429-2438 (1991) を参照のこと。）例えば、結合し、そしてポリペプチドの多量体化 (multimerization) および/またはリガンドに対する本発明のポリペプチドの結合を競合的に阻害する抗体が、ポリペプチドの多量体化ドメインおよび/または結合ドメインを「模倣する」抗イディオタイプを産生するために使用され得、そして結果としてポリペプチドおよび/またはそのリガンドに結合し、そして中和する。このような抗イディオタイプまたはそのような抗イディオタイプのFabフラグメントの中

10

20

30

40

50

和は、ポリペプチドリガンドを中和するための治療的レジメンに使用され得る。例えば、そのような抗イディオタイプ抗体は、本発明のポリペプチドに結合するためおよび/またはそのリガンド/レセプターに結合するために使用され得、そしてそれによってその生物学的活性がブロックされる。

【0362】

(抗体をコードするポリヌクレオチド)

本発明はさらに、本発明の抗体をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドおよびそのフラグメントを提供する。本発明はまた、ストリンジェントな、またはより低いストリジェンシーなハイブリダイゼーション条件下で(例えば、上記に定義されるような)抗体(好ましくは、本発明のポリペプチドと特異的に結合する、好ましくは、配列番号 Y のアミノ酸配列を有するポリペプチドに結合する抗体)をコードするポリヌクレオチドにハイブリダイズするポリヌクレオチドを含む。

10

【0363】

ポリヌクレオチドは、当該分野で公知の任意の方法によって得られ得、そしてそのポリヌクレオチドのヌクレオチド配列は当該分野で公知の任意の方法によって決定される。例えば、抗体のヌクレオチド配列が知られている場合、この抗体をコードするポリヌクレオチドは、化学的に合成されたオリゴヌクレオチドから構築され得(例えば、Kutmeierら、BioTechniques 17:242(1994)に記載されるような)、これは、簡単にいうと、以下の工程を包含する:この抗体をコードする配列の部分を含むオーバーラップするオリゴヌクレオチドの合成、これらのオリゴヌクレオチドのアニーリングおよび連結、次いでPCRによる連結されたオリゴヌクレオチドの増幅。

20

【0364】

あるいは、抗体をコードするポリヌクレオチドは、適切な供給源由来の核酸から生成され得る。特定の抗体をコードする核酸を含むクローンは入手不可能だが、その抗体分子の配列が既知である場合、その免疫グロブリンをコードする核酸は、化学的に合成され得るか、あるいは適切な供給源(例えば、抗体cDNAライブラリー、または抗体を発現する任意の組織もしくは細胞(例えば、本発明の抗体の発現のために選択されたハイブリドーマ細胞)から生成されたcDNAライブラリー、またはそれから単離された核酸(好ましくはポリA+RNA))から、例えば、その抗体をコードするcDNAライブラリーからのcDNAクローンを同定するために、配列の3'末端および5'末端にハイブリダイズ可能な合成プライマーを使用するPCR増幅によって、または特定の遺伝子配列に特異的なオリゴヌクレオチドプローブを使用するクローニングによって得られ得る。PCRによって生成された増幅された核酸は、次いで、当該分野で周知の任意の方法を用いて、複製可能なクローニングベクターにクローニングされ得る。

30

【0365】

一旦、抗体のヌクレオチド配列および対応するアミノ酸配列が決定されると、抗体のヌクレオチド配列は、ヌクレオチド配列の操作について当該分野で周知の方法(例えば、組換えDNA技術、部位指向性変異誘発、PCRなど(例えば、Sambrookら、1990, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 第2版、Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NYおよびAusubelら編、1998, Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NYに記載の技術を参照のこと。これらは両方がその全体において本明細書に参考として援用される。))を用いて操作され、例えば、アミノ酸の置換、欠失、および/または挿入を生じるように異なるアミノ酸配列を有する抗体を生成し得る。

40

【0366】

特定の実施形態において、重鎖および/または軽鎖の可変ドメインのアミノ酸配列は、相補性決定領域(CDR)の配列の同定のために、当該分野において周知の方法によって(例えば、配列超可変性の領域を決定するために、他の重鎖、および軽鎖の可変領域を既知のアミノ酸配列と比較することによって)調べられ得る。慣用的な組換えDNA技術を用

50

いて、1つ以上のCDRが、前述のようにフレームワーク領域内に（例えば、非ヒト抗体をヒト化するために、ヒトフレームワーク領域中に）挿入され得る。このフレームワーク領域は天然に存在し得るか、またはコンセンサスフレームワーク領域であり得、そして好ましくはヒトフレームワーク領域であり得る（例えば、列挙したヒトフレームワーク領域については、Chothiaら、*J. Mol. Biol.* 278: 457-479 (1998)を参照のこと）。好ましくは、フレームワーク領域およびCDRの組み合わせによって生成されたポリヌクレオチドは、本発明のポリペプチドに特異的に結合する抗体をコードする。好ましくは、上記に議論されるように、1つ以上のアミノ酸置換は、フレームワーク領域内でなされ得、そして好ましくは、そのアミノ酸置換は、抗体のその抗原への結合を改善する。さらに、このような方法は、1つ以上の鎖内ジスルフィド結合が欠如した抗体分子を生成するために、鎖内ジスルフィド結合に關与する1つ以上の可変領域のシステイン残基のアミノ酸置換または欠失を作製するために使用され得る。ポリヌクレオチドへの他の変更は、本発明によって、および当該分野の技術内に包含される。

10

【0367】

さらに、適切な抗原特異性のマウス抗体分子由来の遺伝子を、適切な生物学的活性のヒト抗体分子由来の遺伝子と共にスプライシングさせることによって、「キメラ抗体」を産生するために開発された技術（Morrisonら、*Proc. Natl. Acad. Sci.* 81: 851-855 (1984)；Neubergerら、*Nature* 312: 604-608 (1984)；Takedaら、*Nature* 314: 452-454 (1985)）が使用され得る。上記のように、キメラ抗体は、異なる部分が異なる動物種に由来する分子であり、このような分子は、マウスmAbおよびヒト免疫グロブリンの定常領域由来の可変領域を有する（例えば、ヒト化抗体）。

20

【0368】

あるいは、単鎖抗体の産生に関して記載された技術（米国特許第4,946,778号；Bird、*Science* 242: 423-42 (1988)；Houstonら、*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85: 5879-5883 (1988)；およびWardら、*Nature* 334: 544-54 (1989)）が、単鎖抗体の産生に適応され得る。単鎖抗体は、Fv領域の重鎖フラグメントおよび軽鎖フラグメントがアミノ酸架橋を介して連結されることによって形成され、単鎖ポリペプチドを生じる。E. coliにおける機能性Fvフラグメントのアセンブリのための技術もまた、使用され得る（Skerraら、*Science* 242: 1038-1041 (1988)）。

30

【0369】

（抗体を産生する方法）

本発明の抗体は、抗体を合成するための当該分野で公知の任意の方法によって、特に、化学合成によって、または、好ましくは、組換え発現技術によって産生され得る。

【0370】

本発明の抗体、またはそのフラグメント、誘導體もしくはアナログ（例えば、本発明の重鎖もしくは軽鎖の抗体または本発明の単鎖抗体）の組換え発現は、その抗体をコードするポリヌクレオチドを含有する発現ベクターの構築を必要とする。一旦、本発明の抗体分子または抗体の重鎖もしくは軽鎖、あるいはそれらの部分（好ましくは、重鎖または軽鎖の可変ドメインを含有する）をコードするポリヌクレオチドが得られると、抗体分子の産生のためのベクターは、当該分野で周知の技術を用いる組換えDNA技術によって生成され得る。従って、抗体をコードするヌクレオチド配列を含有するポリヌクレオチドの発現によってタンパク質を調製するための方法は、本明細書に記載される。当業者に周知の方法は、抗体をコードする配列ならびに適切な転写制御シグナルおよび翻訳制御シグナルを含む発現ベクターの構築のために使用され得る。これらの方法には、例えば、インピットの組換えDNA技術、合成技術、およびインピボの遺伝子組換えが挙げられる。従って、本発明は、プロモーターに作動可能に連結された、本発明の抗体分子、あるいはその重鎖もしくは軽鎖、または重鎖もしくは軽鎖の可変ドメインをコードするヌクレオチド配列を含

40

50

む、複製可能なベクターを提供する。このようなベクターは、抗体分子の定常領域（例えば、PCT公開 WO 86 / 0 5 8 0 7 ; PCT公開 WO 8 9 / 0 1 0 3 6 ; および米国特許第 5 , 1 2 2 , 4 6 4 号を参照のこと）をコードするヌクレオチド配列を含み得、そしてこの抗体の可変ドメインは、重鎖または軽鎖の全体の発現のためにこのようなベクターにクローニングされ得る。

【 0 3 7 1 】

この発現ベクターは、従来技術によって宿主細胞へと移入され、そしてこのトランスフェクトされた細胞は、次いで、本発明の抗体を産生するために、従来技術によって培養される。従って、本発明は、異種プロモーターに作動可能に連結された、本発明の抗体、あるいはその重鎖もしくは軽鎖、または本発明の単鎖抗体をコードするポリヌクレオチドを含む宿主細胞を含む。二重鎖抗体の発現についての好ましい実施形態において、重鎖および軽鎖の両方をコードするベクターは、以下に詳述されるように、免疫グロブリン分子全体の発現のために宿主細胞中に同時発現され得る。

10

【 0 3 7 2 】

種々の宿主発現ベクター系は、本発明の抗体分子を発現させるために利用され得る。このような宿主発現系は、目的のコード配列が産生され、かつ続いて精製され得るピヒクルを表わすが、また、適切なヌクレオチドをコードする配列で形質転換またはトランスフェクトされる場合に、インサイチュで本発明の抗体分子を発現し得る細胞を表わす。これらには、以下が挙げられるが、これらに限定されない：抗体をコードする配列を含む組換えバクテリオファージ DNA、プラスミド DNA または コスミド DNA 発現ベクターを用いて形質転換された細菌（例えば、*E. coli*、*B. subtilis*）のような微生物；抗体をコードする配列を含む組換え酵母発現ベクターで形質転換された酵母（例えば、*Saccharomyces*、*Pichia*）；抗体をコードする配列を含む組換えウイルス発現ベクター（例えば、バキュロウイルス）に感染した昆虫細胞系；組換えウイルス発現ベクター（例えば、カリフラワーモザイクウイルス、*CaMV*；タバコモザイクウイルス、*TMV*）に感染した植物細胞系または抗体をコードする配列を含む組換えプラスミド発現ベクター（例えば、*Ti* プラスミド）で形質転換された植物細胞系；あるいは哺乳動物細胞のゲノムに由来するプロモーター（例えば、メタロチオネインプロモーター）または哺乳動物のウイルスに由来するプロモーター（例えば、アデノウイルス後期プロモーター；ワクシニアウイルス 7.5 K プロモーター）を含む組換え発現構築物を保有する哺乳動物細胞系（例えば、*COS*、*CHO*、*BHK*、*293*、*3T3* 細胞）。好ましくは、*Escherichia coli* のような細菌細胞、そしてより好ましくは、特に、組換え抗体分子全体の発現のために真核生物細胞が、組換え抗体分子の発現のために使用される。例えば、ヒトサイトメガロウイルス由来の主要中間初期遺伝子プロモーターエレメントのようなベクターと組み合わせられた、チャイニーズハムスターの卵巣細胞（*CHO*）のような哺乳動物細胞が、抗体のための効果的な発現系である（*Foeckling* ら、*Gene* 45 : 101 (1986) ; *Cockett* ら、*Bio / Technology* 8 : 2 (1990))。

20

30

【 0 3 7 3 】

細菌系において、多くの発現ベクターが、抗体分子の発現を意図する使用に依存して有利に選択され得る。例えば、多量のこのようなタンパク質が産生されるべき場合、抗体分子の薬学的組成物の生成のために、容易に精製される融合タンパク質産物の高レベルの発現を指向するベクターが所望され得る。このようなベクターには、以下が挙げられるが、これらに限定されない：抗体をコードする配列が *lacZ* をコードする領域と共にベクターにインフレーム (*in frame*) で個別に連結され得、その結果、融合タンパク質が産生される *E. coli* 発現ベクター *pUR278* (*Rutherford* ら、*EMBO J.* 2 : 1791 (1983)) ; *pIN* ベクター (*Inouye & Inouye*、*Nucleic Acids Res.* 13 : 3101 - 3109 (1985)) ; *Van Heek & Schuster*、*J. Biol. Chem.* 24 : 5503 - 5509 (1989)) など。 *pGEX* ベクターもまた、グルタチオン *S* - トランスフェラーゼ (*GST*) と

40

50

の融合タンパク質として、外来性ポリペプチドを発現させるために使用され得る。一般に、このような融合タンパク質は可溶性であり、そして溶解した細胞から、マトリックスグルタチオン-アガロースビーズへの吸着および結合、それに続く遊離グルタチオン存在下での溶出によって容易に精製され得る。この p G E X ベクターは、トロンピンまたは X a 因子プロテアーゼ切断部位を含むように設計され、その結果、このクローニングされた標的遺伝子産物は、G S T 部分から遊離され得る。

【0374】

昆虫系においては、*Autographa californica* 核多角体病ウイルス (AcNPV) は、外来遺伝子を発現するためのベクターとして使用される。このウイルスは、*Spodoptera frugiperda* 細胞において増殖する。抗体をコードする配列は、このウイルスの非必須の領域 (例えばポリヘドリン遺伝子) に個々にクローニングされ得、そして AcNPV プロモーター (例えばポリヘドリンプロモーター) の制御下に配置され得る。

10

【0375】

哺乳動物宿主細胞においては、多数のウイルスに基づく発現系が利用され得る。アデノウイルスが発現ベクターとして使用される場合においては、目的の抗体をコードする配列は、アデノウイルスの転写/翻訳制御複合体、例えば後期プロモーターおよび3つの部分に分かれるリーダー配列、に連結され得る。次いで、このキメラ遺伝子は、インビトロまたはインビボでの組換えによって、アデノウイルスゲノムに挿入され得る。ウイルスゲノムの非必須領域 (例えば、E1 または E3 領域) における挿入は、生存可能で、感染した宿主において抗体分子を発現する能力のある組換えウイルスを生じる (例えば、Logan & Shenk, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81: 355-359 (1984) を参照のこと)。特異的開始シグナルはまた、挿入された抗体をコードする配列の効率的な翻訳のために必要とされ得る。これらのシグナルは、ATG 開始コドンおよび隣接する配列を含む。さらに、この開始コドンは、挿入部分全体の翻訳を確実にするために、所望されるコード配列のリーディングフレームと相が同じでなければならない。これらの外因性翻訳制御シグナルおよび開始コドンは、種々の起源 (天然および合成の両方) であり得る。発現の効率は、適切な転写エンハンサーエレメント、転写ターミネーター、などの含有によって高められ得る (Bittnerら、Methods in Enzymol. 153: 51-544 (1987) を参照のこと)。

20

30

【0376】

さらに、挿入配列の発現を調節するか、または、所望される特定の様式で遺伝子産物を改変し、そしてプロセッシングする宿主細胞系統が、選択され得る。タンパク質産物のこのような改変 (例えばグリコシル化) およびプロセッシング (例えば切断) は、タンパク質の機能のために重要であり得る。異なる宿主細胞は、タンパク質および遺伝子産物の、翻訳後プロセッシングおよび改変のための、特徴的で特異的な機構を有する。適切な細胞株または宿主系は、発現される外来タンパク質の正確な改変およびプロセッシングを確実にするように選択され得る。この目的のために、遺伝子産物の、第一の転写物の正確なプロセッシング、グリコシル化、およびリン酸化のための細胞機構を有する真核生物宿主細胞が、使用され得る。このような哺乳動物宿主細胞としては、CHO、VERY、BHK、HeLa、COS、MDCK、293、3T3、WI38、そして特に、例えば、BT483、Hs578T、HTB2、BT20 および T47D のような乳癌細胞株、ならびに、例えば、CRL7030 および Hs578Bst のような正常な乳腺細胞株が挙げられるが、これらに限定されない。

40

【0377】

組換えタンパク質の長期間の高収率産生、安定発現が好ましい。例えば、安定に抗体分子を発現する細胞株が操作され得る。ウイルスの複製起点を含む発現ベクターを使用するよりも、宿主細胞は、適切な発現制御エレメント (例えば、プロモーター、エンハンサー、配列、転写ターミネーター、ポリアデニル化部位、など) 、および選択マーカーによって制御される DNA で形質転換され得る。外来 DNA の導入に続いて、操作された細胞は、

50

1～2日間富化培地で増殖され得、次いで、選択培地に切り替えられる。組換えプラスミドにおける選択マーカーは、選択に対する耐性を与え、そして細胞が、プラスミドをその染色体内に安定に組み込み、そして増殖して、細胞増殖巣を形成し、これを今度はクローニングし得、細胞株に拡大され得ることを可能にする。この方法は、抗体分子を発現する細胞株を操作するために、有利に使用され得る。このような操作された細胞株は、直接的または間接的に抗体分子と相互作用する化合物のスクリーニングおよび評価において、特に有用であり得る。

【0378】

多数の選択系が使用され得、これらの選択系としては、単純ヘルペスウィルスチミジンキナーゼ (Wiglerら、Cell 11:223 (1977))、ヒポキサンチン-グアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ (Szybalska & Szybalski、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 48:202 (1992))、およびアデニンホスホリボシルトランスフェラーゼ (Lowyら、Cell 22:817 (1980))の遺伝子が挙げられるがこれらに限定されず、これらの遺伝子は、tk-、hgprt-またはaprt-細胞においてそれぞれ使用され得る。また、代謝拮抗物質耐性は、以下の遺伝子の選択の基準として使用され得る：dhfr、これはメトトレキサートに対する耐性を与える (Wiglerら、Natl. Acad. Sci. USA 77:357 (1980))；O'Hareら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:1527 (1981))；gpt、これはミコフェノール酸に対する耐性を与える (Mulligan & Berg、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:2072 (1981))；neo、これはアミノグリコシドG-418に対する耐性を与える (Clinical Pharmacy 12:488-505；WuおよびWu、Biotherapy 3:87-95 (1991))；Tolstoshev、Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 32:573-596 (1993))；Mulligan、Science 260:926-932 (1993))；ならびにMorganおよびAnderson、Ann. Rev. Biochem. 62:191-217 (1993))；1993年5月、TIB TECH 11(5):155-215))；およびhygro、これはハイグロマイシンに対する耐性を与える (Santereら、Gene 30:147 (1984))。組換えDNA技術の分野で周知の方法は、所望の組換えクローンを選択するために慣用的に適用され得、そしてこのような方法は、以下に記載されている：例えば、Ausubelら(編)、Current Protocols in Molecular Biology、John Wiley & Sons、NY (1993))；Kriegler、Gene Transfer and Expression、A Laboratory Manual、Stockton Press、NY (1990))；ならびに12章および13章、Dracopolisら(編)、Current Protocols in Human Genetics、John Wiley & Sons、NY (1994))；Colberre-Garapinら、J. Mol. Biol. 150:1 (1981)) (これらはその全体が本明細書中に参考として援用される)。

【0379】

抗体分子の発現レベルは、ベクター増幅によって増大され得る (総説として、BebbingtonおよびHentschel、The use of vectors based on gene amplification for the expression of cloned genes in mammalian cells in DNA cloning、Vol. 3. (Academic Press、New York、1987))を参照のこと)。抗体を発現するベクター系におけるマーカーが増幅可能である場合、宿主細胞の培養物に存在するインヒビターのレベルにおける増加は、マーカー遺伝子のコピーの数を増加する。増幅領域は抗体遺伝子と結合しているため、抗体の産生もまた増加する (Crouseら、Mol. Cell. Biol. 3:257 (1983))。

10

20

30

40

50

【0380】

宿主細胞は、本発明の二つの発現ベクター（重鎖由来のポリペプチドをコードする第一のベクターおよび軽鎖由来のポリペプチドをコードする第二のベクター）で、同時トランスフェクトされ得る。この二つのベクターは、重鎖および軽鎖のポリペプチドの等しい発現を可能にする、同一の選択マーカールを含み得る。あるいは、単一のベクターが使用され得、これは重鎖および軽鎖両方のポリペプチドをコードし、そして発現し得る。このような状況において、過剰な毒性の遊離重鎖を回避するために、重鎖の前に軽鎖が配置されるべきである（Proudfoot、Nature 322:52(1986)；Kohler、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:2197(1980)）。重鎖および軽鎖のためのコード配列は、cDNAまたはゲノムDNAを含み得る。

10

【0381】

一旦、本発明の抗体分子が、動物によって産生されるか、化学的に合成されるか、または組換えにより発現されると、当該分野で公知の、免疫グロブリン分子の精製のための任意の方法、例えば、クロマトグラフィー（例えば、イオン交換、アフィニティー（特に、プロテインAの後に特異的抗原に対する親和性（アフィニティー）による）、およびサイズカラムクロマトグラフィー）、遠心分離、溶解度差、またはタンパク質精製のための任意の他の標準的な技術によって、精製され得る。さらに、本発明の抗体またはそのフラグメントは、本明細書中に記載されるかまたはそうでなければ当該分野において公知の、異種ポリペプチド配列に融合され得、精製を容易にする。

【0382】

本発明は、本発明のポリペプチド（もしくはその部分、好ましくはこのポリペプチドの少なくとも10、20、30、40、50、60、70、80、90、もしくは100アミノ酸）に、組換えにより融合されるかまたは化学的に結合体化されて（共有結合および非共有結合の両方を含む）、融合タンパク質を生成する抗体を含む。この融合は、直接的である必要はないが、リンカー配列を介して起こり得る。この抗体は、本発明のポリペプチド（またはその部分、好ましくはこのポリペプチドの少なくとも10、20、30、40、50、60、70、80、90、もしくは100アミノ酸）以外の抗原に特異的であり得る。例えば、インビトロまたはインビボのいずれにおいても、本発明のポリペプチドを特定の細胞表面レセプターに特異的な抗体に融合または結合体化させることによって、特定の細胞型に対して、本発明のポリペプチドを標的化するために、抗体が使用され得る。本発明のポリペプチドに融合または結合体化される抗体はまた、インビトロ免疫アッセイおよび当該分野で公知の方法を使用する精製方法において使用され得る。例えば、Harborら、前出、およびPCT公開第WO93/21232号；EP439,095；Naramuraら、Immunol. Lett. 39:91-99(1994)；米国特許第5,474,981号；Gilliesら、PNAS 89:1428-1432(1992)；Fellら、J. Immunol. 146:2446-2452(1991)を参照のこと。これらは、その全体が参考として援用される。

20

30

【0383】

本発明はさらに、可変領域以外の抗体ドメインに融合または結合された、本発明のポリペプチドを含む組成物を含む。例えば、本発明のポリペプチドは、抗体のFc領域、またはその部分に融合または結合体化され得る。この抗体の、本発明のポリペプチドに融合された部分は、定常領域、ヒンジ領域、CH1ドメイン、CH2ドメイン、およびCH3ドメイン、またはそのドメイン全体もしくは部分の任意の組合せを含み得る。これらのポリペプチドはまた、上記の抗体の部分に融合または結合体化されて、多量体を形成し得る。例えば、本発明のポリペプチドに融合されたFc部分は、このFc部分の間のジスルフィド結合を通して二量体を形成し得る。より高度の多量体形態は、ポリペプチドをIgAおよびIgMの部分に融合させることによって作製され得る。本発明のポリペプチドを抗体部分に融合または結合体化させるための方法は、当該分野において公知である。例えば、米国特許第5,336,603号；同第5,622,929号；同第5,359,046号；同第5,349,053号；同第5,447,851号；同第5,112,946号；

40

50

EP 307, 434; EP 367, 166; PCT公開第WO96/04388号; 第WO91/06570号; Ashkenaziら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:10535-10539(1991); Zhengら、J. Immunol. 154:5590-5600(1995); およびVilら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:11337-11341(1992)(これらの参考文献はその全体が参考として援用される)を参照のこと。

【0384】

上で考察されたように、配列番号Yのポリペプチド、ポリペプチドフラグメント、または変異体に対応するポリペプチドは、このポリペプチドのインピボ半減期を増大させるため、または当該分野で公知の方法を使用する免疫アッセイにおいて使用するために、上記の抗体部分に融合または結合体化され得る。さらに、配列番号Yに対応するポリペプチドを、上記の抗体部分に融合または結合体化して、精製を容易にし得る。1つの報告された例は、ヒトCD4ポリペプチドの最初の2つのドメイン、および哺乳動物の免疫グロブリンの重鎖または軽鎖の定常領域の種々のドメインからなるキメラタンパク質を記載している(EP 394, 827; Traunekerら、Nature 331:84-86(1988))。ジスルフィド連結二量体構造(IgGに起因する)を有する抗体に融合または結合される本発明のポリペプチドはまた、単量体分泌タンパク質またはタンパク質フラグメント単独よりも、他の分子を結合しそして中和するのにより有効であり得る(Fountoulakisら、J. Biochem. 270:3958-3964(1995))。多くの場合、融合タンパク質のFc部分は、治療および診断において有益であり、従って、例えば、改良された薬物動態学的な特性を生じ得る(EP A 232, 262)。あるいは、融合タンパク質が発現され、検出され、そして精製された後に、Fc部分を欠失させることが望ましい。例えば、融合タンパク質が免疫化のための抗原として使用される場合、Fc部分は、治療および診断を妨害し得る。例えば、薬物の発見において、hIL-5のようなヒトタンパク質は、hIL-5のアンタゴニストを同定するための高スループットスクリーニングアッセイの目的のためにFc部分と融合されてきた(Bennettら、J. Molecular Recognition 8:52-58(1995); Johansonら、J. Biol. Chem. 270:9459-9471(1995)を参照のこと)。

【0385】

さらに、本発明の抗体またはそのフラグメントは、精製を容易にするペプチドのような、マーカー配列に融合され得る。好ましい実施形態において、マーカーアミノ酸配列は、とりわけヘキサ-ヒスチジンペプチド(例えば、pQEベクター(QIAGEN, Inc., 9259 Eton Avenue, Chatsworth, CA, 91311)において提供されるタグ)であり、これらの多くは市販されている。例えば、Gentzら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:821-824(1989)に記載されるように、ヘキサ-ヒスチジンは、融合タンパク質の都合の良い精製を提供する。精製のために有用な別のペプチドタグは、インフルエンザ赤血球凝集素タンパク質由来のエピトープに対応する「HA」タグ(Wilsonら、Cell 37:767(1984))、および「flag」タグを含むが、これに限定されない。

【0386】

本発明は、診断剤または治療剤に結合体化される、抗体またはそのフラグメントをさらに含む。抗体は、例えば、臨床上の試験手順(例えば、所定の処置レジメンの効力を決定するため)の一部として、腫瘍の発生または進行をモニターするために、診断的に使用され得る。検出は、抗体を検出可能な物質と連結させることによって容易にされ得る。検出可能な物質の例としては、種々の酵素、補欠分子団、蛍光物質、発光物質、生物発光物質、放射性物質、種々の陽電子放射断層撮影を使用する陽電子放射金属、および非放射性常磁性金属イオンが挙げられる。この検出可能な物質は、抗体(またはそのフラグメント)に対して、直接的または間接的のいずれかで、当該分野で公知の技術を使用する中間体(例えば、当該分野で公知のリンカーなど)を介して、連結または結合体化され得る。例えば

、本発明に従う診断薬としての使用のための抗体に結合され得る金属イオンに関しては、米国特許第4,741,900号を参照のこと。適切な酵素の例としては、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、 α -ガラクトシダーゼ、またはアセチルコリンエステラーゼが挙げられ；適切な補欠分子団複合体の例としては、ストレプトアビジン/ビオチンおよびアビジン/ビオチンが挙げられ；適切な蛍光物質の例としては、ウンベリフェロン、フルオレセイン、フルオレセインイソチシアネート、ローダミン、ジクロロトリアジニルアミンフルオレセイン、ダンシルクロリドまたはフィコエリトリンが挙げられ；発光物質の例としては、ルミノールが挙げられ；生物発光物質の例としては、ルシフェラーゼ、ルシフェリンおよびエクオリンが挙げられ；そして、適切な放射性物質の例としては、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{111}In または ^{99}Tc が挙げられる。

10

【0387】

さらに、抗体またはそのフラグメントは、治療用部分（例えば細胞毒（例えば細胞増殖抑制性もしくは細胞殺傷性の薬剤））、治療剤または放射性金属イオン（例えば、 α -エミッター（例えば ^{213}Bi のような））に結合体化され得る。細胞毒または細胞毒性薬剤は、細胞に対して有害な任意の薬剤を含む。例としては、パクリタキセル（*paclitaxol*）、サイトカラシンB、グラミシジンD、臭化エチジウム、エメチン、マイトマイシン、エトポシド、テニポシド（*tenoposide*）、ピンクリスチン、ピンブラスチン、コルヒチン、ドキシソルピシン、ダウノルピシン、ジヒドロキシアントラシンジオン（*dihydroxy anthracin dione*）、ミトキサントロン、ミトラマイシン、アクチノマイシンD、1-デヒドロテストステロン、グルココルチコイド、プロカイン、テトラカイン、リドカイン、プロプラノロール、およびピューロマイシン、ならびにこれらのアナログまたはホモログが挙げられる。治療剤としては、代謝拮抗物質（例えば、メトトレキサート、6-メルカプトプリン、6-チオグアニン、シタラビン、5-フルオロウラシルデカルバジン）、アルキル化剤（例えば、クロルメタミン（*mechlorethamine*）、チオエパ（*thioepa*）クロラムブシル、メルファラン、カルムスチン（*BSNU*）およびロムスチン（*CCNU*）、シクロホスファミド（*cyclophosphamide*）、プスルファン、ジブロモマンニトール、ストレプトゾトシン、マイトマイシンC、ならびに*cis*-ジクロロジアミン白金（*II*）（*DDP*）シスプラチン）、アントラサイクリン（例えば、ダウノルピシン（以前はダウノマイシン）およびドキシソルピシン）、抗生物質（例えば、ダクチノマイシン（以前はアクチノマイシン）、プレオマイシン、ミトラマイシン、およびアントラマイシン（*anthramycin*）（*AMC*））、ならびに抗有糸分裂剤（例えばピンクリスチンおよびピンブラスチン）が挙げられるが、これらに限定されない。

20

30

【0388】

本発明の結合体は、所定の生物学的応答を改変するために使用され得、治療剤または薬物部分は、古典的な化学的治療剤に限定されずとは解釈されない。例えば、薬物部分は、所望の生物学的活性を有するタンパク質またはポリペプチドであり得る。このようなタンパク質としては、例えば、毒素（例えばアブリン、リシンA、シュードモナス外毒素、またはジフテリア毒素）；タンパク質（例えば、腫瘍壊死因子、 α -インターフェロン、 β -インターフェロン、神経成長因子、血小板由来増殖因子、組織プラスミノゲンアクチベーター、アポトーシス剤（例えば、 $\text{TNF-}\alpha$ 、 $\text{TNF-}\beta$ 、 AIM-1 （国際公開第WO97/33899号を参照のこと）、 AIM-2 （国際公開第WO97/34911号を参照のこと）、 Fas リガンド（*Takahashiら*、*Int. Immunol.*、6:1567-1574（1994））、 VEGf （国際公開第WO99/23105号を参照のこと）、血栓症薬もしくは抗脈管形成薬（例えば、アンジオスタチンもしくはエンドスタチン）；または生物学的応答改変剤（例えばリンホカイン、インターロイキン-1（「 IL-1 」）、インターロイキン-2（「 IL-2 」）、インターロイキン-6（「 IL-6 」）、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（「 GM-CSF 」）、顆粒球コロニー刺激因子（「 G-CSF 」）、または他の増殖因子など）が挙げられ得る。

40

【0389】

50

抗体はまた、固体支持体に付着され得、この固体支持体は、標的抗原の免疫アッセイまたは精製に特に有用である。このような固体支持体としては、ガラス、セルロース、ポリアクリルアミド、ナイロン、ポリスチレン、ポリ塩化ビニルまたはポリプロピレンが挙げられるがそれらに限定されない。

【0390】

このような治療部分を抗体に結合する技術は、周知であり、例えば、Arnonら、「Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy」、Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy、Reisfeldら(編)、243-56頁(Alan R. Liss, Inc. 1985); Hellstromら、「Antibodies For Drug Delivery」、Controlled Drug Delivery(第二版)、Robinsonら(編)、623-53頁(Marcel Dekker, Inc. 1987); Thorpe、「Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review」、Monoclonal Antibodies '84: Biological And Clinical Applications、Pincheraら(編)、475-506頁(1985); 「Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy」、Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy、Baldwinら(編)、303-16頁(Academic Press 1985)、およびThorpeら、「The Preparation And Cytotoxic Properties Of Antibody-Toxin Conjugates」、Immunol. Rev. 62: 119-58(1982)を参照のこと。

【0391】

あるいは、抗体は、Segalにより米国特許第4,676,980号(その全体が参考として本明細書中で援用される)に記載されるように、二次抗体に結合体化され、抗体ヘテロ結合体を形成し得る。

【0392】

単独で、または細胞毒因子および/もしくはサイトカインと組合せて投与される抗体(その抗体に結合する治療部分を有するまたは有さない)は、治療剤として使用され得る。

【0393】

(免疫表現型分類(immunophenotyping))
本発明の抗体は、細胞株および生物学的サンプルの免疫表現型分類のために利用され得る。本発明の遺伝子の翻訳産物は、細胞特異的マーカーとして、あるいはより詳細には、特定の細胞型の分化および/または成熟の種々の段階で差示的に発現される細胞マーカーとして有用であり得る。特異的エピトープ、またはエピトープの組み合わせに対するモノクロナール抗体は、マーカーを発現する細胞集団のスクリーニングを可能とする。種々の技術が、マーカーを発現する細胞集団をスクリーニングするために、モノクロナール抗体を用いて利用され得、そしてその技術としては、抗体でコーティングされた磁気ビーズを用いる磁気分離、固体マトリクス(すなわち、プレート)に付着した抗体を用いる「パニング」、ならびにフローサイトメトリー(例えば、米国特許第5,985,660号;およびMorrissonら、Cell, 96: 737-49(1999)を参照のこと)が挙げられる。

【0394】

これらの技術は、血液学的悪性腫瘍(すなわち、急性白血病患者における最少残留疾患(minimal residual disease)(MRD))および対宿主性移植片病(GVHD)を予防するための移植術における「非自己」細胞と共に見出され得るような、細胞の特定集団のスクリーニングを可能にする。あるいは、これらの技術は、ヒト

臍帯血において見出され得るような増殖および/または分化を受け得る、造血幹細胞および前駆細胞のスクリーニングを可能にする。

【0395】

(抗体結合についてのアッセイ)

本発明の抗体は、当該分野において公知の任意の方法により、免疫特異的結合についてアッセイされ得る。用いられ得る免疫アッセイとしては、いくつかのものについてだけ名称を挙げると、ウエスタンブロット、ラジオイムノアッセイ、ELISA(酵素結合免疫吸着アッセイ)、「サンドイッチ」免疫アッセイ、免疫沈降アッセイ、沈降反応、ゲル拡散沈降素反応、免疫拡散アッセイ、凝集アッセイ、補体結合アッセイ、免疫放射定量アッセイ、蛍光免疫アッセイ、プロテインA免疫アッセイのような技術を用いる競合アッセイ系および非競合アッセイ系が挙げられるが、これらに限定されない。このようなアッセイは慣用的であり、そして当該分野において周知である(例えば、その全体が本明細書中に参考として援用される、Ausubelら編, 1994, Current Protocols in Molecular Biology, 第1巻、John Wiley & Sons, Inc., New Yorkを参照のこと)。例示的な免疫アッセイが、以下に簡潔に記載される(が、これらは限定を目的とすることが意図されない)。

10

【0396】

免疫沈降プロトコルは、一般に、タンパク質ホスファターゼインヒビターおよび/またはプロテアーゼインヒビター(例えば、EDTA、PMSF、アプロチニン、パナジン酸ナトリウム)を補充したRIPA緩衝液(1% NP-40またはTriton X-100、1% デオキシコール酸ナトリウム、0.1% SDS、0.15M NaCl、0.01M リン酸ナトリウム(pH7.2)、1% Trasylol)のような溶解緩衝液中で、細胞の集団を溶解する工程、目的の抗体を細胞溶解物に添加する工程、一定時間(例えば、1~4時間)4 でインキュベートする工程、プロテインAセファロースビーズおよび/またはプロテインGセファロースビーズを細胞溶解物に添加する工程、約1時間以上4 でインキュベートする工程、溶解緩衝液中でビーズを洗浄する工程、およびSDS/サンプル緩衝液中でビーズを再懸濁する工程を包含する。目的の抗体が特定の抗原を免疫沈降する能力は、例えば、ウエスタンブロット分析により、評価され得る。当業者は、抗体の抗原への結合を増加するように、そしてバックグラウンドを減少させる(例えば、セファロースビーズを用いて細胞溶解物を予めきれいにすること)ように改変され得るパラメータに関して、認識し得る。免疫沈降プロトコルに関するさらなる考察については、例えば、Ausubelら編, 1994, Current Protocols in Molecular Biology, 第1巻、John Wiley & Sons, Inc., New York, 10.16.1を参照のこと。

20

30

【0397】

ウエスタンブロット分析は、一般に、タンパク質サンプルを調製する工程、ポリアクリルアミドゲル(例えば、抗原の分子量に依存して8%~20% SDS-PAGE)中でのこのタンパク質サンプルの電気泳動、そのタンパク質サンプルをそのポリアクリルアミドゲルからニトロセルロース、PVDFまたはナイロンのような膜に移す工程、ブロッキング溶液(例えば、3% BSAまたは脱脂粉乳を有するPBS)中でその膜をブロッキングする工程、洗浄緩衝液(例えば、PBS-Tween 20)中でその膜を洗浄する工程、ブロッキング緩衝液中で希釈された一次抗体(目的の抗体)を用いてその膜をブロッキングする工程、洗浄緩衝液中でその膜を洗浄する工程、ブロッキング緩衝液中で希釈された酵素基質(例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼまたはアルカリホスファターゼ)あるいは放射性分子(例えば、 ^{32}P または ^{125}I)に結合体化された二次抗体(これは、一次抗体(例えば、抗ヒト抗体)を認識する)を用いて、その膜をブロッキングする工程、洗浄緩衝液中でその膜を洗浄する工程、ならびにその抗原の存在を検出する工程を包含する。当業者は、検出されるシグナルを増加させるように、そしてバックグラウンドノイズを減少させるように改変され得るパラメータに関して、認識し得る。ウエスタンブロットプロトコルに関するさらなる考察については、例えば、Ausubelら編, 199

40

50

4, Current Protocols in Molecular Biology, 第1巻、John Wiley & Sons, Inc., New York, 10.8.1を参照のこと。

【0398】

ELISAは、抗原を調製する工程、96ウェルマイクロタイタープレートのウェルをその抗原でコーティングする工程、酵素基質（例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼまたはアルカリホスファターゼ）のような検出可能な化合物に結合体化された目的の抗体をそのウェルに添加し、そして一定時間インキュベートする工程、およびその抗原の存在を検出する工程を包含する。ELISAにおいて、目的の抗体は、検出可能な化合物に結合している必要はない；その代わりに、検出可能な化合物に結合体化された二次抗体（これは、目的の抗体を認識する）が、ウェルに添加され得る。さらに、ウェルを抗原でコーティングする代わりに、抗体がウェルにコーティングされ得る。この場合、検出可能な化合物に結合体化された二次抗体が、コーティングされたウェルへの目的の抗原の添加に続いて、添加され得る。当業者は、検出されるシグナルを増加させるように改変され得るパラメータ、および当該分野において公知のELISAの他のバリエーションに関して、認識し得る。ELISAに関するさらなる考察については、例えば、Ausubelら編、1994, Current Protocols in Molecular Biology, 第1巻、John Wiley & Sons, Inc., New York, 11.2.1を参照のこと。

10

【0399】

抗原に対する抗体の結合親和性および抗体-抗原相互作用のオフレート(off-ratio)が、競合結合アッセイにより決定され得る。競合結合アッセイの一つの例は、ラジオイムノアッセイであり、ラジオイムノアッセイは、漸増量の非標識抗原の存在下での、目的の抗体との標識された抗原（例えば、3Hまたは125I）のインキュベーション、および標識抗原に結合した抗体の検出を含む。特定の抗原に対する目的の抗体の親和性および結合オフレートは、スキャッチャードプロット分析によるデータから決定され得る。二次抗体との競合はまた、ラジオイムノアッセイを用いて決定され得る。この場合、抗原は、漸増量の非標識の二次抗体の存在下で、標識化合物（例えば、3Hまたは125I）に結合した目的の抗体とともにインキュベートされる。

20

【0400】

（治療用途）

本発明はさらに、抗体ベースの治療に関し、この治療は、1つ以上の開示された疾患、障害、または状態を処置するために、動物、好ましくは哺乳動物、そして最も好ましくはヒトの患者に、本発明の抗体を投与する工程を包含する。本発明の治療化合物としては、本発明の抗体（本明細書中に記載されるような、それらのフラグメント、アナログおよび誘導体を含む）ならびに本発明の抗体をコードする核酸（本明細書中に記載されるような、それらのフラグメント、アナログおよび誘導体ならびに抗イディオタイプ抗体を含む）が挙げられるが、これらに限定されない。本発明の抗体は、本発明のポリペプチドの異常な発現および/または活性に関連した疾患、障害または状態（本明細書中に記載される任意の1つ以上の疾患、障害、または状態を含むがこれらに限定されない）を処置、阻害または予防するために使用され得る。本発明のポリペプチドの異常な発現および/または活性に関連した疾患、障害または状態の処置および/または予防は、それらの疾患、障害または状態に関連した症状を緩和する工程を含むが、これに限定されない。本発明の抗体は、当該分野で公知であるか、または本明細書中に記載されるように、薬学的に受容可能な組成物中に提供され得る。

30

40

【0401】

本発明の抗体が治療的に使用され得る方法の要約は、身体内で局所的にまたは全身的に、あるいは（例えば、補体(CDC)により、またはエフェクター細胞(ADCC)により媒介されるような)抗体の直接的細胞傷害性により、本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチドを結合する工程を含む。これらのアプローチのいくつかは、より詳細に以下に

50

記載される。本明細書中で提供される教示を与えられれば、当業者は、過度の実験なしに、診断上の目的、モニタリングの目的あるいは治療上の目的のために、本発明の抗体を使用する方法がわかる。

【0402】

本発明の抗体は、例えば、抗体と相互作用するエフェクター細胞の数または活性を増加させるために役立つ、他のモノクローナル抗体またはキメラ抗体、あるいはリンホカインまたは造血増殖因子（例えば、IL-2、IL-3およびIL-7のような）と組み合わせることで有利に利用され得る。

【0403】

本発明の抗体は、単独で、または他の型の処置（例えば、放射線療法、化学療法、ホルモン治療、免疫治療および抗腫瘍剤）との組み合わせで投与され得る。一般的に、患者の種と同じ種である種起源または種反応性の（抗体の場合）生成物の投与が好ましい。従って、好ましい実施形態においては、ヒト抗体、フラグメント誘導體、アナログ、または核酸が、治療または予防のために、ヒトの患者に投与される。

【0404】

本発明のポリヌクレオチドもしくはポリペプチド（それらのフラグメントを含む）に対するイムノアッセイ、およびそれらに関連した障害の治療の両方のために、本発明のポリペプチドまたはポリヌクレオチドに対する、高親和性および/または強力な、インビボでの阻害抗体および/または中和抗体、それらのフラグメント、またはその領域を使用することが好ましい。このような抗体、フラグメント、または領域は、好ましくは、本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチド（それらのフラグメントを含む）に対して親和性を有する。好ましい結合親和性としては、 5×10^{-2} M、 10^{-2} M、 5×10^{-3} M、 10^{-3} M、 5×10^{-4} M、 10^{-4} M、 5×10^{-5} M、 10^{-5} M、 5×10^{-6} M、 10^{-6} M、 5×10^{-7} M、 10^{-7} M、 5×10^{-8} M、 10^{-8} M、 5×10^{-9} M、 10^{-9} M、 5×10^{-10} M、 10^{-10} M、 5×10^{-11} M、 10^{-11} M、 5×10^{-12} M、 10^{-12} M、 5×10^{-13} M、 10^{-13} M、 5×10^{-14} M、 10^{-14} M、 5×10^{-15} M、および 10^{-15} Mよりも小さい解離定数すなわちK_dを有する結合親和性が挙げられる。

【0405】

（遺伝子治療）

特定の実施形態において、抗体またはその機能的誘導體をコードする配列を含む核酸は、本発明のポリペプチドの異常な発現および/または活性に関連した疾患または障害を処置、阻害または予防するために、遺伝子治療の目的で投与される。遺伝子治療とは、発現したか、または発現可能な核酸の、被験体への投与により行われる治療をいう。本発明のこの実施形態において、核酸は、それらがコードするタンパク質を産生し、そのタンパク質は治療効果を媒介する。

【0406】

当該分野で利用可能な遺伝子治療のための任意の方法は、本発明に従って使用され得る。例示的な方法が以下に記載される。

【0407】

遺伝子治療の方法の一般的な概説については、Goldspielら、Clinical Pharmacy 12: 488-505 (1993); WuおよびWu, Biotherapy 3: 87-95 (1991); Tolstoshev, Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 32: 573-596 (1993); Mulligan, Science 260: 926-932 (1993); ならびにMorganおよびAnderson, Ann. Rev. Biochem. 62: 191-217 (1993); May, TIBTECH 11(5): 155-215 (1993)を参照のこと。使用され得る、組換えDNA技術分野において一般的に公知である方法は、Ausubelら（編）、Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY (1993); およびKri

10

20

30

40

50

egler, Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual, Stockton Press, NY (1990)に記載される。

【0408】

好ましい局面において、化合物は抗体をコードする核酸配列を含有し、上記核酸配列は、適切な宿主において、抗体、あるいはそのフラグメントもしくはキメラタンパク質、またはその重鎖もしくは軽鎖を発現する発現ベクターの一部である。特に、このような核酸配列は、抗体コード領域に作動可能に連結したプロモーターを有し、上記プロモーターは誘導性であるかまたは構成性であり、そして必要に応じて組織特異的である。別の特定の実施形態においては、抗体をコードする配列および任意の他の所望の配列がゲノム中の所望の部位での相同組換えを促進する領域に隣接している核酸分子が使用され、それにより抗体をコードする核酸の染色体内の発現を提供する (Koller および Smithies, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86: 8932 - 8935 (1989); Zijlstra ら, Nature 342: 435 - 438 (1989))。特定の実施形態において、発現した抗体分子は単鎖抗体であるか；あるいはこの核酸配列は、この抗体の重鎖および軽鎖の両方をコードする配列またはそのフラグメントを含む。

10

【0409】

核酸の患者への送達は、直接的 (この場合、患者は核酸または核酸保有ベクターに直接的に曝される) か、または間接的 (この場合、細胞は最初にインビトロで核酸で形質転換され、次いで患者に移植される) のいずれかであり得る。これらの2つのアプローチは、インビボ遺伝子治療として、またはエキソビボ遺伝子治療としてそれぞれ公知である。

20

【0410】

特定の実施形態において、核酸配列はインビボで直接的に投与され、そこで核酸配列は発現されて、コードされた生成物を産生する。これは、当該分野で公知の多数の方法 (例えば、それらを適切な核酸発現ベクターの一部として構築し、そしてそれを細胞内になるように投与することにより (例えば、欠損性または弱毒化したレトロウイルスまたは他のウイルスベクター (米国特許第4,980,286号を参照のこと) を用いた感染により)、あるいは、裸のDNAの直接注射により、あるいは、微粒子ボンバードメント (例えば、遺伝子銃; Biolistic, Dupont) の使用により、あるいは脂質または細胞表面レセプターでコーティングするか、あるいは薬剤をトランスフェクトすること、リポソーム、微粒子、またはマイクロカプセル中へのカプセル化により、あるいは、それらを、核に入ることが公知であるペプチドと結合させて投与することにより、レセプター媒介のエンドサイトーシスを受けるリガンドと結合させて投与することにより (例えば、Wu および Wu, J. Biol. Chem. 262: 4429 - 4432 (1987) を参照のこと) (レセプターを特異的に発現する細胞型を標的化するために用いられ得る) などのいずれかにより達成され得る。別の実施形態において、核酸-リガンド複合体が形成され得、ここで、このリガンドはエンドソームを破壊するフソジェニック (fusogenic) ウイルス性ペプチドを含み、核酸がリソソーム分解を回避することを可能にする。さらに別の実施形態において、核酸は、特定のレセプターを標的化することにより、細胞特異的な取り込みおよび発現についてインビボで標的化され得る (例えば、PCT 公開第WO92/06180号; 同第WO92/22635号; 同第WO92/20316号; 同第WO93/14188号、同第WO93/20221号を参照のこと)。あるいは、核酸は、細胞内部に導入され得、そして相同組換えにより、発現のために宿主細胞DNA中に組み込まれ得る (Koller および Smithies, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86: 8932 - 8935 (1989); Zijlstra ら, Nature 342: 435 - 438 (1989))。

30

40

【0411】

特定の実施形態において、本発明の抗体をコードする核酸配列を含むウイルスベクターが使用される。例えば、レトロウイルスベクターが用いられ得る (Miller ら, Meth. Enzymol. 217: 581 - 599 (1993) を参照のこと)。これらのレ

50

トロウイルスベクターは、ウイルス性ゲノムの正確なパッケージングおよび宿主細胞DNAへの組み込みのために必要な構成要素を含む。遺伝子治療において使用される抗体をコードする核酸配列は、一つ以上のベクター中にクローン化され、これは、患者内への遺伝子の送達を容易にする。レトロウイルスベクターに関するさらなる詳細は、Boesenら, *Biotherapy* 6:291-302 (1994) (これは、造血幹細胞を化学療法に対してより耐性にするために、mdr1遺伝子をこの幹細胞に送達するための、レトロウイルスベクターの使用を記載する)に見出され得る。遺伝子治療におけるレトロウイルスベクターの使用を説明する他の参考文献は、以下である: Clowesら, *J. Clin. Invest.* 93:644-651 (1994); Kiemら, *Blood* 83:1467-1473 (1994); SalmonおよびGunzberg, *Human Gene Therapy* 4:129-141 (1993); ならびに GrossmanおよびWilson, *Curr. Opin. in Genetics and Devel.* 3:110-114 (1993)。

10

20

30

40

50

【0412】

アデノウイルスは、遺伝子治療において使用され得る他のウイルスベクターである。アデノウイルスは、特に、気道上皮へ遺伝子を送達するための魅力的なビヒクルである。アデノウイルスは、自然に気道上皮に感染し、そこで軽い疾患を起こす。アデノウイルスに基づく送達システムの他の標的は、肝臓、中枢神経系、内皮細胞、および筋肉である。アデノウイルスは、非分裂細胞に感染することができるという利点を有する。KozarskyおよびWilson, *Current Opinion in Genetics and Development* 3:499-503 (1993)は、アデノウイルスに基づく遺伝子治療の概説を示す。Boutら, *Human Gene Therapy* 5:3-10 (1994)は、アカゲザルの気道上皮に遺伝子を移入するためのアデノウイルスベクターの使用を証明した。遺伝子治療におけるアデノウイルスの使用の他の例は、Rosenfeldら, *Science* 252:431-434 (1991); Rosenfeldら, *Cell* 68:143-155 (1992); Mastrangeloら, *J. Clin. Invest.* 91:225-234 (1993); PCT公開第WO94/12649号; およびWangら, *Gene Therapy* 2:775-783 (1995)に見出され得る。好ましい実施形態において、アデノウイルスベクターが使用される。

【0413】

アデノ随伴ウイルス(AAV)もまた、遺伝子治療における使用のために提案されてきた(Walshら, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 204:289-300 (1993); 米国特許第5,436,146号)。

【0414】

遺伝子治療に対する別のアプローチは、エレクトロポレーション、リポフェクション、リン酸カルシウム媒介トランスフェクション、またはウイルス感染のような方法により、組織培養物中の細胞へ遺伝子を移入する工程を含む。通常、移入の方法は、選択マーカーの細胞への移入を含む。次いで、細胞は、移入された遺伝子を取り込みそして発現している細胞を単離するために選択下に置かれる。それらの細胞は次いで、患者に送達される。

【0415】

この実施形態においては、得られた組換え細胞のインビボ投与の前に、核酸が細胞に導入される。このような導入は、当該分野において公知の任意の方法により実施され得、それらの方法としては以下が挙げられるがこれらに限定されない: トランスフェクション、エレクトロポレーション、マイクロインジェクション、核酸配列を含むウイルスベクターまたはバクテリオファージベクターでの感染、細胞融合、染色体媒介の遺伝子移入、マイクロセル(microcell)媒介の遺伝子移入、スフェロプラスト融合など。外来遺伝子の細胞への導入については、当該分野において多数の技術が公知であり(例えば、LoefflerおよびBehr, *Meth. Enzymol.* 217:599-618 (1993); Cohenら, *Meth. Enzymol.* 217:618-644 (199

3) ; C l i n e , P h a r m a c . T h e r . 2 9 : 6 9 - 9 2 m (1 9 8 5) を 参 照 の 事) 、 そ し て レ シ ピ エ ン ト 細 胞 の 必 要 な 発 生 的 お よ び 生 理 学 的 機 能 が 破 壊 さ れ ない 限 り 、 本 発 明 に 従 っ て 使 用 さ れ 得 る 。 こ れ ら の 技 術 は 、 核 酸 の 細 胞 へ の 安 定 し た 移 入 を 提 供 す る は ず で あり 、 そ の 結 果 、 核 酸 は 、 細 胞 に よ り 発 現 可 能 で あり 、 そ し て 好 ま し く は 、 遺 伝 性 で あり かつ そ の 細 胞 の 子 孫 に よ り 発 現 可 能 で あり 。

【 0 4 1 6 】

得 ら れ た 組 換 え 細 胞 は 、 当 該 分 野 に お い て 公 知 の 様 々 な 方 法 に よ り 、 患 者 へ 送 達 さ れ 得 る 。 組 換 え 血 球 (例 え ば 、 造 血 幹 細 胞 ま た は 造 血 前 駆 細 胞) は 、 好 ま し く は 、 静 脈 内 に 投 与 さ れ る 。 使 用 が 考 え ら れ る 細 胞 の 量 は 、 所 望 の 効 果 、 患 者 の 状 態 な ど に 依 存 し 、 そ し て 当 業 者 に よ り 決 定 さ れ 得 る 。

10

【 0 4 1 7 】

遺 伝 子 治 療 の 目 的 の た め に 核 酸 が 導 入 さ れ 得 る 細 胞 は 、 任 意 の 所 望 の 入 手 可 能 な 細 胞 型 を 包 含 し 、 そ し て 以 下 を 含 む が そ れ ら に 限 定 さ れ ない : 上 皮 細 胞 、 内 皮 細 胞 、 ケ ラ チ ノ サ イ ト 、 線 維 芽 細 胞 、 筋 肉 細 胞 、 肝 細 胞 ; T リ ン パ 球 、 B リ ン パ 球 、 単 球 、 マ ク ロ フ ァ ージ 、 好 中 球 、 好 酸 球 、 巨 核 球 、 顆 粒 球 の よ う な 血 球 ; 種 々 の 幹 細 胞 ま た は 前 駆 細 胞 、 特 に 、 造 血 幹 細 胞 ま た は 造 血 前 駆 細 胞 (例 え ば 、 骨 髄 、 臍 帯 血 、 末 梢 血 、 胎 児 の 肝 臓 な ど か ら 得 ら れ る よ う な 細 胞) 。

【 0 4 1 8 】

好 ま し い 実 施 形 態 に お い て 、 遺 伝 子 治 療 に 使 用 さ れ る 細 胞 は 、 患 者 に 対 し て 自 己 で あり 。

【 0 4 1 9 】

遺 伝 子 治 療 に お い て 組 換 え 細 胞 が 使 用 さ れ る 実 施 形 態 に お い て 、 抗 体 を コ ー ド す る 核 酸 配 列 は 、 細 胞 ま た は そ れ ら の 子 孫 に よ り 核 酸 配 列 が 発 現 可 能 で あり よ う に 細 胞 に 導 入 さ れ 、 次 い で 組 換 え 細 胞 は 、 治 療 的 効 果 の た め に イ ン ビ ト ロ で 投 与 さ れ る 。 特 定 の 実 施 形 態 に お い て 、 幹 細 胞 ま た は 前 駆 細 胞 が 用 い ら れ る 。 イ ン ビ ト ロ で 単 離 さ れ 、 かつ イ ン ビ ト ロ で 維 持 さ れ 得 る 任 意 の 幹 細 胞 お よ び / ま た は 前 駆 細 胞 は 、 本 発 明 の こ の 実 施 形 態 に 従 っ て 潜 在 的 に 使 用 さ れ 得 る (例 え ば 、 P C T 公 開 第 W O 9 4 / 0 8 5 9 8 号 : S t e m p l e お よ び A n d e r s o n , C e l l 7 1 : 9 7 3 - 9 8 5 (1 9 9 2) ; R h e i n w a l d , M e t h . C e l l B i o . 2 1 A : 2 2 9 (1 9 8 0) ; な ら び に P i t t e l k o w お よ び S c o t t , M a y o C l i n i c P r o c . 6 1 : 7 7 1 (1 9 8 6) を 参 照 の 事) 。

20

30

【 0 4 2 0 】

特 定 の 実 施 形 態 に お い て 、 遺 伝 子 治 療 の 目 的 で 導 入 さ れ る 核 酸 は 、 コ ー ド 領 域 に 作 動 可 能 に 連 結 さ れ た 誘 導 性 プ ロ モ ー タ ー を 含 有 し 、 そ の 結 果 、 核 酸 の 発 現 は 、 適 切 な 転 写 誘 導 因 子 の 存 在 ま た は 非 存 在 を 制 御 す る こ と に よ り 制 御 可 能 で あり 。

【 0 4 2 1 】

(治 療 的 活 性 ま た は 予 防 的 活 性 の 実 証)

本 発 明 の 化 合 物 ま た は 薬 学 的 組 成 物 は 、 好 ま し く は 、 ヒ ト で の 使 用 の 前 に イ ン ビ ト ロ で 、 次 い で イ ン ビ ト ロ で 、 所 望 の 治 療 活 性 ま た は 予 防 活 性 に つ い て 試 験 さ れ る 。 例 え ば 、 化 合 物 ま た は 薬 学 的 組 成 物 の 治 療 有 用 性 ま た は 予 防 有 用 性 を 実 証 す る た め の イ ン ビ ト ロ ア ッ セ イ と し て は 、 細 胞 株 ま た は 患 者 組 織 サ ン プ ル に 対 す る 化 合 物 の 効 果 が 挙 げ ら れ る 。 細 胞 株 お よ び / ま た は 組 織 サ ン プ ル に 対 す る 化 合 物 ま た は 組 成 物 の 効 果 は 、 当 業 者 に 公 知 で あり 技 術 (ロ ゼ ッ ト 形 成 ア ッ セ イ お よ び 細 胞 溶 解 ア ッ セ イ が 挙 げ ら れ る が こ れ ら に 限 定 さ れ ない) を 利 用 し て 決 定 さ れ 得 る 。 本 発 明 に 従 っ て 、 特 定 の 化 合 物 の 投 与 が 示 さ れ る か ど う か を 決 定 す る た め に 用 い ら れ 得 る イ ン ビ ト ロ ア ッ セ イ と し て は 、 イ ン ビ ト ロ 細 胞 培 養 ア ッ セ イ が 挙 げ ら れ 、 こ の ア ッ セ イ で は 、 患 者 組 織 サ ン プ ル が 培 養 に お い て 増 殖 さ れ 、 そ し て 化 合 物 に 曝 さ れ る か 、 そ う で な け れ ば 化 合 物 が 投 与 さ れ 、 そ し て 、 組 織 サ ン プ ル に 対 す る そ の よ う な 化 合 物 の 効 果 が 観 察 さ れ る 。

40

【 0 4 2 2 】

(治 療 的 / 予 防 的 な 投 与 お よ び 組 成 物)

本 発 明 は 、 被 験 体 へ の 有 効 量 の 本 発 明 の 化 合 物 ま た は 薬 学 的 組 成 物 、 好 ま し く は 本 発 明 の

50

ポリペプチドまたは抗体の投与による処置、阻害および予防の方法を提供する。好ましい局面において、化合物は実質的に精製される（例えば、その効果を制限するかまたは望ましくない副作用を生じる物質を実質的に含まない）。被験体は好ましくは、ウシ、ブタ、ウマ、ニワトリ、ネコ、イヌなどのような動物が挙げられるがそれらに限定されない動物であり、そして好ましくは哺乳動物であり、そして最も好ましくはヒトである。

【0423】

この化合物が核酸または免疫グロブリンを含む場合に使用され得る処方および投与方法は、上記に記載され；さらなる適切な処方および投与経路は、本明細書中で以下に記載されたものの中から選択され得る。

【0424】

種々の送達システムが公知であり、そして本発明の化合物を投与するために用いられ得る（例えば、リポソーム中でのカプセル化、微粒子、マイクロカプセル、この化合物を発現し得る組換え細胞、レセプター媒介エンドサイトーシス（例えば、WuおよびWu, J. Biol. Chem. 262: 4429 - 4432 (1987)を参照のこと）、レトロウイルスまたは他のベクターの一部としての核酸の構築など）。導入方法としては、皮内、筋内、腹腔内、静脈内、皮下、鼻腔内、硬膜外、および経口の経路が挙げられるがそれらに限定されない。化合物または組成物は、任意の簡便な経路により（例えば、注入またはボラス注射により、上皮または粘膜内層（例えば、口腔粘膜、直腸粘膜および腸粘膜など）を通しての吸収により）投与され得、そして他の生物学的に活性な薬剤と一緒に投与され得る。投与は、全身的または局所的であり得る。さらに、本発明の薬学的化合物または組成物を、任意の適切な経路（脳室内注射および髄腔内注射を含み；脳室内注射は、例えば、Ommayaリザーバのようなリザーバに取り付けられた脳室内カテーテルにより容易にされ得る）により中枢神経系に導入することが所望され得る。例えば、吸入器または噴霧器の使用、およびエアゾール化剤を用いた処方により、肺投与もまた使用され得る。

【0425】

特定の実施形態において、本発明の薬学的化合物または組成物を、処置の必要な領域に局所的に投与することが所望され得る；これは、制限する目的ではないが、例えば、手術中の局部注入、局所適用（例えば、手術後の創傷包帯との組み合わせ）により、注射により、カテーテルにより、坐剤により、またはインプラント（このインプラントは、シアラストイック（sialastic）膜のような膜または繊維を含む、多孔性、非多孔性、または膠様材料である）により達成され得る。好ましくは、抗体を含む本発明のタンパク質を投与する場合、タンパク質が吸収されない材料を使用することに注意が払われなければならない。

【0426】

別の実施形態において、化合物または組成物は、小胞、特に、リポソーム中で送達され得る（Langer, Science 249: 1527 - 1533 (1990)；Treatら, Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer, Lopez-BeresteinおよびFidler（編）, Liss, New York, 353 ~ 365頁（1989）；Lopez-Berestein, 同書317 ~ 327頁を参照のこと；広く同書を参照のこと）。

【0427】

さらに別の実施形態において、化合物または組成物は、制御放出系で送達され得る。1つの実施形態において、ポンプが用いられ得る（Langer（前出）；Sefton, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14: 201 (1987)；Buchwaldら, Surgery 88: 507 (1980)；Saudekら, N. Engl. J. Med. 321: 574 (1989)を参照のこと）。別の実施形態において、ポリマー材料が用いられ得る（Medical Applications of Controlled Release, LangerおよびWise（編）, CRC Pr

10

20

30

40

50

es., Boca Raton, Florida (1974); Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance, Smolen および Ball (編), Wiley, New York (1984); Ranger および Peppas, J., Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. 23: 61 (1983) を参照のこと; Levy ら, Science 228: 190 (1985); During ら, Ann. Neurol. 25: 351 (1989); Howard ら, J. Neurosurg. 71: 105 (1989) もまた参照のこと)。さらに別の実施形態において、制御放出系は、治療標的、即ち、脳の近傍に置かれ得、従って、全身用量の一部のみを必要とする(例えば、Goodson, Medical Applications of Controlled Release (前出), 第2巻, 115~138頁(1984)を参照のこと)。

10

【0428】

他の制御放出系は、Langer により総説において議論される(Science 249: 1527-1533 (1990))。

【0429】

本発明の化合物がタンパク質をコードする核酸である特定の実施形態において、この核酸は、それを適切な核酸発現ベクターの一部として構築し、そしてそれが細胞内になるように投与することにより(例えば、レトロウイルスベクターの使用により(米国特許第4,980,286号を参照のこと)、または直接注射により、または微粒子ボンバードメント(例えば、遺伝子銃; Biolistic, Dupont)の使用により、または脂質もしくは細胞表面レセプターもしくはトランスフェクト剤でコーティングすることにより、または核に入ることが公知であるホメオボックス様ペプチドと結合させて投与すること(例えば、Joliot ら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88: 1864-1868 (1991)を参照のこと)などにより、それがコードするタンパク質の発現を促進するようにインピボで投与され得る。あるいは、核酸は、細胞内に導入され得、そして、発現のために相同組換えにより宿主細胞DNA内に組み込まれ得る。

20

【0430】

本発明はまた、薬学的組成物を提供する。このような組成物は、治療有効量の化合物、および薬学的に受容可能なキャリアを含む。特定の実施形態において、用語「薬学的に受容可能な」とは、動物における、そしてさらに具体的にはヒトにおける使用のために、連邦規制当局もしくは州政府により認められたか、または米国薬局方もしくは他の一般に認められた薬局方に列挙されたことを意味する。用語「キャリア」とは、治療剤とともに投与される、希釈剤、アジュバンド、賦形剤、またはビヒクルをいう。このような薬学的なキャリアは、水および油(石油起源、動物起源、植物起源、または合成起源の油(例えば、ピーナッツ油、大豆油、鉱油、ゴマ油など)を含む)のような滅菌した液体であり得る。水は、薬学的組成物が静脈内に投与される場合に、好ましいキャリアである。生理食塩水溶液、ならびにデキストロースおよびグリセロールの水溶液はまた、特に注射可能な溶液のために、液体キャリアとして使用され得る。適切な薬学的賦形剤としては、デンプン、グルコース、ラクトース、スクロース、ゼラチン、麦芽、イネ、フラワー、チョコク、シリカゲル、ステアリン酸ナトリウム、モノステアリン酸グリセロール、滑石、塩化ナトリウム、脱脂粉乳、グリセロール、プロピレン、グリコール、水、エタノールなどが挙げられる。組成物はまた、所望される場合、少量の湿潤剤もしくは乳化剤、またはpH緩衝剤を含み得る。これらの組成物は、液体、懸濁物、乳濁物、錠剤、丸剤、カプセル、粉末、徐放性処方物などの形態を取り得る。この組成物は、従来の結合剤およびトリグリセリドのようなキャリアとともに、坐剤として処方され得る。経口処方物は、薬学的等級のマンニトール、ラクトース、デンプン、ステアリン酸マグネシウム、サッカリンナトリウム、セルロース、炭酸マグネシウムなどのような標準的なキャリアを含み得る。適切な薬学的キャリアの例は、E. W. Martin による「Remington's Pharmaceutical Sciences」に記載される。このような組成物は、治療有効量

30

40

50

の化合物を、好ましくは精製された形態で、適切な量のキャリアとともに含んで、患者への適切な投与のための形態を提供する。処方物は、投与形態に適していなければならない。

【0431】

好ましい実施形態において、組成物は、慣用的な手順に従って、ヒトへの静脈内投与のために採用される薬学的組成物として、処方される。代表的には、静脈内投与のための組成物は、滅菌等張水性緩衝液中の溶液である。必要な場合、この組成物はまた、可溶化剤、および注射の部位での痛みを緩和するリグノカインのような局部麻酔を含み得る。一般的には、これらの成分は、別々にかまたは単位投薬形態（例えば、一定量の活性薬剤を示すアンプルまたは小袋（sachette）のような密封された容器中の凍結乾燥粉末または水を含まない濃縮物として）と一緒に混合してのいずれかで供給される。組成物が注入により投与されるべき場合には、組成物は、滅菌した薬学的等級の水または生理食塩水を含む注入ボトルに分配され得る。組成物が注射により投与される場合、成分が投与の前に混合され得るように、注射用滅菌水または生理食塩水のアンプルが提供され得る。

10

【0432】

本発明の化合物は、中性のまたは塩の形態として処方され得る。薬学的に受容可能な塩としては、塩酸、リン酸、酢酸、シュウ酸、酒石酸などに由来するもののようなアニオンとともに形成される塩、およびナトリウム、カリウム、アンモニウム、カルシウム、水酸化第2鉄、イソプロピルアミン、トリエチルアミン、2-エチルアミノエタノール、ヒスチジン、プロカインなどに由来するもののようなカチオンとともに形成される塩が挙げられる。

20

【0433】

本発明のポリペプチドの異常な発現および/または活性と関連する疾患または障害の処置、抑制および予防において効果的である本発明の化合物の量は、標準的な臨床技術により決定され得る。さらに、インビトロアッセイは、必要に応じて使用されて、最適な投薬量の範囲を同定するのを助け得る。処方物中に使用されるべき正確な用量はまた、投与の経路、および疾患または障害の重篤度に依存し、そして開業医の判断および各患者の状況に従って決定されるべきである。有効用量は、インビトロまたは動物モデル試験系から得られた用量反応曲線から推定され得る。

【0434】

抗体に関して、患者に投与される投薬量は、代表的に、患者の体重1kgあたり0.1mg~100mgである。好ましくは、患者に投与される投薬量は、患者の体重1kgあたり0.1mgと20mgとの間であり、より好ましくは、患者の体重1kgあたり1mg~10mgである。一般に、ヒト抗体は、外来ポリペプチドへの免疫応答に起因して、他種由来の抗体よりもヒト体内で長い半減期を有する。従って、ヒト抗体の低い投薬量および低頻度の投与が、しばしば可能である。さらに、本発明の抗体の投薬量および投与の頻度は、改変（例えば、脂溶化（lipidation）のような）による抗体の取り込みおよび組織浸透（例えば、脳への）を増強することにより減少され得る。

30

【0435】

本発明はまた、本発明の薬学的組成物の一つ以上の成分で満たされている一つ以上の容器を備える薬学的パックまたはキットを提供する。薬学的製品または生物学的製品の製造、使用または販売を規制している政府機関により規定される形式における通告は、このような容器に、必要に応じて付随し得る。この通告は、ヒトの投与のための製造、使用または販売のこの機関による認可を反映する。

40

【0436】

（診断および画像化）

目的のポリペプチドに特異的に結合する標識された抗体、ならびにその誘導体およびそのアナログは、診断目的のために使用されて、本発明のポリペプチドの異常な発現および/または活性に関連する疾患、障害および/または状態を検出、診断またはモニターし得る。本発明は、目的のポリペプチドの異常な発現の検出を提供し、これは、（a）目的のポ

50

リペプチドに特異的な1つ以上の抗体を使用して、個体の細胞または体液中の目的のポリペプチドの発現をアッセイする工程、および(b)この遺伝子発現レベルと標準的な遺伝子発現のレベルを比較する工程、を包含し、これによって、その標準的な発現レベルと比較されるアッセイされたポリペプチド遺伝子発現レベルの増加または減少が、異常な発現を示す。

【0437】

本発明は、障害を診断するための診断アッセイを提供し、このアッセイは、(a)目的のポリペプチドに特異的な1つ以上の抗体を使用して、個体の細胞または体液中の目的のポリペプチドの発現をアッセイする工程、および(b)この遺伝子発現レベルと標準的な遺伝子発現のレベルを比較する工程、を包含し、これによって、その標準的な発現レベルと比較したアッセイされたポリペプチド遺伝子発現レベルの増加または減少が、特定の障害を示す。癌に関して、個体由来の生検組織における比較的高い量の転写物の存在は、疾患の発生のための素因を示し得るか、または実際の臨床症状の出現前に疾患を検出するための手段を提供し得る。この型のより決定的な診断は、保健専門家に予防手段を使用させること、または早期の積極的な処置を可能にし得、これにより、癌の発生またはさらなる進行を予防する。

10

【0438】

本発明の抗体を使用して、当業者に公知の古典的な免疫組織学的方法を使用して生物学的サンプル中のタンパク質レベルをアッセイし得る(例えば、Jalkanenら、J. Cell. Biol. 101:976-985(1985); Jalkanenら、J. Cell. Biol. 105:3087-3096(1987)を参照のこと)。タンパク質遺伝子発現を検出するために有用な、抗体に基づく他の方法としては、イムノアッセイ(例えば、酵素結合イムノソルベント検定法(ELISA)および放射免疫測定法(RIA))が挙げられる。適切な抗体アッセイ標識は、当該分野において公知であり、そして酵素標識(例えば、グルコースオキシダーゼ);放射性同位体(例えば、ヨウ素(125I、121I)、炭素(14C)、硫黄(35S)、トリチウム(3H)、インジウム(112In)、およびテクネチウム(99Tc));発光標識(例えば、ルミノール);ならびに蛍光標識(例えば、フルオレセインおよびローダミン)、ならびにビオチンが挙げられる。

20

【0439】

本発明の1つの局面は、動物、好ましくは哺乳動物、そして最も好ましくはヒトにおける、目的のポリペプチドの異常な発現と関連する疾患または障害の検出および診断である。1つの実施形態において、診断は、a)目的のポリペプチドに特異的に結合する有効量の標識化分子を被験体に(例えば、非経口的に、皮下に、または腹腔内に)投与する工程; b)このポリペプチドが発現する被験体内の部位でこの標識化分子が優先的に濃縮することを可能にするために(および結合していない標識化分子がバックグラウンドレベルまで除去されるために)投与後、時間間隔を待つ工程; c)バックグラウンドレベルを決定する工程;およびd)この被験体中の標識化分子を検出する工程、を包含し、その結果、このバックグラウンドレベルを越える標識化分子の検出は、この被験体が目的のポリペプチドの異常な発現と関連する特定の疾患または障害を有することを示す。バックグラウンドレベルは、特定の系について以前に決定された標準的な値と、検出された標識化分子の量を比較する工程を包含する種々の方法により決定され得る。

30

40

【0440】

被験体のサイズおよび用いられる画像化システムは、診断画像を生成するために必要な画像化部分の量を決定することが当該分野で理解される。放射性同位体部分の場合には、ヒト被験体について、注射される放射能の量は、通常、約5~20ミリキュリーの99mTcの範囲である。次いで、標識された抗体または抗体フラグメントは、特定のタンパク質を含む細胞の位置に優先的に蓄積される。インビボ腫瘍画像化は、S. W. Burchielら、「Immunopharmacokinetics of Radiolabeled Antibodies and Their Fragments」(Tumo

50

r Imaging: The Radiochemical Detection of Cancer の第 13 章、S. W. Burchiel および B. A. Rhodes 編、Masson Publishing Inc. (1982) に記載される。

【0441】

用いられる標識の型および投与の様式を含む、いくつかの可変要素に依存して、標識された分子が被験体の部位に優先的に濃縮し、そして結合されていない標識された分子がバックグラウンドレベルまで一掃されることを可能にする、投与後の時間間隔は、6 ~ 48 時間または 6 ~ 24 時間または 6 ~ 12 時間である。別の実施形態においては、投与後の時間間隔は、5 ~ 20 日間または 5 ~ 10 日間である。

【0442】

1 つの実施形態においては、疾患または障害のモニタリングは、その疾患または障害を診断するための方法を繰り返すこと（例えば、最初の診断後 1 ヶ月、最初の診断後 6 ヶ月、最初の診断後 1 年など）により行われる。

【0443】

標識された分子の存在は、インビボ走査について当該分野において公知の方法を用いて、患者から検出され得る。これらの方法は、用いられる標識の型に依存する。当業者は、特定の標識を検出するための適切な方法を決定し得る。本発明の診断方法において用いられ得る方法およびデバイスとしては、限定はされないが、コンピューター断層撮影 (CT)、陽子 (positron) 射出断層撮影法 (PET) のような全身走査、磁気共鳴像 (MRI)、および超音波診断法が挙げられる。

【0444】

特定の実施形態においては、この分子は放射性同位体で標識され、そして放射線応答性の外科用機器を用いて患者中で検出される (Thurston ら、米国特許第 5,441,050 号)。別の実施形態においては、この分子は蛍光化合物で標識され、そして蛍光応答性の走査機器を用いて患者から検出される。別の実施形態においては、この分子は陽電子放出金属で標識され、そして陽子射出断層撮影法を用いて患者 (patient) から検出される。さらに別の実施形態においては、この分子は常磁性標識で標識され、そして磁気共鳴映像 (MRI) を用いて患者中で検出される。

【0445】

(キット)

本発明は、上記の方法において用いられ得るキットを提供する。1 つの実施形態においては、キットは、1 以上の容器中に、本発明の抗体 (好ましくは精製された抗体) を備える。特定の実施形態においては、本発明のキットは、このキットに含まれる抗体と特異的に免疫反応性であるエピトープを含む、実質的に分離されたポリペプチドを備える。好ましくは、本発明のキットは、目的のポリペプチドと反応しないコントロール抗体を、さらに備える。別の特定の実施形態においては、本発明のキットは、目的のポリペプチドとの抗体の結合 (例えば、この抗体は、検出可能な基質 (例えば、蛍光化合物、酵素基質、放射性化合物または発光化合物) と結合体化され得るか、あるいは一次抗体を認識する二次抗体は、検出可能な基質と結合体化され得る) を検出するための手段を備える。

【0446】

本発明の別の特定の実施形態においては、このキットは、増殖性および/または癌性のポリヌクレオチドおよびポリペプチドに対して特異的な抗体を含む血清をスクリーニングする際に用いる診断用キットである。このようなキットは、目的のポリペプチドと反応しないコントロール抗体を備え得る。このようなキットは、少なくとも 1 つの抗ポリペプチド抗原抗体と特異的に免疫反応性であるエピトープを含む、実質的に単離されたポリペプチド抗原を備え得る。さらに、このようなキットは、この抗体の抗原への結合 (例えば、この抗体は、フローサイトメトリーにより検出され得る、フルオレセインまたはローダミンのような蛍光化合物と結合体化され得る) を検出するための手段を備える。特定の実施形態においては、このキットは、組換え的に産生されたポリペプチド抗原または化学的に合成されたポリペプチド抗原を備え得る。このキットのポリペプチド抗原はまた、固体支持

10

20

30

40

50

体に付着され得る。

【0447】

より特定の実施形態においては、上記のキットの検出手段は、このポリペプチド抗原が付着される固体支持体を含む。このようなキットはまた、非付着レポーター標識抗ヒト抗体を備える。この実施形態においては、抗体のポリペプチド抗原との結合はこのレポーター標識抗体の結合により検出され得る。

【0448】

さらなる実施形態においては、本発明は、本発明のポリペプチドの抗原を含む血清をスクリーニングする際に用いる診断用キットを含む。この診断用キットは、ポリペプチドまたはポリヌクレオチド抗原と特異的に免疫反応性である、実質的に単離された抗体、およびこのポリヌクレオチドまたはポリペプチド抗原の抗体との結合を検出する手段を備える。1つの実施形態においては、この抗体は、固体支持体に付着される。特定の実施形態においては、この抗体は、モノクロナール抗体であり得る。このキットの検出手段は、第二の標識されたモノクロナール抗体を含み得る。あるいは、またはさらに、この検出手段は、標識された、競合抗原を含み得る。

10

【0449】

1つの診断の構成においては、試験血清は、本発明の方法により得られる表面結合抗原を有する固相試薬と反応する。特異的な抗原抗体をこの試薬と結合させ、そして結合されない血清成分を洗浄により除去した後、固体支持体上に結合する抗抗原抗体の量に応じて、レポーターをこの試薬と結合させるために、この試薬をレポーター標識抗ヒト抗体と反応させる。この試薬は、結合されない標識抗体を除去するため、再び洗浄され、そしてこの試薬と会合したレポーターの量が決定される。代表的には、レポーターは、適切な蛍光測定基質、発光基質または比色基質 (Sigma, St. Louis, MO) の存在下で、この固相をインキュベートすることにより検出される酵素である。

20

【0450】

上記のアッセイにおける固体表面試薬は、タンパク質材料を固体支持体材料 (例えば、高分子ビーズ、計深棒、96ウェルプレートまたは濾過材料) に付着させるための公知の技術により調製される。これらの付着方法としては、一般的に、支持体へのタンパク質の非特異的な吸着または固体支持体上の化学的に活性な基 (例えば、活性化カルボキシル基、ヒドロキシル基、またはアルデヒド基) とのタンパク質の共有結合 (covalent attachment) (代表的には、遊離アミン基を介する) が挙げられる。あるいは、ストレプトアビジンでコートされたプレートが、ビオチン化された抗原と共に使用され得る。

30

【0451】

従って、本発明は、この診断方法を行うためのアッセイ系またはキットを提供する。このキットは、一般的に、表面結合された組換え抗原を有する支持体、および表面結合された抗抗原抗体を検出するための、レポーター標識された抗ヒト抗体を備える。

【0452】

(ポリヌクレオチドの使用)

本明細書中で同定されるポリヌクレオチドの各々は、試薬として多くの方法において使用され得る。以下の説明は、模範的に考慮され、そして既知の技術を利用すべきである。

40

【0453】

本発明のポリヌクレオチドは、染色体の同定に有用である。新しい染色体マーカーを同定する必要性が、現在存在する。なぜなら、実際の配列データ (反復多型性) に基づく染色体マーカー試薬は現在、ほとんど利用可能ではないからである。各々の配列は、個々のヒトの染色体上の特定の位置を特異的に標的化し、そしてこの位置とハイブリダイズし得る。従って、本発明の各々のポリヌクレオチドは、当該分野で公知の技術を使用して、染色体マーカーとして慣用的に用いられ得る。

【0454】

簡潔には、配列は、配列番号 X において示される配列由来の PCR プライマー (好ましく

50

は、少なくとも15bp(例えば、15~25bp)を調製することにより、染色体にマッピングされ得る。プライマーは、コンピューター分析を使用して、必要に応じて選択され得、その結果プライマーは、ゲノムDNAにおける1より多くの予期されるエキソンにまたがらない。次いで、これらのプライマーは、個々のヒト染色体を含む体細胞ハイブリッドのPCRスクリーニングのために使用される。配列番号Xに対応するヒト遺伝子を含むそれらのハイブリッドのみが、増幅したフラグメントを産生する。

【0455】

同様に、体細胞ハイブリッドは、特定の染色体に対するポリヌクレオチドのPCRマッピングの迅速な方法を提供する。3つ以上のクローンが、一日あたり、1つのサーマルサイクラーを用いて、指定され得る。さらに、ポリヌクレオチドの下位局在化(sublocalization)は、特定の染色体のフラグメントのパネルを用いて、達成され得る。用いられ得る他の遺伝子マッピングストラテジーは、インサイチュハイブリダイゼーション、標識フローソート(labeled flow-sorted)染色体でのプレスクリーニング、染色体特異的cDNAライブラリーを構築するためのハイブリダイゼーションによる前選択、およびコンピューターマッピング技術(例えば、本明細書中で、その全体において参考として援用される、Shuler, Trends Biotechnol 16:456-459(1998)を参照のこと)を含む。

10

【0456】

ポリヌクレオチドの正確な染色体位置はまた、中期染色体スプレッド(spread)の蛍光インサイチュハイブリダイゼーション(FISH)を使用して、達成され得る。この技術は、500塩基または600塩基ほどの短いポリヌクレオチドを使用する;しかし、2,000~4,000bpのポリヌクレオチドが、好ましい。この技術の概説については、Vermaら、「Human Chromosomes: a Manual of Basic Techniques」Pergamon Press, New York(1988)を参照のこと。

20

【0457】

染色体マッピングについて、ポリヌクレオチドは、個々に(1つの染色体またはその染色体における1つの部位をマークするため)使用され得るか、またはパネル(複数部位および/または複数染色体をマークするため)において使用され得る。

【0458】

従って、本発明はまた、以下:(a)表1および配列番号Xのポリヌクレオチド配列からPCRプライマーを調製する工程、ならびに(b)個々の染色体を含む体細胞のハイブリッドをスクリーニングする工程、を包含する染色体の局在化のための方法を提供する。

30

【0459】

本発明のポリヌクレオチドは、同様に、放射線ハイブリッドマッピング、HAPPYマッピング、および長距離制限マッピングについて有用である。これらの技術および当該分野で公知の他の技術の総説については、例えば、Dear,「Genome Mapping: A Practical Approach」、IRL Press Oxford University Press, London(1997);Aydin, J. Mol. Med. 77:691-694(1999);Haciaら、Mol. Psychiatry 3:483-492(1998);Herrickら、Chromosome Res. 7:409-423(1999);Hamiltonら、Methods Cell Biol. 62:265-280(2000);および/またはOtt, J. Hered. 90:68-70(1999)(これらの各々は、本明細書によって、その全体において参考として援用される)を参照のこと。

40

【0460】

一旦、ポリヌクレオチドが正確な染色体位置にマッピングされると、ポリヌクレオチドの物理的な位置は、連鎖分析において使用され得る。連鎖分析は、染色体位置と特定の疾患の提示との間の同時遺伝(coinheritance)を確立する(疾患マッピングデータは、例えば、V. McKusick, Mendelian Inheritance

50

in Man (Johns Hopkins University Welch Medical Libraryを通じてオンラインで利用可能である)に見出される)。1メガベースのマッピング分解能および20kbあたり1遺伝子と仮定すると、疾患と関連づけられた染色体領域に正確に位置決めされたcDNAは、50~500の潜在的な原因遺伝子のうちの1つであり得る。

【0461】

従って、一旦同時遺伝が確立されると、本発明のポリヌクレオチド、および罹患個体と非罹患個体との間に対応する遺伝子における差異が試験され得る。第1に、染色体における目に見える構造変化(例えば、欠失または転座)が染色体スプレッドにおいてまたはPCRにより試験される。構造的変化が存在しない場合は、点変異の存在を確認する。いくらかまたは全ての罹患個体で観察されたが、正常個体では観いくらかの正常個体由来の察されない変異は、この変異がこの疾患を引き起こし得ることを示す。しかし、ポリペプチドおよび対応する遺伝子の完全な配列決定は、多型に由来する変異を区別するために必要である。新たな多型が同定されると、この多型ポリペプチドは、さらなる連鎖分析のために使用され得る。

10

【0462】

さらに、罹患していない個体と比較した場合に、罹患した個体における増加または減少した遺伝子の発現は、本発明のポリヌクレオチドを用いて評価され得る。いずれかのこれらの改変(発現の改変、染色体の再構成、または変異)が、診断マーカーまたは予後マーカーとして使用され得る。

20

【0463】

従って、本発明はまた、障害の診断の間に有用な診断方法を提供し、この方法は、個体由来の細胞または体液中の本発明のポリヌクレオチドの発現レベルを測定する工程、および測定された遺伝子発現レベルをポリヌクレオチド発現レベルの標準レベルと比較する工程を包含し、これによって、標準と比較して、遺伝子発現レベルの増加または減少が、障害の指標になる。

【0464】

なお別の実施形態では、本発明は、サンプルを、試験被験体に由来する増殖性および/または癌性のポリヌクレオチドの存在について分析するためのキットを含む。一般的実施形態において、このキットは、本発明のポリヌクレオチドと特異的にハイブリダイズするヌクレオチド配列を含む少なくとも1つのポリヌクレオチドプローブ、および適切な容器を備える。この特定の実施形態では、このキットは、本発明のポリヌクレオチドの内部領域を規定する2つのポリヌクレオチドプローブを含み、ここで各プローブは、この領域に対して内部に31'マー末端を含む1つの鎖を有する。さらなる実施形態では、このプローブは、ポリメラーゼ連鎖反応増幅のためのプライマーとして有用であり得る。

30

【0465】

関連する障害の診断(例えば、腫瘍の診断を含む)が既に従来方法に従って行われている場合、本発明は、予後インジケータとして有用であり、それによって増強または抑制された本発明のポリヌクレオチド発現を示す患者が、標準レベルにより近いレベルでこの遺伝子を発現する患者と比較して悪い臨床結果を経験する。

40

【0466】

「本発明のポリヌクレオチドの発現レベルを測定する(こと)」によって、本発明のポリペプチドのレベルまたは本発明のポリペプチドをコードするmRNAのレベルを、第1の生物学的サンプルにおいて直接的(例えば、絶対的なタンパク質レベルまたはmRNAレベルを決定または評価することによって)または相対的(例えば、第2の生物学的サンプル中のポリペプチドレベルまたはmRNAレベルに対して比較することによって)のいずれかで定性的または定量的に測定または評価することが意図される。好ましくは、第1の生物学的サンプル中のポリペプチドレベルまたはmRNAレベルが測定または評価され、そして標準のポリペプチドレベルまたはmRNAレベルに対して比較され、この標準は、関連する障害を有さない個体から得られる第2の生物学的サンプルから得られるかまたは

50

関連する障害を有さない個体の集団由来のレベルを平均することによって決定される。当該分野で認識されるように、一旦標準的なポリペプチドレベルまたはmRNAレベルが公知になれば、これは、比較のための標準として反復して用いられ得る。

【0467】

「生物学的サンプル」によって、本発明のポリペプチドまたは対応するmRNAを含む、個体、体液、細胞株、組織培養物または他の供給源から得られる任意の生物学的サンプルが意図される。示されるように、生物学的サンプルは、本発明のポリペプチドを含む体液（例えば、精液、リンパ、血清、血漿、尿、滑液および髄液）、および本発明のポリペプチドを発現することが見出された組織供給源を含む。哺乳動物から組織生検および体液を得るための方法は、当該分野で周知である。生物学的サンプルがmRNAを含む場合、組織生検が好ましい供給源である。

10

【0468】

上記で提供された方法は、好ましくは、本発明のポリヌクレオチドおよび/またはポリペプチドが固体支持体に結合される、診断方法および/またはキットに適用され得る。1つの例示的な方法では、この支持体は、米国特許第5,837,832号、同第5,874,219号および同第5,856,174号に記載されるように、「遺伝子チップ」または「生物学的チップ」であり得る。さらに、本発明のポリヌクレオチドが結合されたこのような遺伝子チップを用いて、本発明の単離されたポリヌクレオチド配列と、試験被験体から単離されたポリヌクレオチドとの間の多型性を同定し得る。このような多型性の知見（すなわち、それらの位置ならびにそれらの存在）は、多くの障害（例えば、神経障害、免疫系障害、筋障害、生殖障害、胃腸障害、肺障害、心臓血管障害、腎臓障害、増殖性障害ならびに/または癌性の疾患および状態のような障害）についての疾患の遺伝子座を同定する際に有益である。このような方法は、米国特許第5,858,659号および同第5,856,104号に記載される。上記に参照した米国特許は、その全体が本明細書中に参考として援用される。

20

【0469】

本発明は、化学的に合成された、またはペプチド核酸(PNA)として再現されたかまたは当該分野で公知の他の方法に従って合成された、本発明のポリヌクレオチドを包含する。PNAの使用は、本発明のポリヌクレオチドが固体支持体、すなわち、遺伝子チップに取り込まれる場合、好ましい形態として役立つ。本発明の目的のために、ペプチド核酸(PNA)は、ポリアミド型のDNAアナログであり、そしてアデニン、グアニン、チミンおよびシトシンについての単量体単位が市販されている(Perceptive Biosystems)。DNAの特定の成分(例えば、リン、酸化リンまたはデオキシリボース誘導体)は、PNA中に存在しない。P. E. Nielsen, M. Egholm, R. H. Berg および O. Buchardt, Science 254, 1497 (1991); ならびに M. Egholm, O. Buchardt, L. Christensen, C. Behrens, S. M. Freier, D. A. Driver, R. H. Berg, S. K. Kim, B. Norden および P. E. Nielsen, Nature 365, 666 (1993) によって開示されるように、PNAは、相補的なDNA鎖に対して特異的かつ緊密に結合し、そしてヌクレアーゼによって分解されない。実際、PNAは、DNA自体が結合するよりも強力にDNAに結合する。これはおそらく、2つの鎖の間に静電斥力が存在せず、そしてまたポリアミド骨格がより可撓性が高いことによる。これによって、PNA/DNA二重鎖は、DNA/DNA二重鎖よりも広範囲のストリンジェンシー条件下で結合し、多重鎖ハイブリダイゼーションを行うのをより容易にする。強力な結合に起因して、DNAを用いてよりも小さいプローブが用いられ得る。さらに、おそらく、単一の塩基ミスマッチが、PNA/DNAハイブリダイゼーションを用いて決定され得る。なぜなら、PNA/DNAの15マーにおける単一のミスマッチは、DNA/DNAの15マー二重鎖については4 ~ 16 であるのに対して、融点(T_{sub}m)を8 ~ 20 低下させるからである。また、PNA中に電荷基が存在しないことは、ハイブリダイゼーションが、低いイオン強度で行われ得、そして分析の間の塩によっ

30

40

50

て可能な妨害を減少させることを意味する。

【0470】

本発明は、哺乳動物における癌の検出を含むが、これに限定されない使用を有する。特に、本発明は、以下を含むがこれらに限定されない、病理学的細胞増殖新形成の診断の間に有用である：急性骨髄性白血病（急性単球性白血病、急性骨髄芽球性白血病、急性前骨髄球性白血病、急性骨髄単球性白血病、急性赤白血病、急性巨核球性白血病、および急性未分化白血病などを含む）；および慢性骨髄性白血病（慢性骨髄単球性白血病、慢性顆粒球性白血病などを含む）。好ましい哺乳動物としては、有尾猿（monkey）、無尾猿（ape）、ネコ、イヌ、ウシ、ブタ、ウマ、ウサギおよびヒトが挙げられる。特に好ましいのは、ヒトである。

10

【0471】

病理学的細胞増殖障害はしばしば、原癌遺伝子の不適切な活性化に関連する（Gelmann, E. P.ら、「The Etiology of Acute Leukemia: Molecular Genetics and Viral Oncology」、Neoplastic Diseases of the Blood, 第1巻, Wiernik, P. H.ら編, 161-182 (1985)）。新形成は現在、ウイルス配列の染色体への挿入、より活性に転写される領域への遺伝子の染色体転座、または何らかの他の機構による、正常な細胞遺伝子産物の定性的変化から、または遺伝子発現の定量的改変から生じると考えられている（Gelmannら、前出）。特定の遺伝子の変異または変更された発現が、他の組織および他の細胞型の中でも、いくつかの白血病の病因と関与するようである（Gelmannら、前出）。実際、いくつかの動物新形成に関与する癌遺伝子のヒト対応物は、ヒトの白血病および癌のいくつかの症例において増幅または転座されている（Gelmannら、前出）。

20

【0472】

例えば、c-myc発現は、非リンパ球性白血病細胞株HL-60において高度に増幅される。HL-60細胞が増幅を止めるように化学的に誘導される場合、c-mycのレベルは、下方制御されることが見出される（国際公開第WO91/15580号）。しかし、c-mycまたはc-mybの5'末端に相補的であるDNA構築物へのHL-60細胞の暴露が、c-mycタンパク質またはc-mybタンパク質の発現を下方制御する対応するmRNAの翻訳をブロックし、そして処理した細胞の細胞増殖および分化の停止を引き起こすことが示されている（国際公開第WO91/15580号；Wickstromら、Proc. Natl. Acad. Sci. 85:1028 (1988)；Anfossisら、Proc. Natl. Acad. Sci. 86:3379 (1989)）。しかし、当業者は、増殖表現型を示すことが公知である種々の起源の多数の細胞および細胞型を考慮すれば、本発明の有用性が造血細胞および組織の増殖性障害の処置に限定されないことを認識する。

30

【0473】

前述に加えて、本発明のポリヌクレオドは、三重らせん体形成またはアンチセンスDNAもしくはRNAを通して遺伝子発現を制御するために使用され得る。アンチセンス技術は、例えば、Okano, J. Neurochem. 56:560 (1991)；「Oligodeoxynucleotides as Antisense Inhibitors of Gene Expression, CRC Press, Boca Raton, FL (1998)において議論される。三重らせん体形成は、例えば、Leeら、Nucleic Acids Research 6:3073 (1979)；Cooneyら、Science 241:456 (1998)；およびDervanら、Science 251:1360 (1991)において議論される。両方の方法は、相補的なDNAまたはRNAへのポリヌクレオドの結合に依存する。これらの技術について、好ましいポリヌクレオドは、通常、20~40オリゴヌクレオチド塩基長であり、そして転写に関与する遺伝子の領域（三重らせん-Leeら、Nucl. Acids Res. 6:3073 (1979)；Cooneyら、Science 241:456 (1988)）

40

50

;およびDervanら、Science 251:1360(1991)を参照のこと)またはmRNA自体(アンチセンス-Okano、J. Neurochem. 56:560(1991); Oligodeoxy-nucleotides as Antisense Inhibitors of Gene Expression、CRC Press、Boca Raton、FL(1988))のいずれかに対して相補的であるオリゴヌクレオチドである。三重らせん体形成は、DNAからのRNA転写の遮断を最適に生じるが、一方アンチセンスRNAのハイブリダイゼーションは、ポリペプチドへのmRNA分子の翻訳をブロックする。上記のオリゴヌクレオチドはまた、アンチセンスRNAまたはDNAがインピボで発現されて、本発明の抗原のポリペプチドの産生を阻害し得るように細胞に送達され得る。両方の技術は、モデル系において効果的であり、そして本明細書中に開示された情報を使用して、疾患を処置するための試みにおいて、そして特に増殖性の疾患および/または状態の処置のため、アンチセンスのポリヌクレオチドまたは三重らせん体のポリヌクレオチドを設計し得る。

10

【0474】

本発明のポリヌクレオチドはまた、遺伝子治療に有用である。遺伝子治療の目的の1つは、遺伝的欠損を補正するための試みにおいて、欠損遺伝子を有する生物に正常な遺伝子を挿入することである。本発明において開示されるポリヌクレオチドは、非常に正確な様式において、そのような遺伝的欠損を標的化する手段を提供する。別の目的は、宿主のゲノムには存在しなかった新しい遺伝子を挿入し、それにより宿主細胞において新しい形質を産生することである。

20

【0475】

このポリヌクレオチドはまた、微量の生物学的サンプルから個体を同定するのに有用である。米国陸軍は、例えば、その個体の識別のために、制限体断片長多型(RFLP)の使用を考えている。この技術において、個体のゲノムDNAは、1つ以上の制限酵素で消化され、そしてサザンプロットでプローブ化されて個体を識別するための独特のバンドを生じる。この方法は、紛失、入れ替え、または盗難され得、ポジティブな識別を困難にする「認識票」の現在の制限に患わされることがない。本発明のポリヌクレオチドは、RFLPのさらなるDNAマーカーとして使用され得る。

【0476】

本発明のポリヌクレオチドはまた、個体のゲノムの選択された部分の塩基ごとの実際のDNA配列を決定することにより、RFLPの代わりとして使用され得る。これらの配列を使用して、そのような選択されたDNAを、増幅および単離するためのPCRプライマーを調製し得る。次いで、これは配列決定され得る。この技術を使用して、個体を同定し得る。なぜなら、各個体は独特なDNA配列のセットを有するからである。一旦、独特なIDデータベースが、個体に対して確立されると、その個体(生存または死亡している)のポジティブな識別が、非常に小さな組織サンプルからなされ得る。

30

【0477】

法医学的生物学はまた、本明細書中に開示されるようにDNAに基づく識別技術を使用することから有益である。非常に小さな生物学的サンプル(例えば、組織(例えば、髪または皮膚)あるいは体液(例えば、血液、唾液、精液、滑液、羊水、母乳、リンパ液、肺痰または表面活性物質、尿、糞便など))から得られたDNA配列を、PCRを使用して増幅し得る。1つの先行技術において、多型座位(例えば、DQaクラスII HLA遺伝子)から増幅された遺伝子配列を法医学的生物学において使用して、個体を識別する(Erllich、H.、PCR Technology、Freeman and Co. (1992))。一旦、これらの特定の多型座位が増幅されれば、それらを1つ以上の制限酵素で消化して、DQaクラスII HLA遺伝子に対応するDNAでプローブされた、サザンプロットにおいて識別するバンドのセットを生じる。同様に、本発明のポリヌクレオチドを、法医学的目的のための多型性マーカーとして使用し得る。

40

【0478】

特定の組織の供給源を同定し得る試薬についての必要性がまた存在する。例えば、起源の

50

$^{120}_{47}\text{In}$ 、 $^{111}_{47}\text{In}$)、およびテクネチウム ($^{99}_{43}\text{Tc}$ 、 $^{99\text{m}}_{43}\text{Tc}$)、タリウム ($^{201}_{81}\text{Tl}$)、ガリウム ($^{68}_{31}\text{Ga}$ 、 $^{67}_{31}\text{Ga}$)、パラジウム ($^{103}_{46}\text{Pd}$)、モリブデン ($^{99}_{42}\text{Mo}$)、キセノン ($^{133}_{54}\text{Xe}$)、フッ素 ($^{18}_{9}\text{F}$)、 $^{153}_{62}\text{Sm}$ 、 $^{177}_{71}\text{Lu}$ 、 $^{159}_{64}\text{Gd}$ 、 $^{149}_{61}\text{Pm}$ 、 $^{140}_{58}\text{La}$ 、 $^{175}_{71}\text{Yb}$ 、 $^{166}_{68}\text{Ho}$ 、 $^{90}_{40}\text{Y}$ 、 $^{47}_{21}\text{Sc}$ 、 $^{186}_{78}\text{Re}$ 、 $^{188}_{78}\text{Re}$ 、 $^{142}_{58}\text{Pr}$ 、 $^{105}_{45}\text{Rh}$ 、 $^{97}_{44}\text{Ru}$ ；発光標識 (例えば、ルミノール)；ならびに蛍光標識 (例えば、フルオレセインおよびローダミン)ならびにビオチンが挙げられる。

【0485】

生物学的サンプル中の本発明のポリペプチドのレベルをアッセイすることに加えて、タンパク質はまた、画像化によりインビボで検出され得る。タンパク質のインビボ画像化のための抗体の標識またはマーカーは、X線撮影法、NMR、またはESRにより検出可能なものを含む。X線撮影法のために適切な標識は、放射性同位体 (例えば、バリウムまたはセシウム) を含み、これは検出可能な放射線を放射するが、被験体に対して明らかに有害ではない。NMRおよびESRのための適切なマーカーは、検出可能な特徴的なスピンを有するマーカー (例えば、重水素) を含み、これは、関連するハイブリドーマのための栄養分を標識することにより抗体中に取り込まれ得る。

放射性同位体 (例えば、 $^{131}_{53}\text{I}$ 、 $^{112}_{47}\text{In}$ 、 $^{99\text{m}}_{43}\text{Tc}$ 、($^{131}_{53}\text{I}$ 、 $^{125}_{53}\text{I}$ 、 $^{123}_{53}\text{I}$ 、 $^{121}_{53}\text{I}$)、炭素 ($^{14}_{6}\text{C}$)、硫黄 ($^{35}_{16}\text{S}$)、トリチウム (^3_1H)、インジウム ($^{115\text{m}}_{49}\text{In}$ 、 $^{113\text{m}}_{49}\text{In}$ 、 $^{112}_{49}\text{In}$ 、 $^{111}_{49}\text{In}$)、およびテクネチウム ($^{99}_{43}\text{Tc}$ 、 $^{99\text{m}}_{43}\text{Tc}$)、タリウム ($^{201}_{81}\text{Tl}$)、ガリウム ($^{68}_{31}\text{Ga}$ 、 $^{67}_{31}\text{Ga}$)、パラジウム ($^{103}_{46}\text{Pd}$)、モリブデン ($^{99}_{42}\text{Mo}$)、キセノン ($^{133}_{54}\text{Xe}$)、フッ素 ($^{18}_{9}\text{F}$)、 $^{153}_{62}\text{Sm}$ 、 $^{177}_{71}\text{Lu}$ 、 $^{159}_{64}\text{Gd}$ 、 $^{149}_{61}\text{Pm}$ 、 $^{140}_{58}\text{La}$ 、 $^{175}_{71}\text{Yb}$ 、 $^{166}_{68}\text{Ho}$ 、 $^{90}_{40}\text{Y}$ 、 $^{47}_{21}\text{Sc}$ 、 $^{186}_{78}\text{Re}$ 、 $^{188}_{78}\text{Re}$ 、 $^{142}_{58}\text{Pr}$ 、 $^{105}_{45}\text{Rh}$ 、 $^{97}_{44}\text{Ru}$)、放射線不透過性物質、または核磁気共鳴により検出可能な材料のような適切な検出可能な画像化部分で標識された、タンパク質特異的抗体または抗体フラグメントは、哺乳動物に (例えば、非経口的、皮下、または腹腔内に) 導入され、免疫系の障害について検査される。被験体のサイズおよび用いられる画像化システムは、診断画像を生成するために必要な画像化部分の量を決定することが当該分野で理解される。放射性同位体部分の場合には、ヒト被験体について、注射される放射能の量は、通常、 $^{99\text{m}}_{43}\text{Tc}$ の約5~20ミリキュリーの範囲である。次いで、標識された抗体または抗体フラグメントは、本発明のポリヌクレオチドによりコードされるポリペプチドを発現する細胞の位置に優先的に蓄積される。インビボ腫瘍画像化は、S. W. Burchielら、「Immunopharmacokinetics of Radiolabeled Antibodies and Their Fragments」(Tumor Imaging: The Radiochemical Detection of Cancerの第13章、S. W. BurchielおよびB. A. Rhodes編、Masson Publishing Inc. (1982))に記載される。

【0486】

1つの実施形態において、本発明は、異種ポリペプチドまたは核酸と会合する本発明のポリペプチド (例えば、本発明のポリヌクレオチドによりコードされるポリペプチドおよび/または抗体) を投与することによる、本発明の組成物の細胞への特異的な送達のための方法を提供する。1つの例において、本発明は、治療タンパク質を標的化細胞中へ送達するための方法を提供する。別の例において、本発明は、一本鎖核酸 (例えば、アンチセンスまたはリボザイム) または二本鎖核酸 (例えば、細胞のゲノムに組み込み得るか、またはエピソームにて複製し得、そして転写され得るDNA) を、標的化細胞に送達するための方法を提供する。

【0487】

別の実施形態において、本発明は、毒素または細胞傷害性プロドラッグに関連する本発明のポリペプチドを投与することによる細胞の特異的な破壊 (例えば、腫瘍細胞の破壊) のための方法を提供する。

10

20

30

40

50

【0488】

「毒素」とは、内因性の細胞傷害性エフェクタ系、放射性同位体、ホロ毒素 (holotoxin)、改変型毒素、毒素の触媒サブユニット、または規定の条件下で細胞死を引き起こす細胞中もしくは細胞表面には通常存在しない任意の分子もしくは酵素を結合および活性化する1つ以上の化合物を意味する。本発明の方法に従って使用され得る毒素としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：当該分野で公知の放射性同位体、固有のまたは誘導された内因性の細胞傷害性エフェクタ系に結合する化合物（例えば、抗体（またはその補体固定含有部分））、チミジンキナーゼ、エンドヌクレアーゼ、RNAse、毒素、リシン、アブリン、Pseudomonas外毒素A、ジフテリア毒素、サボリン、モモルジン (momordin)、ゲロニン (gelonin)、ヤマゴボウ抗ウイルスタンパク質、サルシン (sarcin) およびコレラ毒素。「毒素」はまた、細胞増殖抑制剤もしくは細胞破壊剤、治療薬または放射活性金属イオン（例えば、²¹³Bi）もしくは他の放射性同位体（例えば、¹⁰³Pd、¹³³Xe、¹³¹I、⁶⁸Ge、⁵⁷Co、⁶⁵Zn、⁸⁵Sr、³²P、³⁵S、⁹⁰Y、⁵³Sm、¹⁵³Gd、¹⁶⁹Yb、⁵¹Cr、⁵⁴Mn、⁷⁵Se、¹¹³Sn、⁹⁰イットリウム、¹¹⁷スズ、¹⁸⁶レニウム、¹⁶⁶ホルミウム、および¹⁸⁸レニウム）；発光標識（例えば、ルミノール）；および蛍光標識（例えば、フルオレセインおよびローダミン）、ならびにビオチンを含む。

10

【0489】

当該分野において公知の技術は、本発明のポリペプチド（抗体を含む）を標識化するために適用され得る。このような技術としては、二官能性結合剤の使用（例えば、米国特許第5,756,065号；同第5,714,631号；同第5,696,239号；同第5,652,361号；同第5,505,931号；同第5,489,425号；同第5,435,990号；同第5,428,139号；同第5,342,604号；同第5,274,119号；同第4,994,560号；および5,808,003号を参照のこと；これら各々の内容は、本明細書中に参考としてその全体を援用する）が挙げられるが、これらに限定されない。

20

【0490】

従って、本発明は、障害の診断方法を提供し、これは以下を含む：(a) 個体の細胞または体液における本発明のポリペプチドの発現レベルをアッセイする工程；および (b) アッセイされたポリペプチドの発現レベルを標準のポリペプチドの発現レベルと比較し、それによって標準の発現レベルと比較してアッセイされたポリペプチドの発現レベルにおける増加または減少が障害を示す工程。癌に関しては、個体由来の生検された組織中の相対的に高い量の転写物の存在は、疾患の発症の素因を示し得るか、または実際の臨床的な症状が明らかとなる前に疾患を検出するための手段を提供し得る。より決定的なこのタイプの診断は、保健専門家が早く予防策または積極的な処置を使用し、それによって癌の発症またはさらなる進行を防ぐことを可能にし得る。

30

【0491】

さらに、本発明のポリペプチドを用いて疾患または状態（例えば、神経障害、免疫系障害、筋肉障害、生殖障害、胃腸障害、肺障害、心臓血管障害、腎臓障害、増殖障害ならびに / または癌性疾患および状態など）を処置または予防し得る。例えば、患者は、このポリペプチドの非存在またはレベルの減少を元に戻すこと（例えば、インスリン）、異なるポリペプチドの非存在またはレベルの減少を補充すること（例えば、ヘモグロビンBに対するヘモグロビンS、SOD、カタラーゼ、DNA修復タンパク質）、ポリペプチドの活性を阻害すること（例えば、癌遺伝子または腫瘍抑制因子）、ポリペプチドの活性を活性化すること（例えば、レセプターに結合することによって）、膜結合レセプターを遊離リガンドと競合させることによって膜結合レセプターの活性を減少させること（例えば、炎症を低減させる際に用いられる可溶性TNFレセプター）、または所望の応答をもたらすこと（例えば、血管の成長の阻害、増殖細胞または組織に対する免疫応答の増強）の試みにおいて、本発明のポリペプチドが投与され得る。

40

50

【0492】

同様に、本発明のポリペプチドに対して指向される抗体もまた用いられ、疾患（上記、および本明細書中のどこかに記載されるような）を処置し得る。例えば、本発明のポリペプチドに対して指向される抗体の投与は、ポリペプチドを結合して、そして/またはポリペプチドを中和し、そして/またはポリペプチドの過剰産生を低減し得る。同様に、抗体の投与は、例えば、膜（レセプター）に結合するポリペプチドへ結合することにより、ポリペプチドを活性化し得る。

【0493】

少なくとも、本発明のポリペプチドは、当業者に周知の方法を用いる SDS - PAGE ゲルまたは分子ふるいゲル濾過カラムの分子量マーカーとして使用され得る。宿主細胞の形質転換を評価する方法として、ポリペプチドがまた用いられ、抗体を惹起し得、次いで、この抗体が使用され、組換え細胞からのポリペプチド発現を測定する。さらに、本発明のポリペプチドが使用され、以下の生物学的活性を試験し得る。

10

【0494】

（診断アッセイ）

本発明の化合物は、哺乳動物（好ましくは、ヒト）における種々の障害の診断、処置、予防および/または予測のために有用である。このような障害としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：神経障害（例えば、以下の「神経活性および神経学的疾患」に記載されるような）、免疫系障害（例えば、以下の「免疫活性」に記載されるような）、筋肉障害（例えば、以下の「神経活性および神経学的疾患」に記載されるような）、生殖障害（例えば、以下の「抗脈管形成活性」に記載されるような）、肺障害（例えば、以下の「免疫活性」に記載されるような）心臓血管障害（例えば、以下の「心臓血管障害」に記載されるような）、感染障害（例えば、以下の「感染障害」に記載されるような）、増殖障害（例えば、以下の「過剰増殖性障害」、「抗脈管形成活性」および「細胞レベルの疾患」に記載されるような）ならびに/または癌疾患および癌状態（例えば、以下の「過剰増殖性障害」、「抗脈管形成活性」および「細胞レベルの疾患」に記載されるような）。

20

【0495】

B7様ファミリーのメンバーのタンパク質は、T細胞活性化、サイトカイン産生、T細胞増殖、ならびに免疫系および炎症障害に關与する生物学的活性に關与すると考えられる。従って、本発明の組成物（本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチドおよび抗体、ならびにそのフラグメントおよび改変体を含む）は、異常なB7活性に關連する疾患および/または障害の診断、検出および/または処置において用いられ得る。

30

【0496】

好ましい実施形態において、本発明の組成物（本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチドおよび抗体、ならびにそのフラグメントおよび改変体を含む）は、全身の免疫系、およびT細胞活性化に關する疾患および/または障害（詳細には、例えば、サイトカイン産生、炎症、T細胞増殖およびT細胞増殖障害、ならびに/または下記の「免疫活性」、「過剰増殖性障害」、および「細胞レベルの疾患」において記載されるものなど）の診断、検出および/または処置において用いられ得る。

40

【0497】

別の実施形態において、本発明のポリペプチド、そのポリペプチドに対応するポリヌクレオチド、抗体、アゴニスト、またはアンタゴニストは、本発明のポリペプチドが発現される組織（「本発明のポリヌクレオチドおよびポリペプチド」において開示される組織および/または表10、第2行目（ライブラリーコード）において開示される1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、またはそれを超える組織を含む）に關連する障害を診断、予後、予防、および/または処置するために使用され得る。

【0498】

多くの障害に關して、「標準の」B7様遺伝子発現レベル（すなわち、障害を有さない個体由来の組織または体液中のB7様発現レベル）に対して實質的に変化した（増加したか

50

または減少した)レベルのB7様遺伝子発現が、このような障害を有する個体から採取された組織、細胞または体液(例えば、血清、血漿、尿、精液、滑液または髄液)において検出され得る。従って、本発明は、障害の診断の間に有用な診断方法を提供し、この方法は、個体由来の組織、細胞または体液におけるB7様ポリペプチドをコードする遺伝子の発現レベルを測定する工程、および標準的なB7様遺伝子発現レベルと測定された遺伝子発現レベルを比較する工程を包含し、それにより、標準と比較した遺伝子発現レベルにおける増加または減少が、B7様障害の指標である。これらの診断アッセイは、インビボまたはインビトロで行なわれ得る(例えば、血液サンプル、生検組織または剖検組織上で)。

【0499】

本発明はまた、診断指標としてもまた有用であり、それにより、強化または抑制されたB7様遺伝子発現を示す患者は、標準レベルにより近いレベルで遺伝子を発現する患者と比較して悪い臨床結果を経験する。

【0500】

「B7様ポリヌクレオチドをコードする遺伝子の発現レベルをアッセイする(こと)」によって、B7様ポリペプチドのレベルまたはB7様ポリペプチドをコードするmRNAのレベルを、第1の生物学的サンプルにおいて直接的(例えば、絶対的なタンパク質レベルまたはmRNAレベルを決定または評価することによって)または相対的(例えば、第2の生物学的サンプル中のB7様ポリペプチドレベルまたはmRNAレベルに対して比較することによって)のいずれかで定性的または定量的に測定または評価することが意図される。好ましくは、第1の生物学的サンプル中のB7様ポリペプチド発現レベルまたはmRNAレベルが測定または評価され、そして標準のB7様ポリペプチドレベルまたはmRNAレベルに対して比較され、この標準は、障害を有さない個体から得られる第2の生物学的サンプルから得られるかまたは障害を有さない個体の集団由来のレベルを平均することによって決定される。当該分野で認識されるように、一旦標準的なB7様ポリペプチドレベルまたはmRNAレベルが公知になれば、これは、比較のための標準として反復して用いられ得る。

【0501】

「生物学的サンプル」によって、B7様ポリペプチド(その一部を含む)またはmRNAを含む、個体、細胞株、組織培養物または他の供給源から得られる任意の生物学的サンプルが意図される。示されるように、生物学的サンプルは、体液(例えば、血清、血漿、尿、滑液および髄液)、およびB7様ポリペプチドの全長またはそのフラグメントを発現することが見出された組織供給源を含む。哺乳動物から組織生検および体液を得るための方法は、当該分野で周知である。生物学的サンプルがmRNAを含む場合、組織生検が好ましい供給源である。

【0502】

総細胞性RNAは、ChomczynskiおよびSacchi、Anal. Biochem. 162:156-159(1987)に記載される一工程グアニジウム-チオシアネート-フェノール-クロロホルム法のような任意の適切な技術を使用して生物学的サンプルから単離され得る。次いで、B7様ポリペプチドをコードするmRNAのレベルは、任意の適切な方法を使用してアッセイされる。これらとしては、ノーザンブロット分析、S1ヌクレアーゼマッピング、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)、ポリメラーゼ連鎖反応と組み合わせた逆転写(RT-PCR)およびリガーゼ連鎖反応と組み合わせた逆転写(RT-LCR)が挙げられる。

【0503】

本発明はまた、ポリペプチドの正常および異常なレベルの決定を含む、生物学的サンプル(例えば、細胞および組織)中のB7様ポリペプチドのレベルを検出するための定量および診断アッセイのような診断アッセイに関する。従って、例えば、正常コントロール組織サンプルと比較したB7様ポリペプチドの過剰発現を検出するための本発明に従う診断アッセイは、腫瘍の存在を検出するために使用され得る。宿主由来のサンプル中の本発明の

10

20

30

40

50

B7様ポリペプチドのようなポリペプチドのレベルを決定するために使用され得るアッセイ技術は、当業者に周知である。このようなアッセイ方法としては、ラジオイムノアッセイ、競合結合アッセイ、ウエスタンブロット分析およびELISAアッセイが挙げられる。生物学的サンプル中のB7様ポリペプチドレベルのアッセイは、任意の当該分野で公知の方法を使用して行なわれ得る。

【0504】

生物学的サンプル中のB7様ポリペプチドのアッセイは、抗体ベースの技術を使用して行なわれ得る。例えば、組織におけるB7様ポリペプチド発現は、伝統的な免疫組織学的方法を用いて研究され得る(Jalkanenら、J. Cell Biol. 101: 976-985 (1985); Jalkanen, M.ら、J. Cell Biol., 105: 3087-3096 (1987))。B7様ポリペプチド遺伝子発現を検出するために有用な他の抗体ベースの方法としては、酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)およびラジオイムノアッセイ(RIA)のようなイムノアッセイが挙げられる。適切な抗体アッセイ標識が、当該分野で公知であり、グルコースオキシダーゼのような酵素標識、およびヨウ素(^{125}I 、 ^{125}I)、炭素(^{14}C)、硫黄(^{35}S)、トリチウム(^3H)、インジウム(^{112}In)、およびテクネチウム($^{99\text{m}}\text{Tc}$)のような放射線同位体、フルオレセインおよびローダミンのような蛍光標識、ならびにビオチンが挙げられる。

10

【0505】

分析される組織および細胞型は、一般的にB7様遺伝子を発現することが公知であるかまたは疑われる組織および細胞型を含む(例えば、癌など)。本明細書中で使用されるタンパク質単離方法は、例えば、HarlowおよびLane(Harlow, E. および Lane, D., 1988, 「Antibodies: A Laboratory Manual」、Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York)(これは、本明細書中においてその全体が参考として援用される)において記載されるような方法であり得る。単離された細胞は、細胞培養由来であるかまたは患者由来であり得る。培養物から採取された細胞の分析は、細胞ベースの遺伝子治療技術の一部としてか、あるいはB7様遺伝子の発現に対する化合物の効果を試験するために使用され得る細胞の評価における必要な工程であり得る。

20

【0506】

例えば、本明細書中で記載されるような抗体、または抗体のフラグメントは、B7様遺伝子産物または保存された改変体あるいはそれらのペプチドフラグメントの存在を定量的および定性的に検出するために使用され得る。これは、例えば、光学顕微鏡、フローサイトメトリー、または蛍光定量的検出と組み合わせた蛍光性標識抗体を使用する免疫蛍光技術によって達成され得る。

30

【0507】

好ましい実施形態において、B7様ポリペプチドの推定されたエピトープドメインのいずれか1つまたは全部に対する抗体、または抗体のフラグメントは、B7様遺伝子産物または保存的な改変体あるいはそれらのペプチドフラグメントの存在を定量的または定性的に検出するために使用され得る。これは、例えば、光学顕微鏡、フローサイトメトリー、または蛍光定量的検出と組み合わせた蛍光性標識抗体を使用する免疫蛍光技術によって達成され得る。

40

【0508】

さらなる好ましい実施形態において、B7様ポリペプチドのコンフォメーションエピトープに対する抗体または抗体のフラグメントを使用して、B7様遺伝子産物またはその保存的な改変体あるいはそれらのペプチドフラグメントの存在を、定量的または定性的に検出し得る。これは、例えば、光学顕微鏡、フローサイトメトリー、または蛍光定量的検出と組み合わせた蛍光性標識抗体を使用する免疫蛍光技術によって達成され得る。

【0509】

本発明の抗体(または、それらのフラグメント)および/またはB7様ポリペプチドは、

50

さらに、B7様遺伝子産物またはその保存的改変体あるいはそれらのペプチドフラグメントのインサイチュ検出のために、組織学的（免疫蛍光アッセイ、免疫電子顕微鏡アッセイまたは非免疫学的アッセイにおけるように）に使用され得る。インサイチュ検出は、患者から組織学的標本を取り出し、そしてこの標本に対して本発明の標識した抗体またはB7様ポリペプチドを適用することによって、達成され得る。抗体（または、そのフラグメント）またはB7様ポリペプチドは、好ましくは、生物学的サンプル上に標識した抗体（またはフラグメント）を重層することによって適用され得る。このような手順の使用を介して、試験組織における、B7様遺伝子産物、あるいは保存的改変体またはペプチドフラグメントの存在、あるいはB7様ポリペプチド結合のみならず、その分布もまた決定することが可能である。本発明を使用して、当業者は、任意の広範な種々の組織学的方法（例えば、染色手順）が、このようなインサイチュ検出を達成するように改変され得ることを容易に認識する。

10

【0510】

B7様遺伝子産物またはその保存的改変体あるいはそれらのペプチドフラグメントに対する免疫アッセイおよび非免疫アッセイは、代表的に、サンプル（例えば、生物学的流体、組織抽出物、新鮮に収集した細胞、または細胞培養物中でインキュベートした細胞の溶解物）を、B7様遺伝子産物またはその保存的改変体あるいはそれらのペプチドフラグメントに結合し得る検出可能に標識した抗体の存在下でインキュベートする工程、および当該分野で周知の多くの技術のいずれかによってその結合した抗体を検出する工程、を包含する。

20

【0511】

この生物学的サンプルは、固相支持体またはキャリア（例えば、ニトロセルロース）、あるいは細胞、細胞粒子または可溶性タンパク質を固定し得る他の固体支持体との接触下に置かれ、そしてそれらの上に固定され得る。次いで、この支持体を適切な緩衝液で洗浄し、その後、検出可能に標識した抗B7様ポリペプチド抗体または検出可能なB7様ポリペプチドで処理する。次いで、この固相支持体に対して、この緩衝液での2回目の洗浄を行い、結合されなかった抗体またはポリペプチドを除去する。必要に応じて、この抗体は、その後、標識される。次いで、固体支持体上に結合された標識の量を、従来手段によって検出し得る。

【0512】

「固相支持体またはキャリア」によって、抗原または抗体を結合し得る任意の支持体が意図される。周知の支持体またはキャリアとしては、ガラス、ポリスチレン、ポリプロピレン、ポリエチレン、デキストラン、ナイロン、アミラーゼ、天然および改変セルロース、ポリアクリルアミド、斑レイ岩および磁鉄鉱が挙げられる。キャリアの性質は、本発明の目的のために幾分可溶性であるかまたは不溶性であり得る。この支持体材料は、その結合された分子が抗原または抗体に結合し得る限り、実質的に任意の可能な構造配置を有し得る。従って、支持体の構造は、球形（ビーズのような）または円柱形（試験管の内面またはロッドの外表面のような）であり得る。あるいは、その表面は、フラットであり得る（例えば、シート、試験小片など）。好ましい支持体としては、ポリスチレンビーズが挙げられる。当業者は、抗体または抗原を結合するための他の多くの適切なキャリアを認識しているか、または慣用的な実験を使用してその結合を確かめ得る。

30

40

【0513】

所定のロットの抗B7様ポリペプチド抗体またはB7様抗原ポリペプチドの結合活性は、周知の方法に従って決定され得る。当業者は、慣用的な実験を使用することによって各決定のための作動的かつ最適なアッセイ条件を決定し得る。

【0514】

個体から得られた生物学的サンプル中のB7様ポリペプチドレベルまたはポリヌクレオチドレベルをアッセイすることに加えて、B7様ポリペプチドまたはポリヌクレオチドはまた、画像化によってインピボで検出され得る。例えば、本発明の1つの実施形態において、B7様ポリペプチドおよび/または抗B7様抗原抗体を使用して、罹病細胞（例えば、

50

新生物)を画像化する。別の実施形態において、本発明のB7様ポリヌクレオチド(例えば、特定のB7様mRNA転写物の全てまたは一部に相補的なポリヌクレオチド)および/または抗B7様抗体(例えば、本発明のB7様ポリペプチドのエピトープのうちの任意の1つもしくは組み合わせに対する抗体、本発明のB7様ポリペプチドのコンフォメーションエピトープに対する抗体、または哺乳動物細胞の細胞表面上に発現される全長ポリペプチドに対する抗体)を使用して、罹病細胞または新生物細胞を画像化する。

【0515】

B7様ポリペプチドのインビボ画像化のための抗体標識またはマーカーは、X線撮影法、NMR、MRI、CATスキャンまたはESRによって検出可能なものを含む。X線撮影法について、適切な標識には、検出可能な放射線を放射するが、被験体には明白には有害ではない、バリウムまたはセシウムのような放射性同位体が含まれる。NMRおよびESRのための適切なマーカーには、関連するハイブリドーマの栄養素を標識することによって抗体中に取り込まれ得る、検出可能な特徴的なスピンを有するもの(例えば、デュウテリウム)が含まれる。インビボ画像化を使用して、ヒトにおける診断のためにB7様ポリペプチドの増強されたレベルを検出する場合、ヒト抗体または「ヒト化」キメラモノクローナル抗体を使用することが好ましい場合がある。このような抗体は、本明細書中に記載されるか、さもなければ当該分野で公知の技術を使用して産生され得る。例えば、キメラ抗体を産生する方法は、当該分野で公知である。総説については、Morrisson, Science 229:1202(1985); Oira, BioTechniques 4:214(1986); Cabillyら、米国特許第4,816,567号; Taniguchiら、EP 171496; Morrisonら、EP 173494; Neubergerら、WO 8601533; Robinsonら、WO 8702671; Boulianneら、Nature 312:643(1984); Neubergerら、Nature 314:268(1985)を参照のこと。

【0516】

さらに、その存在が検出され得る任意のB7様ポリペプチドが、投与され得る。例えば、放射線不透過性物質または他の適切な化合物で標識されたB7様ポリペプチドを、標識した抗体について上記で議論したように、インビボで投与および可視化し得る。さらに、このようなB7様ポリペプチドは、インビトロ診断手順に利用され得る。

【0517】

放射性同位体(例えば、 ^{131}I 、 ^{112}In 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$)、放射線不透過性物質、または核磁気共鳴によって検出可能な物質のような適切な検出可能な画像化部分で標識したB7様ポリペプチド特異的抗体または抗体フラグメントは、障害について検査される哺乳動物中に導入される(例えば、非経口的に、皮下に、または腹腔内に)。被験体のサイズおよび使用される画像化系が、診断画像を生成するために必要とされる画像化部分の量を決定することが当該分野において理解される。放射性同位体部分の場合、ヒト被験体について、注入される放射能の量は、通常、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ の約5~20ミリキュリーの範囲である。次いで、標識された抗体または抗体フラグメントは、B7様タンパク質を含有する細胞の位置に優先的に蓄積する。インビボ腫瘍画像化は、S.W.Burchielら、「Immunopharmacokinetics of Radiolabeled Antibodies and Their Fragments」(第13章、Tumor Imaging: The Radiochemical Detection of Cancer, S.W.BurchielおよびB.A.Rhodes編、Masson Publishing Inc.(1982))に記載されている。

【0518】

抗体に関して、抗B7様ポリペプチド抗体が検出可能に標識され得る方法の1つは、その抗体をレポーター酵素に連結し、そして酵素免疫アッセイ(EIA)においてその連結産物を使用することによる(Voller, A., 「The Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)」, 1978, Diagnostic Horizons 2:1-7, Microbiological Asso

10

20

30

40

50

ciates Quarterly Publication, Walkersville, MD); Vollerら, J. Clin. Pathol. 31: 507-520 (1978); Butler, J. E., Meth. Enzymol. 73: 482-523 (1981); Maggio, E. (編), 1980, Enzyme Immunoassay, CRC Press, Boca Raton, FL; Ishikawa, E.ら, (編), 1981, Enzyme Immunoassay, Kagaku Shoin, Tokyo)。抗体に結合されるレポーター酵素は、例えば、分光光度的手段または蛍光定量手段あるいは可視的手段によって検出され得る化学部分を生成するような様式で、適切な基質(好ましくは、色素産生基質)と反応する。抗体を検出可能に標識するために使用され得るレポーター酵素としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない: リンゴ酸デヒドロゲナーゼ、ブドウ球菌ヌクレアーゼ、 α -5-ステロイドイソメラーゼ、酵母アルコールデヒドロゲナーゼ、 α -グリセロリン酸デヒドロゲナーゼ、トリオースリン酸イソメラーゼ、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、アスパラギナーゼ、グルコースオキシダーゼ、 β -ガラクトシダーゼ、リボヌクレアーゼ、ウレアーゼ、カタラーゼ、グルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ、グルコアミラーゼおよびアセチルコリンエステラーゼ。さらに、検出は、レポーター酵素に対する色素産生基質を使用する比色方法によって達成され得る。検出はまた、同様に調製した標準と比較した、基質の酵素反応の程度の可視的比較によって達成され得る。

10

【0519】

検出はまた、種々の他の免疫アッセイのいずれかを使用して達成され得る。例えば、抗体または抗体フラグメントを放射性標識することによって、放射免疫アッセイ(RIA)(例えば、Weintraub, B., Principles of Radioimmunoassays, Seventh Training Course on Radioligand Assay Techniques, The Endocrine Society, March, 1986(これは、参考として本明細書中に援用される)を参照のこと)の使用を介してB7様ポリペプチドを検出することが可能である。放射性同位体は、カウンター、シンチレーションカウンターまたはオートラジオグラフィが挙げられるがこれらに限定されない手段によって、検出され得る。

20

【0520】

抗体を蛍光化合物で標識することもまた可能である。蛍光標識した抗体を、適切な波長の光に曝露したならば、その存在は、蛍光に起因して検出され得る。とりわけ、最も一般的に使用されている蛍光標識化合物は、フルオレセインイソチオシアネート、ローダミン、フィコエリトリン、フィコシアニン、アロフィコシアニン、*o*-フタルアルデヒド(*o*phthaldehyde)およびフルオレスカミンである。

30

【0521】

抗体はまた、蛍光放出金属(例えば、 ^{152}Eu またはランタニド系列の他の金属)を使用して、検出可能に標識され得る。これらの金属は、金属キレート基(例えば、ジエチレントリアミン五酢酸(DTPA)またはエチレンジアミン四酢酸(EDTA))を使用して抗体に付着され得る。

【0522】

抗体はまた、化学発光化合物に抗体を結合させることによって、検出可能に標識され得る。次いで、この化学発光タグ抗体の存在は、この化学反応の過程に生じる発光の存在を検出することによって決定される。特に有用な化学発光標識化合物の例は、ルミノール、イソルミノール、セロマトリック(theromatic)アクリジニウムエステル、イミダゾール、アクリジニウム塩およびシュウ酸エステルである。

40

【0523】

同様に、生物発光化合物を使用して、本発明の抗体を標識し得る。生物発光は、触媒タンパク質が化学発光反応の効率を上昇される、生物学的系において見出される化学発光の型である。生物発光タンパク質の存在は、発光の存在を検出することによって決定される。標識目的のための重要な生物発光化合物は、ルシフェリン、ルシフェラーゼおよびエクオ

50

リンである。

【0524】

(疾患を検出するための方法)

一般に、疾患は、患者から得られた生物学的サンプル(例えば、血液、血清、尿、および/もしくは腫瘍生検)中の、本発明の1以上のB7様タンパク質および/またはこのようなタンパク質をコードするポリヌクレオチドの存在に基づいて、その患者において検出され得る。言い換えると、このようなタンパク質は、疾患または障害(癌および/または本明細書中他の箇所に記載のような疾患または障害を含む)の存在または非存在を示すマーカーとして使用され得る。さらに、このようなタンパク質は、他の疾患および癌の検出に有用であり得る。本明細書中に提供される結合因子は、一般に、生物学的サンプル中のその因子に結合する抗原のレベルの検出を可能にする。ポリヌクレオチドプライマーおよびプローブを使用して、B7様ポリペプチドをコードするmRNAのレベルを検出し得、これはまた、疾患または障害(癌を含む)の存在または非存在を示す。一般に、B7様ポリペプチドは、正常な組織中よりも罹病組織中で少なくとも3倍高いレベルで存在するはずである。

10

【0525】

結合因子を使用してサンプル中のポリペプチドマーカーを検出するための、当業者に公知の種々のアッセイ形式が存在する。例えば、HarlowおよびLane、前出を参照のこと。一般に、患者中の疾患の存在または非存在は、(a)患者から得た生物学的サンプルに結合因子を接触させる工程；(b)このサンプル中の、この結合因子に結合するポリペプチドのレベルを検出する工程；および(c)ポリペプチドのレベルを所定のカットオフ値と比較する工程、によって決定され得る。

20

【0526】

好ましい実施形態において、このアッセイは、本発明のB7様ポリペプチドに結合しそして残りのサンプルのからこのポリペプチドを取り出すための、固体支持体に固定した結合因子の使用を包含する。次いで、この結合したポリペプチドは、レポーター基を含みそして結合因子/ポリペプチド複合体に特異的に結合する検出試薬を使用して、検出され得る。このような検出試薬は、例えば、このポリペプチドに特異的に結合する結合因子あるいはこの結合因子に特異的に結合する抗体または他の因子(例えば、抗免疫グロブリン、プロテインG、プロテインAまたはレクチン)を含み得る。あるいは、競合アッセイを利用し得、このアッセイでは、ポリペプチドは、レポーター基で標識され、そしてサンプルとその固定された結合因子のインキュベーション後にその結合因子に結合させる。サンプルの成分がその結合因子への標識ポリペプチドの結合を阻害する程度は、その固定された結合因子とのサンプルの反応性を示す。このようなアッセイにおける使用に適切なポリペプチドとしては、上記のように、結合因子が結合する、B7様ポリペプチドおよびその部分、あるいは抗体が挙げられる。

30

【0527】

固体支持体は、本発明のB7様ポリペプチドが付着され得る、当業者に公知の任意の物質であり得る。例えば、固体支持体は、マイクロタイタープレート中の試験ウェルあるいはニトロセルロースまたは他の適切な膜であり得る。あるいは、この支持体は、ビーズまたはディスク(例えば、ガラスファイバーガラス、ラテックスまたはプラスチック物質(例えば、ポリスチレンまたはポリ塩化ビニル))であり得る。支持体はまた、磁気粒子または光ファイバーセンサー(例えば、米国特許第5,359,681号に開示されるような)であり得る。結合因子は、当業者に公知の種々の技術(これらは、特許および科学文献に十分記載される)を使用して固体支持体に固定され得る。本発明の状況下で、用語「固定」とは、非共有結合会合(例えば、吸着)および共有結合結合(これは、因子と支持体上の官能基との間の直接連結であっても良いし、または架橋剤による連結であっても良い)の両方をいう。マイクロタイタープレート中のウェルまたは膜への吸着による固定化が、好ましい。このような場合において、吸着は、結合因子を、適切な緩衝液中で、適切な時間で固体支持体に接触させることによって達成され得る。接触時間は、温度と共に変化

40

50

するが、代表的には、約1時間と約1日との間である。一般に、プラスチックマイクロタ
イタープレート（例えば、ポリスチレンまたはポリ塩化ビニル）のウェルを、約10ng
～約10μg（好ましくは、約100ng～約1μg）の範囲の量の結合因子と接触させ
ることが、十分な量の結合因子を固定するのに十分である。

【0528】

固体支持体への結合因子の共有結合付着は、一般に、支持体を二官能性試薬と最初に反応
させることによって達成され得る。この試薬は、支持体および結合因子上の官能基（例え
ば、ヒドロキシル基またはアミノ基）の両方と反応する。例えば、結合因子は、ベンゾキ
ノンを使用してか、またはこの結合パートナー上のアミンおよび活性水素との支持体上の
アルデヒド基の縮合によって、適切なポリマーコーティングを有する支持体に共有結合的
に付着され得る（例えば、Pierce Immunotechnology Catalog and Handbook, 1991, A12 - A13を参照のこと）。

10

【0529】

（遺伝子治療方法）

本発明の別の局面は、障害、疾患および状態を処置または予防するための遺伝子治療方法
である。この遺伝子治療方法は、本発明のポリペプチドの発現を達成するための、核酸（
DNA、RNAおよびアンチセンスDNAまたはRNA）配列の動物への導入に関する。
この方法は、標的組織によるこのポリペプチドの発現のために必要なプロモーターおよび
他の任意の遺伝子エレメントと作動可能に連結した、本発明のポリペプチドをコードするポ
リヌクレオチドを必要とする。このような遺伝子治療および送達技術は当該分野において
公知である（例えば、本明細書中に参考として援用される、WO90/11092を参照
のこと）。

20

【0530】

従って、例えば、患者由来の細胞は、本発明のポリヌクレオチドと作動可能に連結したプ
ロモーターを含むポリヌクレオチド（DNAまたはRNA）を用いてエキソビボで操作さ
れ得、次いで、操作された細胞は、本発明のポリペプチドを用いて処置される患者に提供
される。このような方法は、当該分野において周知である。例えば、Belldegrun, A.ら、*J. Natl. Cancer Inst.* 85: 207 - 216 (1993)
; Ferrantini, M.ら、*Cancer Research* 53: 1107
- 1112 (1993); Ferrantini, M.ら、*J. Immunology*
153: 4604 - 4615 (1994); Kaido, T.ら、*Int. J. Canc*
er 60: 221 - 229 (1995); Ogura, H.ら、*Cancer Res*
earch 50: 5102 - 5106 (1990); Santodonato, L.ら
、*Human Gene Therapy* 7: 1 - 10 (1996); Santodo
nato, L.ら、*Gene Therapy* 4: 1246 - 1255 (1997);
およびZhang, J. - F.ら、*Cancer Gene Therapy* 3: 31
- 38 (1996)（これらは、本明細書中に参考として援用される）を参照のこと。1
つの実施形態において、操作される細胞は、動脈細胞である。この動脈細胞は、動脈、動
脈の周囲の組織への直接的な注射を介して、またはカテーテル注入を介して患者に再導入
され得る。

30

40

【0531】

以下により詳細に考察されるように、このポリヌクレオチド構築物は、注射可能な物質を
動物の細胞に送達する任意の方法（例えば、組織（心臓、筋肉、皮膚、肺、肝臓など）の
間隙空間への注射）により送達され得る。このポリヌクレオチド構築物は、薬学的に受容
可能な液体または水性のキャリア中で送達され得る。

【0532】

1つの実施形態においては、本発明のポリヌクレオチドは、裸のポリヌクレオチドとして
送達される。用語「裸の」ポリヌクレオチド、DNAまたはRNAとは、細胞への侵入を
補助し、促進し、または容易にするために作用するいかなる送達ビヒクル（ウイルス配列
、ウイルス粒子、リポソーム処方物、リポフェクチンまたは沈殿剤などを含む）も含まな

50

い配列をいう。しかし、本発明のポリヌクレオチドはまた、当業者に周知の方法により調製され得るリボソーム処方物中およびリポフェクチン処方物中などで送達され得る。このような方法は、例えば、米国特許第5,593,972号、同第5,589,466号および同第5,580,859号（これらは、本明細書中に参考として援用される）に記載される。

【0533】

遺伝子治療方法において使用されるポリヌクレオチドベクター構築物は、好ましくは、宿主ゲノム中に組み込まれないかまたは複製を可能にする配列を含まない構築物である。適切なベクターとしては、Stratageneから入手可能なpWLNEO、pSV2CAT、pOG44、pXT1およびpSG;Pharmaciaから入手可能なpSVK3、pBPV、pMSGおよびpSVL；ならびにInvitrogenから入手可能なpEF1/V5、pcDNA3.1、およびpRc/CMV2が挙げられる。他の適切なベクターは、当業者に容易に明らかである。

10

【0534】

当業者に公知の任意の強力なプロモーターは、ポリヌクレオチド配列の発現を駆動するために用いられ得る。適切なプロモーターとしては、アデノウイルスプロモーター（例えば、アデノウイルス主要後期プロモーター）；または異種プロモーター（例えば、サイトメガロウイルス（CMV）プロモーター）；RSウイルス（RSV）プロモーター；誘導性プロモーター（例えば、MMTプロモーター、メタロチオネインプロモーター）；熱ショックプロモーター；アルブミンプロモーター；ApOAIPプロモーター；ヒトグロビンプロモーター；ウイルスチミジンキナーゼプロモーター（例えば、単純ヘルペスチミジンキナーゼプロモーター）；レトロウイルスLTR；b-アクチンプロモーター；およびヒト成長ホルモンプロモーターが挙げられる。このプロモーターはまた、本発明のポリヌクレオチドについてネイティブなプロモーターであり得る。

20

【0535】

他の遺伝子治療技術とは異なり、裸の核酸配列を標的細胞に導入する1つの主要な利点は、その細胞におけるポリヌクレオチド合成の一過性の性質である。研究によって、非複製DNA配列が細胞に導入されて、6ヶ月までの期間の間、所望のポリペプチドの産生を提供し得ることが示された。

【0536】

ポリヌクレオチド構築物は、動物内の組織（筋肉、皮膚、脳、肺、肝臓、脾臓、骨髄、胸腺、心臓、リンパ、血液、骨、軟骨、膵臓、腎臓、胆嚢、胃、腸、精巣、卵巣、子宮、直腸、神経系、眼、腺、および結合組織を包含する）の間隙空間に送達され得る。この組織の間隙空間は、細胞間液、器官組織の細網線維間の、ムコ多糖マトリクス、血管または室の壁における弾性線維、線維性組織のコラーゲン線維、あるいは筋肉細胞を囲む結合組織内の同じマトリクスまたは骨の裂孔中の結合組織内の同じマトリクスを包む。これは、同様に、循環の血漿およびリンパチャンネルのリンパ液により占められた空間である。筋肉組織の間隙空間への送達は、以下で議論される理由のために好ましい。本発明のポリヌクレオチド構築物は、これらの細胞を含む組織への注射によって、好都合に送達され得る。本発明のポリヌクレオチド構築物は、好ましくは、分化した持続性の非分裂細胞に送達され、そしてその細胞において発現されるが、送達および発現は、非分化細胞または完全には分化していない細胞（例えば、血液の幹細胞または皮膚線維芽細胞）において達成され得る。インビボでの筋肉細胞は、ポリヌクレオチドを取り込み、そして発現する能力において、特に適格である。

30

40

【0537】

裸の核酸配列の注射のために、DNAまたはRNAの有効投薬量は、約0.05mg/kg体重から約50mg/kg体重の範囲にある。好ましくは、この投薬量は、約0.005mg/kgから約20mg/kgであり、そしてより好ましくは約0.05mg/kgから約5mg/kgである。もちろん、当業者が認識するように、この投薬量は、注射の組織部位に応じて変化する。核酸配列の適切かつ有効な投薬量は、当業者によって容易に

50

決定され得、そして処置される状態および投与経路に依存し得る。

【0538】

好ましい投与経路は、組織の間隙空間への非経口注射経路による。しかし、他の非経口経路もまた使用され得、これには、例えば、特に、肺または気管支の組織、咽喉または鼻の粘膜への送達のためのエアゾール処方物の吸入が挙げられる。さらに、裸のDNA構築物が、血管形成術の間にこの手順において用いられるカテーテルによって動脈に送達され得る。

【0539】

裸のポリヌクレオチドは、送達部位での直接の針注射、静脈内注射、局所投与、カテーテル注入、およびいわゆる「遺伝子銃」を含むがこれらに限定されない、当該分野で公知の任意の方法によって送達される。これらの送達方法は、当該分野で公知である。

10

【0540】

この構築物はまた、ウイルス配列、ウイルス粒子、リポソーム処方物、リポフェクチン、沈殿剤などのような送達ビヒクルを用いて送達され得る。このような送達方法は、当該分野で公知である。

【0541】

特定の実施形態において、ポリヌクレオチド構築物は、リポソーム調製物中で複合体化している。本発明にて使用するためのリポソーム調製物は、カチオン性（正に荷電した）、アニオン性（負に荷電した）および中性の調製物を包含する。しかしながら、カチオン性リポソームとポリアニオン性核酸との間で強固な電荷複合体を形成し得るので、カチオン性リポソームが特に好ましい。カチオン性リポソームは、機能的形態において、プラスミドDNA（本明細書中で参考として援用される、Felgnerら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1987) 84: 7413~7416）；mRNA（本明細書中で参考として援用される、Maloneら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1989) 86: 6077~6081）；および精製された転写因子（本明細書中で参考として援用される、Debsら、J. Biol. Chem. (1990) 265: 10189~10192）の細胞内送達を媒介することが示されている。

20

【0542】

カチオン性リポソームは容易に入手可能である。例えば、N[1-2, 3-ジオレイルオキシ)プロピル]-N, N, N-トリエチルアンモニウム(DOTMA)リポソームは特に有用であり、そして商標LipofectinのもとにGIBCO BRL, Grand Island, N.Y.（本明細書中で参考として援用される、Felgnerら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1987) 84: 7413~7416をもまた参照のこと、）より入手可能である。他の市販のリポソームとしては、トランスフェクテース(transfectace)(DDAB/DOPE)およびDOTAP/DOPE(Boehringer)が挙げられる。

30

【0543】

当該分野で周知の技術を使用して、他のカチオン性リポソームを、容易に入手可能な物質より調製し得る。DOTAP(1, 2-ビス(オレオイルオキシ)-3-(トリメチルアンモニオ)プロパン)リポソームの合成の記述に関して、例えばPCT公開番号WO90/11092（本明細書中で参考として援用される）を参照のこと。DOTMAリポソームの調製は文献にて説明されており、例えば、本明細書中で参考として援用される、P. Felgnerら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、84: 7413~7417を参照のこと。類似した方法を使用して、他のカチオン性脂質物質よりリポソームを調製し得る。

40

【0544】

同様に、アニオン性リポソームおよび中性リポソームは、例えば、Avanti Polar Lipids(Birmingham, Ala.)から容易に入手可能であり、または容易に入手可能な物質を使用して簡単に調製され得る。そのような物質としてはとりわけ、ホスファチジルコリン、コレステロール、ホスファチジルエタノールアミン、ジオ

50

レオイルホスファチジルコリン (DOPC)、ジオレオイルホスファチジルグリセロール (DOPG)、ジオレオイルホスファチジルエタノールアミン (DOPE) が挙げられる。これらの物質はまた、DOTMA 出発物質および DOTAP 出発物質と適切な割合において混合され得る。これらの物質を使用してリポソームを生成する方法は、当該分野で周知である。

【0545】

例えば、商業的に、ジオレオイルホスファチジルコリン (DOPC)、ジオレオイルホスファチジルグリセロール (DOPG)、およびジオレオイルホスファチジルエタノールアミン (DOPE) を種々の組み合わせにおいて使用し、コレステロールを添加しても添加しなくても、従来のリポソームを生成し得る。従って、例えば、超音波処理バイアル中への窒素ガス流下で、各 50 mg の DOPG および DOPC を乾燥することにより、DOPG / DOPC 小胞を調製し得る。このサンプルを一晩真空ポンプ下に置き、そして次の日、脱イオン水で水和する。次いで、浴を 15 EC で循環させながら、逆位カップ (浴タイプ) プローブを装備した Heat Systems モデル 350 超音波処理器を最大設定で使用して、このサンプルを栓をしたバイアル中にて 2 時間超音波処理する。あるいは、負に荷電した小胞を、超音波処理なしで調製して多重膜小胞を生成し得るか、または核孔膜 (nucleopore membrane) を通して押し出すことにより別々の大きさの単膜小胞を生成し得る。他の方法は、当業者に公知でありそして利用可能である。

10

【0546】

このリポソームとしては、多重膜小胞 (MLV)、小さな単膜小胞 (SUV) または大きな単膜小胞 (LUV) が挙げられ得、SUV が好ましい。当該分野で周知の方法を使用して、種々のリポソーム-核酸複合体が調製される。例えば、本明細書中で参考として援用される、Straubingerら、Methods of Immunology (1983)、101:512~527 を参照のこと。例えば、核酸を含有する MLV は、ガラスチューブの壁面にリン脂質の薄膜を堆積させ、そしてその後、カプセル化されるべき物質の溶液で水和することによって調製され得る。SUV は MLV の長期超音波処理により調製され、単膜リポソームの均質集団を生成する。封入されるべき物質を、予め形成された MLV の懸濁液に添加し、次いで、超音波処理する。カチオン性脂質を含むリポソームを使用する場合、乾燥した脂質膜を、滅菌水または 10 mM Tris / NaCl のような等張性緩衝溶液のような適切な溶液中に再懸濁し、超音波処理し、次いで、予め形成されたリポソームを DNA と直接混合する。正に荷電したリポソームのカチオン性 DNA への結合に起因して、リポソームおよび DNA は非常に安定な複合体を形成する。SUV は、小核酸フラグメントを用いての用途を見出す。LUV は、当該分野で周知の多くの方法により調製される。一般に使用される方法としては、Ca²⁺ - EDTA キレート化 (Papahadjopoulosら、Biochim. Biophys. Acta (1975) 394:483; Wilsonら、Cell (1979) 17:77); エーテル注入 (Deamer, D. および Bangham, A., Biochim. Biophys. Acta (1976) 443:629; Ostroら、Biochem. Biophys. Res. Commun. (1977) 76:836; Fraleyら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1979) 76:3348); 界面活性剤透析 (Enoch, H. および Strittmatter, P., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1979) 76:145); および逆相エバポレーション (REV) (Fraleyら、J. Biol. Chem. (1980) 255:10431; Szoka, F. および Papahadjopoulos, D., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1978) 75:145; Schaefer-Ridderら、Science (1982) 215:166) が挙げられ、これらの文献は本明細書中で参考として援用される。

20

30

40

【0547】

一般に、DNA のリポソームに対する割合は約 10 : 1 から約 1 : 10 までである。好ましくは、その割合 (ratio) は約 5 : 1 から約 1 : 5 までである。より好ましくは

50

、その割合は約 3 : 1 から約 1 : 3 までである。さらにより好ましくは、その割合は約 1 : 1 である。

【0548】

米国特許第 5, 676, 954 号(本明細書中で参考として援用される)はカチオン性リポソームキャリアと複合体化された遺伝物質の Maus への注入について報告する。米国特許第 4, 897, 355 号、同第 4, 946, 787 号、同第 5, 049, 386 号、同第 5, 459, 127 号、同第 5, 589, 466 号、同第 5, 693, 622 号、同第 5, 580, 859 号、同第 5, 703, 055 号および国際公開第 WO 94 / 9469 号(これらは本明細書中で参考として援用される)は、DNA を細胞および哺乳動物にトランスフェクトする際に使用するためのカチオン性脂質を提供する。米国特許第 5, 589, 466 号、同第 5, 693, 622 号、同第 5, 580, 859 号、同第 5, 703, 055 号および国際公開第 WO 94 / 9469 号(これらは本明細書中で参考として援用される)は、DNA - カチオン性脂質複合体を哺乳動物に送達する方法を提供する。

10

【0549】

特定の実施形態において、本発明のポリペプチドをコードする配列を含む RNA を含むレトロウイルス粒子を使用して、エキソビボまたはインビボで細胞を操作する。レトロウイルスプラスミドベクターが由来し得るレトロウイルスとしては、モロニー Maus 白血病ウイルス、脾臓壊死ウイルス、ラウス肉腫ウイルス、ハーベイ肉腫ウイルス、ニワトリ白血病ウイルス、テナガザル白血病ウイルス、ヒト免疫不全ウイルス、骨髄増殖性肉腫ウイルス、および乳癌ウイルスが挙げられるが、これらに限定されない。

20

【0550】

このレトロウイルスプラスミドベクターを使用して、パッケージング細胞株を形質導入し、プロデューサー細胞株を形成する。トランスフェクトされ得るパッケージング細胞の例としては、その全体が本明細書中で参考として援用される、Miller, Human Gene Therapy, 1: 5 ~ 14 (1990) にて記載されるような PE501、PA317、R-2、R-AM、PA12、T19-14X、VT-19-17-H2、RCRE、RCRIP、GP+E-86、GP+envAm12 および DAN 細胞株が挙げられるが、これらに限定されない。このベクターは、当該分野で公知の任意の手段により、パッケージング細胞を形質導入し得る。そのような手段としては、エレクトロポレーション、リポソームの使用、および CaPO₄ 沈殿が挙げられるが、それらに限定されない。1つの代替法において、このレトロウイルスプラスミドベクターをリポソームにカプセル化し得るか、または脂質に結合し得て、次いで宿主に投与し得る。

30

【0551】

このプロデューサー細胞株は、本発明のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む感染性レトロウイルスベクター粒子を産生する。次いで、そのようなレトロウイルスベクター粒子を使用して、インビトロまたはインビボのどちらかで、真核生物細胞を形質導入し得る。この形質導入された真核生物細胞は、本発明のポリペプチドを発現する。

【0552】

特定の他の実施形態において、アデノウイルスベクター中に含まれるポリヌクレオチドを用いて、エキソビボまたはインビボで細胞を操作する。アデノウイルスは、それが本発明のポリペプチドをコードし、そして発現し、それと同時に正常の溶菌性ウイルス生活環にて複製するその能力に関して不活性化されるように操作され得る。アデノウイルス発現は、そのウイルス DNA の宿主細胞染色体への組み込み無しに達成され、その結果、挿入性変異誘発についての心配が軽減される。さらに、アデノウイルスは、何年もの間、腸の生ワクチンとして優れた安全側面を伴って使用されている (Schwartz, A. R. ら (1974), Am. Rev. Respir. Dis. 109: 233-238)。最終的に、アデノウイルス媒介性遺伝子移入が、コトナットの肺への - 1 - アンチトリプシンおよび CFTF の移入を含む多くの例において実証されている (Rosenfeld, M. A. ら (1991) Science, 252: 431~434; Rosenfeld ら (1992) Cell, 68: 143~155)。さらに、ヒト癌における原因物質

40

50

としてアデノウイルスを確立しようとする広範な研究は、一様に否定的であった (Green, M. ら (1979) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 76: 6606)。

【0553】

本発明において有用である適切なアデノウイルスベクターが、例えば、Kozarsky および Wilson, Curr. Opin. Genet. Devel. 3: 499~503 (1993); Rosenfeld ら、Cell 68: 143~155 (1992); Engelhardt ら、Human Genet. Ther. 4: 759~769 (1993); Yang ら、Nature Genet. 7: 362~369 (1994); Wilson ら、Nature 365: 691~692 (1993); および米国特許第 5,652,224 号 (これらは本明細書中で参考として援用される) に記載されている。例えば、アデノウイルスベクター Ad2 が有用であり、そしてヒト 293 細胞にて増殖され得る。これらの細胞は、アデノウイルスの E1 領域を含み、そして E1a および E1b を構成的に発現し、このことは、このベクターから欠失している遺伝子の産物を提供することによって欠損アデノウイルスを補完する。Ad2 に加えて、他の多様なアデノウイルス (例えば、Ad3、Ad5、および Ad7) もまた、本発明において有用である。

10

【0554】

好ましくは、本発明において使用されるアデノウイルスは、複製欠損性である。複製欠損アデノウイルスは、感染性粒子を形成するために、ヘルパーウイルスおよび/またはパッケージング細胞株の助けを必要とする。得られたウイルスは、細胞に感染する能力があり、そしてプロモーターに作動可能に連結された目的のポリヌクレオチドを発現し得るが、ほとんどの細胞にて複製し得ない。複製欠損アデノウイルスは、以下の遺伝子の全てまたは一部のうちの 1 つ以上にて欠失され得る: E1a、E1b、E3、E4、E2a または L1~L5。

20

【0555】

特定の他の実施形態において、アデノ随伴ウイルス (AAV) を使用して、エキソビボまたはインビボでこの細胞を操作する。AAV は、感染性粒子を生成するためにヘルパーウイルスを必要とする、天然に存在する欠損ウイルスである (Muzyczka, N., Curr. Topics in Microbiol. Immunol. 158: 97 (1992))。AAV はまた、非分裂細胞の中にその DNA を組み込み得る数少ないウイルスの中の 1 つである。300 塩基対程度の小さい AAV を含むベクターがパッケージされ得、そして組み込み得るが、外来性 DNA のためのスペースは約 4.5 kb に限られる。そのような AAV の生成および使用の方法は当該分野で公知である。例えば、米国特許第 5,139,941 号、同第 5,173,414 号、同第 5,354,678 号、同第 5,436,146 号、同第 5,474,935 号、同第 5,478,745 号および同第 5,589,377 号を参照のこと。

30

【0556】

例えば、本発明において使用するために適切な AAV ベクターは、DNA 複製、キャプシド形成、および宿主細胞組み込みに必要な配列すべてを含む。Sambrook ら、Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press (1989) において見い出される方法のような、標準的クローニング方法を使用して、ポリヌクレオチド構築物を、この AAV ベクターに挿入する。次いで、リポフェクション、エレクトロポレーション、リン酸カルシウム沈殿などを含む、任意の標準的技術を使用して、この組換え AAV ベクターを、ヘルパーウイルスに感染しているパッケージング細胞にトランスフェクトする。適切なヘルパーウイルスとしては、アデノウイルス、サイトメガロウイルス、ワクシニアウイルス、またはヘルペスウイルスが挙げられる。一旦パッケージング細胞がトランスフェクトおよび感染されると、それらはそのポリヌクレオチド構築物を含む感染性 AAV ウイルス粒子を生成する。次いで、エキソビボまたはインビボのいずれかで、これらのウイルス粒子を使用

40

50

して真核生物細胞を形質導入する。この形質導入細胞は、そのゲノムに組み込まれたポリヌクレオチド構築物を含み、そして本発明のポリペプチドを発現する。

【0557】

遺伝子治療の別の方法は、相同組換えを介して、異種制御領域および内在性ポリヌクレオチド配列（例えば、本発明のポリペプチドをコードしている配列）を作動可能に連結する工程を含む（例えば、米国特許第5,641,670号、1997年6月24日発行；国際公開第WO96/29411号、1996年9月26日公開；国際公開第WO94/12650号、1994年8月4日公開；Kollerら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:8932~8935(1989)；およびZijlstraら、Nature 342:435~438(1989)を参照のこと）。この方法は、標的細胞中に存在しているが、通常はその細胞中で発現しないかまたは所望するよりも低いレベルで発現する、遺伝子の活性化を含む。

10

【0558】

当該分野で既知の標準的技術を使用して、ポリヌクレオチド構築物を作製する。この構築物は、プロモーターを、そのプロモーターに隣接した標的化配列とともに含む。適切なプロモーターが、本明細書中に記載されている。標的化配列は、プロモーター-標的化配列と内在性配列との相同組換えを可能にするに十分にその内在性配列に対して相補的である。標的化配列は、所望される内在性ポリヌクレオチド配列の5'末端の十分近くに存在し、それゆえ、相同組換えに際して、そのプロモーターは、その内在性配列に作動可能に連結される。

20

【0559】

このプロモーターおよび標的化配列は、PCRを使用して増幅され得る。好ましくは、この増幅されたプロモーターは、5'末端および3'末端に別の制限酵素部位を含む。好ましくは、第1の標的化配列の3'末端は、増幅されたプロモーターの5'末端と同じ制限酵素部位を含み、そして第2の標的化配列の5'末端は、増幅されたプロモーターの3'末端と同じ制限部位を含む。増幅されたプロモーターおよび標的化配列は消化され、そしてともに連結される。

【0560】

裸のポリヌクレオチドとしてか、もしくは上記により詳細に記載されるようなリポソーム、ウイルス配列、ウイルス粒子、ウイルス全体、リポフェクション、沈殿剤などのようなトランスフェクション促進剤と一緒にかのいずれかで、このプロモーター-標的化配列構築物は細胞に送達される。直接針注射、静脈内注射、局所投与、カテーテル注入、粒子加速器などを含む任意の方法により、Pプロモーター-標的化配列が送達され得る。この方法は、下記により詳細に記載される。

30

【0561】

プロモーター-標的化配列構築物は、細胞により取り込まれる。この構築物と内在性配列との間に相同組換えが起こり、その結果、内在性配列は、このプロモーターの制御下に配置される。次いで、このプロモーターは、内在性配列の発現を駆動する。

【0562】

好ましくは、本発明のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドは、そのタンパク質の分泌を促進する分泌シグナル配列を含む。代表的に、このシグナル配列は、コード領域の5'末端に向かってかまたは5'末端で発現される、そのポリヌクレオチドのコード領域に位置する。このシグナル配列は、目的のポリヌクレオチドに対して同種であってもよいしまたは異種であってもよく、そしてトランスフェクトされる細胞に対して同種であってもよいしまたは異種であってもよい。さらに、当該分野で公知の方法を使用して、このシグナル配列は化学合成され得る。

40

【0563】

その投与形態によって、治療効果を提供するのに十分な量にて1つ以上の分子が発現される限り、上記のポリヌクレオチド構築物のうちのいずれかの任意の投与形態が使用され得る。これは、直接針注射、全身性注射、カテーテル注入、バイオリスティック(biol

50

i s t i c) 注射器、粒子加速器 (すなわち、「遺伝子銃」)、ゲルフォームスポンジデポ (d e p o t)、他の市販デポ (d e p o t) 物質、浸透圧ポンプ (例えば、A l z a ミニポンプ)、経口用または坐剤用の固形 (錠剤または丸剤) 薬学的処方物、および手術中のデカンティング (d e c a n t i n g) または局所適用を含む。例えば、ラット肝臓およびラット脾臓へのリン酸カルシウム沈澱した裸のプラスミドの直接注射、または門脈へのタンパク質被覆プラスミドの直接注射は、ラット肝臓における外来遺伝子の遺伝子発現をもたらした (K a n e d a ら、S c i e n c e 2 4 3 : 3 7 5 (1 9 8 9))

【 0 5 6 4 】

局所投与の好ましい方法は、直接注射によるものである。好ましくは、送達ビヒクルと複合体を形成した本発明の組換え分子は、動脈領域内部に直接注射により投与されるか、または動脈領域内部に局所投与される。動脈領域内部での組成物の局所投与とは、その組成物を動脈内に数センチメートル、好ましくは数ミリメートルで注射することを言う。

10

【 0 5 6 5 】

局所投与の別の方法は、本発明のポリヌクレオチド構築物を外科的創傷中または外科的創傷の周囲に接触させることである。例えば、患者は手術を経験し得、そしてこのポリヌクレオチド構築物はその創傷の内側の組織の表面上にコーティングされ得るか、またはこの構築物が、その創傷の内側の組織の領域に注入され得る。

【 0 5 6 6 】

全身投与に有用な治療組成物は、本発明の標的化された送達ビヒクルと複合体を形成した本発明の組換え分子を含む。全身投与で使用するために適切な送達ビヒクルは、特定部位に対してそのビヒクルを標的化するリガンドを含むリポソームを含む。

20

【 0 5 6 7 】

全身投与の好ましい方法としては、静脈内注射、エアゾール、経口および経皮 (局所的) 送達が挙げられる。当該分野で標準的な方法を使用して、静脈内注射が実行され得る。当該分野で標準的な方法を使用して、エアゾール送達もまた実行され得る (例えば、本明細書中で参考として援用される、S t r i b l i n g ら、P r o c . N a t l . A c a d . S c i . U S A 1 8 9 : 1 1 2 7 7 ~ 1 1 2 8 1 (1 9 9 2) を参照のこと)。動物の腸内の消化酵素による分解に耐える能力をもつキャリアに対して本発明のポリヌクレオチド構築物を複合体形成することにより、経口送達は実行され得る。そのようなキャリアの例としては、当該分野で公知であるもののような、プラスチックカプセルまたは錠剤が挙げられる。皮膚内へ通過可能な親油性試薬 (例えば、D M S O) と本発明のポリヌクレオチド構築物を混合することによって、局所的送達は実行され得る。

30

【 0 5 6 8 】

送達される物質の有効量を決定することは、例えば、その物質の化学構造および生物学的活性、動物の年齢および体重、処置を必要とする正確な状態およびその重症度、ならびに投与経路を含む、多数の因子に依存し得る。処置の頻度は、1用量あたりの投与されるポリヌクレオチド構築物の量ならびに被験体の健康および病歴のような、多くの因子に依存する。正確な量、投薬回数および投薬のタイミングは、主治医または主治獣医により決定される。

40

【 0 5 6 9 】

本発明の治療的組成物は、任意の動物に、好ましくは哺乳動物および鳥類に投与され得る。好ましい哺乳動物としては、ヒト、イヌ、ネコ、マウス、ラット、ウサギ、ヒツジ、ウシ、ウマおよびブタが挙げられ、特にヒトが好ましい。

【 0 5 7 0 】

(生物学的活性)

本発明のポリヌクレオチドもしくはポリペプチドまたはアゴニストもしくはアンタゴニストをアッセイに使用し、1つ以上の生物学的活性について試験し得る。本発明のこれらのポリヌクレオチドもしくはポリペプチドまたはアゴニストもしくはアンタゴニストが、特定のアッセイにおいて活性を示す場合、これらの分子はその生物学的活性に関連した疾患

50

に關与し得るようである。従って、このポリヌクレオチドおよびポリペプチドならびにアゴニストまたはアンタゴニストは、この關連した疾患を処置するために使用され得る。

【0571】

B7様タンパク質ファミリーのメンバーは、T細胞活性化、サイトカイン産生、T細胞増殖、ならびに免疫系障害および炎症性障害に關連する生物学的活性に關与すると考えられる。従って、本發明の組成物（本發明のポリヌクレオチド、ポリペプチドおよび抗体、ならびにそれらのフラグメントおよび改変体を含む）は、異常なB7様活性に關連する疾患および/または障害の診断、検出および/または処置において使用され得る。

【0572】

好ましい実施形態において、本發明の組成物（本發明のポリヌクレオチド、ポリペプチドおよび抗体、ならびにそれらのフラグメントおよび改変体を含む）は、一般に免疫系、ならびに特にT細胞活性化（例えば、サイトカイン産生、炎症、T細胞増殖およびT細胞増殖障害、ならびに/または以下の「免疫活性」、「過剰増殖障害」、および「細胞レベルでの疾患」で記載されるようなもの）に關連する疾患および/または障害の診断、検出および/または処置において使用され得る。従って、本發明のポリヌクレオチド、翻訳産物および抗体は、T細胞活性化、サイトカイン産生、T細胞増殖、T細胞増殖障害、炎症、ならびに免疫系障害を含むがこれらに限定されない活性に關連する疾患および/または障害の診断、検出および/または処置において有用である。

10

【0573】

特定の実施形態において、本發明のポリペプチド、あるいはそのポリペプチドに対応するポリヌクレオチド、抗体、アゴニスト、もしくはアンタゴニストを使用して、本發明のポリペプチドが発現される組織（「本發明のポリヌクレオチドおよびポリペプチド」において開示される組織、ならびに/または表10、第2列（ライブラリーコード）において開示される1、2、3、4、5もしくはそれより多くの組織を含む）に關連する疾患および/または障害を診断および/または予後判定し得る。

20

【0574】

従って、本發明のポリヌクレオチド、翻訳産物および抗体は、HIV誘導性痴呆、不整脈、高血圧、筋収縮の機能不全、ペースメーカーの機能不全、適切な神経伝達物質放出の障害、てんかん、発作、および/またはホルモン分泌障害を含むがこれらに限定されない活性に關連する疾患および/または障害の診断、検出および/または処置において有用である。

30

【0575】

より一般に、この遺伝子に対応するポリヌクレオチド、翻訳産物および抗体は、以下の系に關連する疾患および/または障害の診断、検出および/または処置に有用であり得る。

【0576】

（免疫活性）

本發明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、例えば、免疫細胞の増殖、分化もしくは動員（走化性）を活性化または阻害することによる、免疫系の疾患、障害および/または状態の処置、予防、診断および/または予後診断において有用であり得る。免疫細胞は、造血と呼ばれるプロセスを介して発達し、多能性幹細胞から骨髓性細胞（血小板、赤血球、好中球およびマクロファージ）およびリンパ系細胞（Bリンパ球およびTリンパ球）を生成する。これらの免疫疾患、免疫障害および/または免疫状態の病因は、遺伝的、体細胞的（somatic）（例えば、癌およびいくつかの自己免疫性疾患）、後天的（例えば、化学療法もしくは毒素による）または感染的であり得る。さらに、本發明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、特定の免疫系の疾患または障害のマーカまたは検出物質（detector）として使用され得る。

40

【0577】

別の実施形態において、本發明のポリペプチド、あるいはそのポリペプチドに対応するポリヌクレオチド、抗体、アゴニストまたはアンタゴニストは、免疫系の疾患および障害を

50

処置するため、ならびに／または本発明のポリペプチドが発現される組織（表10、第2列（ライブラリーコード）に開示される1、2、3、4、5またはそれより多くの組織を含む）に関連する細胞によって生じた免疫応答を阻害もしくは増強するために使用される。

【0578】

本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体および／またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、免疫不全症（先天性または後天性の免疫不全症の両方を含む）の処置、予防、診断および／または予後診断に有用であり得る。免疫グロブリンレベル、B細胞機能および／またはB細胞数が減少するB細胞免疫不全症の例としては、以下が挙げられる：
 X連鎖無ガンマグロブリン血症（ブルートン病）、X連鎖小児性無ガンマグロブリン血症、過剰IgMを伴うX連鎖免疫不全症、過剰IgMを伴う非X連鎖免疫不全症、X連鎖リンパ球増殖症候群（XLP）、無ガンマグロブリン血症（先天性および後天性の無ガンマグロブリン血症を含む）、成人発症無ガンマグロブリン血症、後期発症無ガンマグロブリン血症、異常ガンマグロブリン血症、低ガンマグロブリン血症、不特定（*unspecific*）低ガンマグロブリン血症、劣性無ガンマグロブリン血症（スイス型）、選択的IgM欠損症、選択的IgA欠損症、選択的IgGサブクラス欠損症、IgGサブクラス欠損症（IgA欠損症を伴うかまたは伴わない）、Ig欠損症（IgMの増加を伴う）、IgGおよびIgA欠損症（IgMの増加を伴う）、正常なIgまたはIgの上昇を伴う抗体欠損症、Ig重鎖欠乏、鎖欠損症、B細胞リンパ球増殖障害（BLPD）、分類不能型免疫不全（CVID）、分類不能型免疫不全（CVI）（後天性）、および一過性乳児低ガンマグロブリン血症。

10

20

【0579】

特定の実施形態において、毛細血管拡張性運動失調または毛細血管拡張性運動失調に関連する状態が、本発明のポリペプチドもしくはポリヌクレオチド、および／またはそれらのアゴニストもしくはアンタゴニストを使用して、処置、予防、診断および／または予後診断され得る。

【0580】

T細胞および／またはB細胞の機能および／または数が減少する先天性の免疫不全の例としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：ディ・ジョージ異常、重症複合型免疫不全（SCID）（X連鎖SCID、常染色体劣性SCID、アデノシンデアミナーゼ欠損症、プリンヌクレオシドホスホリラーゼ（PNP）欠損症、クラスII MHC欠損症（不全リンパ球症候群）、ヴィスコット-オールドリッチ症候群、および毛細血管拡張性運動失調を含むが、これらに限定されない）、胸腺発育不全、3次および4次咽頭嚢症候群、22q11.2欠損、慢性粘膜皮膚カンジダ症、ナチュラルキラー細胞欠損症（NK）、特異性CD4+Tリンパ球減少症、優性T細胞欠損を伴う免疫不全症（不特定）、および細胞媒介免疫の不特定免疫不全。

30

【0581】

特定の実施形態において、ディ・ジョージ異常またはディ・ジョージ異常に関連する状態が、本発明のポリペプチドもしくはポリヌクレオチド、またはそのアゴニストもしくはアンタゴニストを使用して、処置、予防、診断および／または予後診断され得る。

40

【0582】

本発明のポリペプチドまたはポリヌクレオチドおよび／またはそれらのアゴニストもしくはアンタゴニストを使用して処置、予防、診断および／または予後診断され得る、他の免疫不全としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：慢性肉芽腫症、チェディアック-東症候群、ミエロペルオキシダーゼ欠損症、白血球グルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ欠損症、X連鎖リンパ球増殖症候群（XLP）、リンパ球接着欠損症、補体成分欠損症（C1、C2、C3、C4、C5、C6、C7、C8および／またはC9の欠損症を含む）、網膜発育不全、胸腺リンパ形成不全、胸腺腫を伴う免疫欠損、重篤な先天性白血球減少症、免疫不全症を伴う形成異常、新生児好中球減少症、短肢小人症、およびネゼロフ症候群と組み合わさったIgについての免疫不全。

50

【0583】

好ましい実施形態において、これらの免疫不全および/または上記の免疫不全に関連する状態は、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体および/またはそれらのアゴニストもしくはアンタゴニストを使用して処置、予防、診断および/または予後診断され得る。

【0584】

好ましい実施形態において、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、免疫不全個体で免疫応答性をブーストするための薬剤として使用され得る。特定の実施形態において、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、B細胞および/またはT細胞が免疫不全の個体で免疫応答性をブーストするための薬剤として使用され得る。

10

【0585】

本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、自己免疫障害の処置、予防、診断および/または予後診断において有用であり得る。多くの自己免疫障害は、免疫細胞によって自己物質を外來物質として不適切に認識されることによって生じる。この不適切な認識は、宿主組織の破壊を誘導する免疫応答を生じる。従って、免疫応答(特に、T細胞の増殖、分化または走化性)を阻害し得る本発明のポリヌクレオチドおよびポリペプチドの投与は、自己免疫障害の予防における効果的な治療であり得る。

20

【0586】

本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストによって処置、予防、診断および/または予後診断され得る自己免疫疾患または障害としては、以下の1以上が挙げられるが、これらに限定されない: 全身性エリテマトーデス、慢性関節リウマチ、強直性脊椎炎、多発性硬化症、自己免疫性甲状腺炎、橋本甲状腺病、自己免疫溶血性貧血、溶血性貧血、血小板減少症、自己免疫血小板減少性紫斑病、自己免疫新生児血小板減少症、特発性血小板減少性紫斑病、紫斑病(例えば、ヘーノホ-シェーンライン紫斑病)、自己免疫性血球減少症、グッドパスチャー症候群、尋常性天疱瘡、重症筋無力症、グレーブス病(甲状腺機能亢進症)、およびインスリン耐性糖尿病。

30

【0587】

本発明の組成物で処置、予防および/または診断され得る自己免疫成分を有するであろうさらなる障害としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない: II型コラーゲン誘導性関節炎、抗リン脂質症候群、皮膚炎、アレルギー性脳脊髄炎、心筋炎、再発性多発性軟骨炎、リウマチ性心疾患、神経炎、ブドウ膜炎眼炎、多発性内分泌腺症、ライター病、スティッフマン症候群、自己免疫肺炎、自閉症、ギヤン-バレー症候群、インスリン依存性糖尿病、および自己免疫炎症性眼障害。

【0588】

本発明の組成物で処置、予防、診断および/または予後診断され得る自己免疫成分を有するであろうさらなる障害としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない: 抗コラーゲン抗体を伴う強皮症(例えば、核小体抗体および他の核抗体によってしばしば特徴付けられる)、混合結合組織病(例えば、抽出性核抗原(例えば、リボ核タンパク質)に対する抗体によってしばしば特徴付けられる)、多発性筋炎(例えば、非ヒストンANNAによってしばしば特徴付けられる)、悪性貧血(例えば、抗壁細胞、ミクロソーム、および内因子抗体によってしばしば特徴付けられる)、特発性アジソン病(例えば、体液性および細胞媒介性の副腎細胞傷害性によってしばしば特徴付けられる)、不妊症(例えば、抗精子抗体によってしばしば特徴付けられる)、糸球体腎炎(例えば、糸球体基底膜抗体または免疫複合体によってしばしば特徴付けられる)、水疱性類天疱瘡(例えば、基底膜におけるIgGおよび補体によってしばしば特徴付けられる)、シューグレン症候群(例えば、多組織抗体および/または特定の非ヒストンANNA(SS-B)によってしばしば特

40

50

徴付けられる)、糖尿病(例えば、細胞媒介性および体液性の島細胞抗体によってしばしば特徴付けられる)、およびアドレナリン作用性薬物耐性(ぜん息または嚢胞性線維症を伴うアドレナリン作用性薬物耐性を含む)(例えば、アドレナリン作用性レセプター抗体によってしばしば特徴付けられる)。

【0589】

本発明の組成物で処置、予防、診断および/または予後診断され得る自己免疫成分を有し得るさらなる障害としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない:慢性活動性肝炎(例えば、平滑筋抗体によってしばしば特徴付けられる)、原発性胆汁性肝硬変(例えば、ミトコンドリア抗体によってしばしば特徴付けられる)、他の内分泌腺不全(例えば、いくつかの場合における特異的組織抗体によってしばしば特徴付けられる)、白斑(例えば、メラノサイト抗体によってしばしば特徴付けられる)、脈管炎(例えば、血管壁におけるIgおよび補体ならびに/または低い血清補体によってしばしば特徴付けられる)、MI後(例えば、心筋抗体によってしばしば特徴付けられる)、心臓切開症候群(例えば、心筋抗体によってしばしば特徴付けられる)、じんま疹(例えば、IgEに対するIgGおよびIgM抗体によってしばしば特徴付けられる)、アトピー性皮膚炎(例えば、IgEに対するIgG抗体およびIgM抗体によってしばしば特徴付けられる)、ぜん息(例えば、IgEに対するIgG抗体およびIgM抗体によってしばしば特徴付けられる)、ならびに多くの他の炎症性、肉芽腫性、変性性および萎縮性障害。

10

【0590】

好ましい実施形態において、これらの自己免疫性の疾患および障害ならびに/または上記のこれらの疾患および障害に関連する状態は、例えば、本発明のアンタゴニストもしくはアゴニスト、ポリペプチドもしくはポリヌクレオチド、または抗体を使用して、処置、予防、診断および/または予後診断される。特定の好ましい実施形態において、慢性関節リウマチは、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストを使用して、処置、予防および/または診断される。

20

【0591】

別の特定の好ましい実施形態において、全身性エリテマトーデスは、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストを用いて処置、予防および/または診断される。別の特定の好ましい実施形態において、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストを用いて、特発性血小板減少性紫斑病が処置、予防および/または診断される。

30

【0592】

別の特定の好ましい実施形態において、IgAネフロパシーは、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストを用いて、処置、予防、および/または診断される。

【0593】

好ましい実施形態において、自己免疫疾患および自己免疫障害ならびに/または上記の疾患および障害と関連する状態は、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストを用いて、処置、予防、診断および/または予後判定がなされる。

40

【0594】

好ましい実施形態において、本発明のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチドおよび/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、免疫抑制剤として使用される。

【0595】

本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、造血細胞の疾患、障害および/または状態の処置、予防、予後の判定および/または診断において有用であり得る。本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、特定の(または多くの)型の造血細胞の減少に関連した疾患、障害および/または状態(白血球減少症、好中球減少症、貧血、および血小板減少症が挙げられるが、それらに限定されない)を処置または予

50

防する試みにおいて、多能性幹細胞を含む造血細胞の分化および増殖を増加させるために用いられ得る。あるいは、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、特定の（または多くの）型の造血細胞の増加に関連した疾患、障害および/または状態（組織球増殖症が挙げられるが、それに限定されない）を処置または予防する試みにおいて、多能性幹細胞を含む造血細胞の分化および増殖を増加させるために用いられ得る。

【0596】

アレルギー反応およびアレルギー状態（例えば、喘息（特にアレルギー性喘息）または他の呼吸障害）はまた、本発明のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、および/またはそれらのアゴニストもしくはアンタゴニストを用いて、処置、予防、診断および/または予後判定され得る。さらに、これらの分子は、アナフィラキシー、抗原性分子に対する過敏性、または血液型不適合を処置、予防、診断および/または予後判定するために用いられ得る。

10

【0597】

さらに、本発明のポリペプチドまたはポリヌクレオチド、および/またはそのアゴニストもしくはアンタゴニストは、I g E 媒介アレルギー応答を処置、予防、診断および/または予後判定するために使用され得る。このようなアレルギー反応としては、喘息、鼻炎および湿疹が挙げられるが、これらに限定されない。特定の実施形態において、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストを用いて、インビトロまたはインビボにおいてI g E 濃度を調節し得る。

20

【0598】

さらに、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、炎症状態の診断、予後判定、予防および/または処置における用途を有する。例えば、本発明のポリペプチド、抗体、もしくはポリヌクレオチド、および/または本発明のアゴニストもしくはアンタゴニストは、炎症応答に関与する細胞の活性化、増殖および/または分化を阻害し得る。これらの分子を使用して、慢性の炎症状態および急性の炎症状態を、予防および処置し得る。このような炎症状態は以下を含むがこれらに限定されない：例えば、感染に関連する炎症（例えば、敗血症性ショック、敗血症、または全身炎症応答症候群）、虚血再灌流傷害に関連する炎症、内毒素致死に関連する炎症、補体媒介性超急性拒絶に関連する炎症、腎炎に関連する炎症、サイトカインまたはケモカインが誘導する肺傷害に関連する炎症、炎症性腸疾患に関連する炎症、クローン病に関連する炎症またはサイトカイン（例えば、TNFまたはIL-1）の過剰生成から生じる炎症、呼吸器障害（例えば、喘息およびアレルギー）；胃腸障害（例えば、炎症性腸疾患）；癌（例えば、胃癌、卵巣癌、肺癌、膀胱癌、肝臓癌、および乳癌）；CNS障害（例えば、多発性硬化症、虚血性脳損傷、および/または脳梗塞、外傷性脳損傷、神経変性性障害（例えば、パーキンソン病およびアルツハイマー病））；AIDS関連痴呆、およびプリオン病）；心血管障害（例えば、アテローム性動脈硬化症、心筋炎、心血管疾患、および心肺バイパス合併症）；ならびに炎症によって特徴付けられる多くのさらなる疾患、状態、および障害（例えば、肝炎、慢性関節リウマチ、痛風、外傷、脾炎、サルコイドーシス、皮膚炎、腎虚血再還流障害、グレーブス病、全身性エリテマトーデス、真性糖尿病、および同種異系移植拒絶）。

30

40

【0599】

炎症は、基礎的な防御機構なので、炎症障害は、実質的に体の任意の組織に影響を与え得る。従って、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体およびそのアゴニストもしくはアンタゴニストは、以下に挙げられるがこれらに限定されない、組織特異的炎症障害の処置における用途を有する：副腎炎、肺炎、胆管胆嚢炎、虫垂炎、亀頭炎、眼瞼炎、気管支炎、滑液胞炎、心臓炎、蜂巣炎、子宮頸管炎、胆嚢炎、声帯炎、蝸牛炎、大腸炎、結膜炎、膀胱炎、皮膚炎、憩室炎、脳炎、心内膜炎、食道炎、耳管炎、結合組織炎、毛胞炎、胃炎、胃腸炎、歯肉炎、舌炎、肝脾炎、角膜炎、迷路炎、喉頭炎、リンパ管炎、乳腺炎、中耳炎、髄膜炎、子宮炎、粘膜炎、心筋炎、筋炎、鼓膜炎、腎炎、神経炎、精巣炎、

50

骨軟骨炎、耳炎、心膜炎、腱周囲炎、腹膜炎、咽頭炎、静脈炎、灰白髄炎、前立腺炎、歯髄炎、網膜炎、鼻炎、卵管炎、強膜炎、強膜脈絡膜炎、陰嚢炎、静脈洞炎、脊椎炎、脂肪組織炎、口内炎、滑膜炎、耳管炎、腱炎、扁桃炎、尿道炎、および膣炎。

【0600】

特定の実施形態において、本発明のポリペプチド、抗体、もしくはポリヌクレオチド、および/またはそれらのアゴニストもしくはアンタゴニストは、器官移植拒絶、および対宿主性移植片病の診断、予後判定、予防および/または処置に有用である。器官拒絶は、免疫応答を通じた移植された組織の宿主免疫細胞破壊によって起こる。同様に、免疫反応はまた、GVHDに関するが、この場合、外来の移植された免疫細胞が、宿主組織を破壊する。本発明のポリペプチド、抗体、もしくはポリヌクレオチドおよび/またはそのアゴニストもしくはアンタゴニスト（免疫応答、特にT細胞の活性化、増殖、分化、または走化性を阻害する）は、器官拒絶またはGVHDを予防するのに有効な治療であり得る。特定の実施形態において、本発明のポリペプチド、抗体、もしくはポリヌクレオチドおよび/またはそのアゴニストもしくはアンタゴニスト（免疫応答、特にT細胞の活性化、増殖、分化、または走化性を阻害する）は、実験的アレルギー拒絶および超急性異種移植拒絶を予防するのに有効な治療であり得る。

10

【0601】

他の実施形態において、本発明のポリペプチド、抗体、もしくはポリヌクレオチド、および/またはそれらのアゴニストもしくはアンタゴニストは、以下に挙げられるが、それらに限定されない、免疫複合疾患の処置、予防、診断および/または予後判定に有用である。血清病、後連鎖球菌性糸球体腎炎（post streptococcal glomerulonephritis）、結節性多発性動脈炎、および免疫複合体誘導性脈管炎（immune complex-induced vasculitis）。

20

【0602】

本発明のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、感染性因子の処置、検出および/または予防に有用であり得る。例えば、免疫応答を増大することによって、特にB細胞および/またはT細胞の増殖、活性化および/または分化を増大することによって、感染性疾患は、処置、検出、および/または予防され得る。免疫応答は、既存の免疫応答を増大するか、または新しい免疫応答を惹起するかのいずれかによって、増大され得る。あるいは、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストはまた、免疫応答の必然的な惹起なしに、感染性因子（感染性因子を列挙する適用の節などで述べる）を直接阻害し得る。

30

【0603】

別の実施形態において、本発明のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、抗原に対する免疫応答を増大するアジュバントとして使用される。特定の実施形態において、本発明のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、腫瘍特異的な免疫応答を増大するアジュバントとして使用される。

【0604】

別の特定の実施形態において、本発明のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、抗ウイルス免疫応答を増大するためのアジュバントとして使用される。アジュバントとして本発明の組成物を用いて増強され得る抗ウイルス免疫応答としては、本明細書において記載されるかさもなければ当該分野で公知のウイルスおよびウイルス関連の疾患または症状が挙げられる。特定の実施形態において、本発明の組成物は、以下：AIDS、髄膜炎、デング、EBV、および肝炎（例えば、B型肝炎）からなる群より選択される、ウイルス、疾患または症状に対する免疫応答を増強するためのアジュバントとして用いられる。別の特定の実施形態において、本発明の組成物は、以下：HIV/AIDS、RSウイルス、デング、ロタウイルス、日本脳炎、インフルエンザAおよびB、パラインフルエンザ、麻疹、サイトメガロウイルス、狂犬病

40

50

、Juninウイルス、チクングニヤウイルス、リフトバレー熱、単純疱疹、および黄熱病からなる群より選択されるウイルス、疾患または症状に対する免疫応答を増強するアジュバントとして用いられる。

【0605】

別の特定の実施形態において、本発明のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、抗細菌免疫応答または抗真菌免疫応答を増大するためのアジュバントとして使用される。アジュバントとして本発明の組成物を使用して増大され得る抗細菌免疫応答または抗真菌免疫応答としては、細菌または真菌、および本明細書中に記載されるか、または、さもなければ当該分野で公知の疾患または症状に関連する細菌または真菌が挙げられる。特定の実施形態において、本発明の組成物は、細菌または真菌、疾患、または症状（これは、破傷風、ジフテリア、ボツリスム、およびB型髄膜炎からなる群から選択される）に対する免疫応答を増大するためのアジュバントとして使用される。

10

【0606】

別の特定の実施形態において、本発明の組成物は、細菌または真菌、疾患、または症状（これは、*Vibrio cholerae*、*Mycobacterium leprae*、*Salmonella typhi*、*Salmonella paratyphi*、*Meissneria meningitidis*、*Streptococcus pneumoniae*、Group B *Streptococcus*、*Shigella* spp.、Enterotoxigenic *Escherichia coli*、Enterohemorrhagic *E. coli*、および*Borrelia burgdorferi*からなる群から選択される）に対する免疫応答を増大するためのアジュバントとして使用される。

20

【0607】

別の特定の実施形態において、本発明のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、抗寄生生物免疫応答を増大するためのアジュバントとして使用される。アジュバントとして本発明の組成物を使用して増大され得る抗寄生生物免疫応答としては、寄生生物、および本明細書中に記載されるかまたはさもなければ、当該分野で公知の疾患または症状に関連する寄生生物が挙げられる。特定の実施形態において、本発明の組成物は、寄生生物に対する免疫応答を増大するためのアジュバントとして使用される。別の特定の実施形態において、本発明の組成物は、*Plasmodium*（マラリア）または*Leishmania*に対する免疫応答を増大するためのアジュバントとして使用される。

30

【0608】

別の特定の実施形態において、本発明のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストはまた、例えば、単核性食細胞の補充および活性化を予防することによって、珪肺症、サルコイドーシス、および特発性肺線維症を含む感染疾患の処置に使用され得る。

【0609】

別の特定の実施形態において、本発明のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストはまた、本発明のポリペプチドに対する免疫介在応答を阻害する、または増大する抗体の産生のための抗原として使用される。

40

【0610】

1つの実施形態として、本発明のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、免疫系をブーストし、1つ以上の抗体（例えば、IgG、IgA、IgM、およびIgE）の量の増大を生じ、高い親和性の抗体産生および免疫グロブリンクラス転換（例えば、IgG、IgA、IgMおよびIgE）を誘導し、および/または免疫応答を増大するための動物（例えば、マウス、ラット、ウサギ、ハムスター、モルモット、ブタ、ミニブタ、ニワトリ、ラクダ、ヤギ、ウマ、ウシ、ヒツジ、イヌ、ネコ、非ヒト霊長類、およびヒト、最も好ましくはヒト）に投与される。

50

【0611】

別の特定の実施形態において、本発明のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、病原体に対するB細胞応答性の刺激物質として使用される。

【0612】

別の特定の実施形態において、本発明のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、T細胞のアクチベーターとして使用される。

【0613】

別の特定の実施形態において、本発明のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、免疫抑制性治療を受ける前の、個体の免疫状態を増大させる薬剤として使用される。

10

【0614】

別の特定の実施形態において、本発明のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、より高い親和性抗体を誘導するための薬剤として使用される。

【0615】

別の特定の実施形態において、本発明のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、血清免疫グロブリン濃度を増加するための薬剤として使用される。

20

【0616】

別の特定の実施形態において、本発明のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、免疫無防備状態の個体の回復を促進するための薬剤として使用される。

【0617】

別の特定の実施形態において、本発明のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、高齢の集団および新生児の間の免疫応答性をブーストするための薬剤として使用される。

【0618】

別の特定の実施形態において、本発明のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、骨髄移植および/または他の移植（例えば、同種異系または外因性の器官移植）の前、間、または後の免疫系エンハンサーとして使用される。移植に関して、本発明の組成物は、移植の前、同時、および/または後に投与され得る。特定の実施形態において、本発明の組成物は、移植の後、T細胞集団の回復の開始前に投与される。別の特定の実施形態において、本発明の組成物は、移植の後、T細胞集団の回復の開始後であるが、B細胞集団の完全な回復の前に最初に投与される。

30

【0619】

別の特定の実施形態において、本発明のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、B細胞機能の後天的欠損を有する個体間で免疫応答性をブーストするための薬剤として使用される。ポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチドおよび/またはそれらのアゴニストもしくはアンタゴニストを投与することによって寛解または処置され得る、B細胞機能の後天的欠損を生じる状態としては、HIV感染、AIDS、骨髄移植、およびB細胞慢性リンパ球性白血病（CLL）が挙げられるが、これらに限定されない。

40

【0620】

別の特定の実施形態において、本発明のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、一時的な免疫不全を有する個体間で免疫応答性をブーストするための薬剤として使用される。ポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチドおよび/またはそれらのアゴニストもしくはアンタゴニストを投与することによって寛解または処置され得る、一時的な免疫不全を生じる状態としては、ウイルス感染（例え

50

ば、インフルエンザ)からの回復、栄養失調に関連する状態、感染性単核細胞症からの回復、またはストレスに関連する状態、麻疹からの回復、輸血からの回復、手術からの回復が挙げられるが、これらに限定されない。

【0621】

別の特定の実施形態において、本発明のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、単球、樹状細胞および/またはB細胞による抗原提示のレギュレーターとして使用される。1つの実施形態において、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、インビトロまたはインビボで抗原提示を増強するかまたは抗原提示をアンタゴナイズする。さらに、関連する実施形態において、この抗原提示の増強またはアンタゴナイズは、抗腫瘍処置としてかまたは免疫系を調節するために有用であり得る。

10

【0622】

別の特定の実施形態において、本発明のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、個体の免疫系を、TH1細胞性応答とは反対に、体液性応答(すなわち、TH2)の発生に指向するための薬剤として使用される。

【0623】

別の特定の実施形態において、本発明のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、腫瘍増殖を誘導し、従って、腫瘍を抗腫瘍性薬剤に対してより感受性にするための手段として使用される。例えば、多発性骨髄腫は、緩慢に細胞分裂(dividing)する疾患であり、従って、実質的に全ての抗腫瘍性レジメンに対して不応性である。これらの細胞を、より迅速に増殖させた場合、これらの感受性プロフィールは、おそらく変化するであろう。

20

【0624】

別の特定の実施形態において、本発明のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、AIDS、慢性リンパ球障害および/または分類不能性免疫不全症(Common Variable Immunodeficiency)のような病理におけるB細胞の産生の刺激因子として使用される。

【0625】

別の特定の実施形態において、本発明のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、手術、外傷または遺伝的欠陥後のリンパ組織の生成および/または再生のための治療として使用される。別の特定の実施形態において、本発明のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、移植前の骨髄サンプルの前処理として使用される。

30

【0626】

別の特定の実施形態において、本発明のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、SCID患者の間で観察されるような免疫不全症/免疫欠損を生じる遺伝性の障害のための遺伝子ベースの治療として使用される。

【0627】

別の特定の実施形態において、本発明のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、単球に影響を及ぼす寄生生物疾患(例えば、リーシュマニア属(Leshmania))に対して防御するために単球/マクロファージを活性化する方法として使用される。

40

【0628】

別の特定の実施形態において、本発明のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、本発明のポリペプチドによって誘発される分泌サイトカインを調節する方法として使用される。

【0629】

別の実施形態において、本発明のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、および/また

50

はアゴニストもしくはアンタゴニストは、獣医学的医療に適用され得る、本明細書中に記載の1つ以上の適用として使用される。

【0630】

別の特定の実施形態において、本発明のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、外来因子または自己に対する種々の局面の免疫応答をブロックする手段として使用される。免疫応答の特定の局面のブロックが所望され得る疾患または状態の例としては、狼瘡および関節炎のような自己免疫障害、ならびに皮膚アレルギー、炎症、腸疾患、損傷に対する免疫応答性および病原体に関する疾患/障害が挙げられる。

【0631】

別の特定の実施形態において、本発明のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、自己免疫疾患(例えば、特発性血小板減少性紫斑病、全身性エリテマトーデスおよび多発性硬化症)に関連するB細胞増殖およびIg分泌を妨げるための治療として使用される。

【0632】

別の特定の実施形態において、本発明のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、内皮細胞におけるB細胞および/またはT細胞の遊走のインヒビターとして使用される。この活性は、組織構造または同属の応答を破壊し、そして例えば、免疫応答の破壊および敗血症のブロックにおいて有用である。

【0633】

別の特定の実施形態において、本発明のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、未定量有意性の単クローン性高ガンマグロブリン血症(monoclonal gammopathy of undetermined significance)(MGUS)、ヴァルデンストレーム疾患、関連する特発性単クローン性高ガンマグロブリン血症、およびプラズマ細胞腫のような疾患における、慢性の高ガンマグロブリン血症事象のための治療として使用される。

【0634】

別の特定の実施形態において、本発明のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、例えば、特定の自己免疫疾患および慢性炎症疾患および感染性疾患における、マクロファージおよびその前駆体、ならびに好中球、好塩基球、Bリンパ球およびいくつかのT細胞サブセット(例えば、活性化T細胞およびCD8細胞傷害性T細胞ならびにナチュラルキラー細胞)の、ポリペプチド走化性および活性化を阻害するために使用され得る。自己免疫疾患の例は、本明細書中に記載され、その自己免疫疾患の例としては、多発性硬化症およびインスリン依存性糖尿病が挙げられる。

【0635】

本発明のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストはまた、例えば、好酸球の産生および遊走を妨げることによって、特発性好酸球增多症候群を処置するために使用され得る。

【0636】

別の特定の実施形態において、本発明のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、補体介在細胞溶解を増大する、または阻害するために使用される。

【0637】

別の特定の実施形態において、本発明のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、抗体依存性細胞性細胞毒性を増大する、または阻害するために使用される。

【0638】

別の特定の実施形態において、本発明のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストはまた、例えば、動脈壁における単球浸潤を

10

20

30

40

50

妨げることによって、アテローム性動脈硬化症を処置するために使用され得る。

【0639】

別の特定の実施形態において、本発明のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、成人呼吸促進症候群（ARDS）を処置するために使用され得る。

【0640】

別の特定の実施形態において、本発明のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、創傷および組織の修復の刺激、新脈管形成の刺激、および/または血管もしくはリンパの疾患もしくは障害の修復の刺激において有用であり得る。さらに、本発明のアゴニストおよびアンタゴニストは、粘膜表面の再生を刺激するために使用され得る。

10

【0641】

特定の実施形態において、ポリヌクレオチドもしくはポリペプチド、および/またはそれらのアゴニストは、原発性または後天性の免疫不全、欠損性の血清免疫グロブリン産生、再発性の感染および/または免疫系機能不全によって特徴付けられる障害を診断、予後判定、処置および/または予防するために使用される。さらに、ポリヌクレオチドもしくはポリペプチド、および/またはそれらのアゴニストは、関節、骨、皮膚および/または耳下腺の感染、血液由来の感染（例えば、敗血症、髄膜炎、敗血症性関節炎および/または骨髄炎）、自己免疫疾患（例えば、本明細書中に開示されるような自己免疫疾患）、炎症性障害、および悪性疾患、ならびに/あるいはこれらの感染、疾患および/または悪性疾患に関連する任意の疾患または障害または状態（CVID、他の原発性免疫不全、HIV疾患、CLL、再発性気管支炎、静脈洞炎、中耳炎、結膜炎、肺炎、肝炎、髄膜炎、帯状ヘルペス（例えば、重篤な帯状ヘルペス）および/またはニューモシスティスを含むが、これらに限定されない）を処置または予防するために使用され得る。本発明のポリヌクレオチドもしくはポリペプチド、および/またはアゴニストによって予防、診断、予後判定、および/または処置され得る他の疾患および傷害として、HIV感染、HTLV-BLV感染、リンパ球減少、食細胞殺細菌機能不全貧血（phagocyte bactericidal dysfunction anemia）、血小板減少、およびヘモグロビン尿症が挙げられるが、これらに限定されない。

20

【0642】

別の実施形態において、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、分類不能性免疫不全症（Common Variable Immunodeficiency）（「CVID」；「後天性無ガンマグロブリン血症」および「後天性低ガンマグロブリン血症」としても公知である）またはこの疾患のサブセットを有する個体を、処置および/または診断するために使用される。

30

【0643】

特定の実施形態において、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、免疫細胞あるいは、免疫組織関連癌または新生物を含む癌または新生物の診断、予後判定、予防および/または処置に使用され得る。本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストによって、予防、診断または処置され得る癌または新生物の例としては、以下に挙げられるが、これらに限定されない：急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、ホジキン病、非ホジキンリンパ腫、急性リンパ性白血病（ALL）、慢性リンパ性白血病、プラズマ細胞腫、多発性骨髄腫、パーキットリンパ腫、EBV変換性（EBV-transformed）疾患、および/または本明細書中の「過剰増殖障害」と題されるセクションに記載される疾病および障害。

40

【0644】

別の特定の実施形態において、本発明のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、ラージB細胞リンパ腫の細胞増殖を減少するための治療として使用される。

50

【0645】

別の特定の実施形態において、本発明のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、慢性骨髄性白血病に関連するB細胞およびIgの関与を減少する手段として使用される。

【0646】

特定の実施形態において、本発明の組成物は、B細胞免疫不全個体（例えば、部分的または完全な脾臓摘出術を受けた個体など）の間で免疫応答性をブーストするための因子として使用される。

【0647】

例えば、本発明のアンタゴニストとしては、結合抗体および/または阻害抗体、アンチセンス核酸、リボザイムあるいは可溶性形態の本発明のポリペプチド（例えば、Fc融合タンパク質；例えば、実施例9を参照のこと）が挙げられる。例えば、本発明のアゴニストとしては、結合抗体および/または刺激抗体、および可溶性形態のポリペプチド（例えば、Fc融合タンパク質；例えば、実施例9を参照のこと）が挙げられる。本発明のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、本明細書中に記載されるように、薬学的に受容可能なキャリアを用いた組成物として使用され得る。

10

【0648】

別の実施形態において、本発明のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、機能的な内因性抗体分子を産生できないか、さもなければ易感染性の内因性免疫系を有するが、別の動物由来の再構成されたか、または部分的に再構成された免疫系的手段によってヒト免疫グロブリン分子を産生し得る、動物（上記に列挙した動物を含むがこれに限定されず、またトランスジェニック動物も含む）へ投与される（例えば、PCT公開番号、WO98/24893、WO96/34096、WO96/33735、およびWO91/10741を参照のこと）。このような動物への本発明のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチドおよび/またはアゴニスト、もしくはアンタゴニストの投与は、本発明のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチドおよび/またはアゴニスト、もしくはアンタゴニストに対するモノクローナル抗体の産生に有用である。

20

【0649】

（血液関連障害）

本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストを使用して、止血性活性（出血を止めること）または血栓崩壊活性（血餅形成）を調節し得る。例えば、止血活性または血栓崩壊活性を増大させることにより、本発明のポリヌクレオチドもしくはポリペプチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストを使用し、血液凝固の疾患、障害および/または状態（例えば、無線維素原血症、因子欠損症、血友病）、血液血小板の疾患、障害および/または状態（例えば、血小板減少症）、あるいは外傷、手術または他の原因から生じる創傷を処置または予防し得る。あるいは、止血活性または血栓崩壊活性を減少させ得る本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストを使用し、凝血を阻害または溶解し得る。心臓発作（梗塞）、発作（stroke）または癩痕の処置または予防において、これらの分子は重要であり得る。

30

40

【0650】

特定の実施形態において、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、血栓症、動脈血栓症、静脈血栓症、血栓塞栓症、肺塞栓症、アテローム硬化症、心筋梗塞、一過性脳虚血発作、不安定狭心症の予防、診断、予後判定および/または処置に使用され得る。特定の実施形態において、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、伏在静脈移植片の閉塞の予防のため、血管形成術の手順に伴い得るような処置した周囲で起きる血栓症（periprocedural thrombosis）の危険

50

性を減らすために、非リウマチ性心房細動を含む心房細動を有する患者における発作の危険性を減らすために、人工心臓弁および/または増幅弁疾患に関連した塞栓症の危険性を減らすために、使用され得る。本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストのための他の使用としては、体外装置（例えば、脈管内カニューレ、血液透析の患者における脈管アクセスシャント、血液透析機、および心肺バイパス機）における閉塞の予防が挙げられるが、それらに限定されない。

【0651】

別の実施形態において、本発明のポリペプチド、またはこのポリペプチドに対応するポリヌクレオチド、抗体、アゴニストもしくはアゴニストは、表10の第2列（ライブラリーコード）において開示される1、2、3、4、5またはそれより多くの組織を含む、本発明のポリペプチドが発現している組織に関連する血液および/または血液形成器官の疾患および障害の予防、診断、予後判定および/または処置に使用され得る。

10

【0652】

本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、造血活性（血球の形成）を調節するために使用され得る。例えば、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、全ての、またはサブセットの血球（例えば、赤血球、リンパ球（B細胞またはT細胞）、脊髄細胞（例えば、好塩基球、好酸球、好中球、肥満細胞、マクロファージ）および血小板など）の量を増大するのに使用される。血球の量、または血球のサブセットの量を減少する能力は、以下に記載される貧血および白血球減少症の予防、検出、診断および/または処置に有用であり得る。あるいは、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、全ての、またはサブセットの血球（例えば、赤血球、リンパ球（B細胞またはT細胞）、脊髄細胞（例えば好塩基球、好酸球、好中球、肥満細胞、マクロファージ）および血小板）の量を減らすのに使用され得る。血球の量、または血球のサブセットの量を減少する能力は、白血球増加症（例えば、好酸球増加症など）の予防、検出、診断および/または処置に有用であり得る。

20

【0653】

本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、血液悪液質を予防、処置、または診断するために使用され得る。

30

【0654】

貧血は、赤血球の数またはその中のヘモグロビン（酸素を運ぶタンパク質）の量が正常を下回る、状態である。貧血は、過度の出血、減少した赤血球生成、または増加した赤血球細胞破壊（溶血）によって引き起こされ得る。本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、貧血を処置、予防、および/または診断する際に有用であり得る。本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストにより処置、予防または診断され得る貧血としては、鉄欠乏性貧血、血色素減少症、小球性貧血、萎黄病、遺伝性鉄芽球性貧血、特発性後天性鉄芽球性貧血、赤血球形成不全症、巨赤芽球性貧血（例えば、悪性貧血、（ビタミンB12欠乏）および葉酸欠乏性貧血）、再生不良性貧血、溶血性貧血（例えば、自己免疫溶血性貧血、細血管異常性溶血性貧血、および発作性夜間血色素尿症）が挙げられる。本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、疾患に関連する貧血を処置、予防、および/または診断する際に有用であり得、この疾患に関連する貧血としては、全身性エリテマトーデスに関連する貧血、ガンに関連する貧血、リンパ腫に関連する貧血、慢性腎疾患に関連する貧血、および腫脹した脾臓に関連する貧血が挙げられるが、これらに限定されない。本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、薬物処置から生じる貧血を処置、予防および/または診断する際に有用であり得、そのような貧血は、例えば、メチルドパに関連する貧血、ダブソンに関連する貧血、および/またはサルファ剤に関連する貧血である。さらに、本発明のポリヌクレオチド、ポ

40

50

リペプチド、抗体、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、異常な赤血球構造に関連する貧血を処置、予防、および/または診断する際に有用であり得、このような貧血としては、遺伝性球状赤血球、遺伝性楕円赤血球症、グルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ欠損、および鎌状赤血球貧血が挙げられるが、これらに限定されない。

【0655】

本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、ヘモグロビン異常（例えば、鎌状赤血球貧血、ヘモグロビンC症、ヘモグロビンS-C症、およびヘモグロビンE症に関連した異常）を処置、予防、および/または診断するにおいて有用であり得る。さらに、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、サラセミア（ -サラセミアおよび -サラセミアのメジャー形態およびマイナー形態を含むが、これらに限定されない）を診断、予後判定、予防および/または処置するにおいて有用であり得る。

10

【0656】

別の実施形態では、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、血小板減少症（例えば、特発性血小板減少性紫斑病、および血栓性血小板減少性紫斑病）、ヴォン・ヴィレブランド病、遺伝性血小板障害（例えば、蓄積プール症（storage pool disease）（例えば、チェディアック-東病およびヘルマンスキー-パドラック症候群）、トロンボキサンA2機能不全、血小板無力症、およびベルナル-スーリエ症候群）、溶血性尿毒症症候群、血友病（hemophilia）（例えば、血友病Aまたは第VII因子欠損、およびクリスマス病または第IX因子欠損）、遺伝性出血性毛細管拡張症（ランデュ-オースラー-ウェーバー症候群として公知）、アレルギー性紫斑病（ヘーノホ-シェーンライン紫斑病）および汎発性血管内凝固症候群が挙げられるが、これらに限定されない出血障害を診断、予後判定、予防および/または処置するにおいて有用であり得る。

20

【0657】

血液の凝固時間に対する、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストの効果は、全血部分トロンボプラスチン時間（PTT）、活性化部分トロンボプラスチン時間（aPTT）、活性凝固時間（ACT）、再石灰化活性凝固時間またはリー-ホワイト凝固時間が挙げられるが、これらに限定されない、当該分野で公知の任意の凝固試験を使用してモニターされ得る。

30

【0658】

いくつかの疾患および種々の薬物は、血小板機能不全を引き起こし得る。従って、特定の実施形態では、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、後天性血小板機能不全（例えば、腎不全、白血病、多発性骨髄腫、肝臓の肝硬変、および全身性エリテマトーデスに関連する血小板機能不全、ならびに薬物処置（高用量でのアスピリン、チクロピジン、非ステロイド性抗炎症薬（関節炎、疼痛、および捻挫に使用される）、およびペニシリンによる処置を含む）に関連する血小板機能不全）を診断、予後判定、予防および/または処置するにおいて有用であり得る。

【0659】

別の実施形態では、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、白血球数の増加もしくは減少によって特徴付けられるか、または白血球数の増加もしくは減少に関連する疾患および障害を診断、予後判定、予防および/または処置するにおいて有用であり得る。白血球減少症は、白血球数が、正常未満に減少する場合に生じる。白血球減少症としては、好中球減少症およびリンパ球減少症が挙げられるが、これらに限定されない。正常と比較した白血球数の増加は、白血球増加症として公知である。身体は、感染の間に、増加した数の白血球を産生する。従って、白血球増加症は、単純に、感染を反映する通常の生理的パラメーターであり得る。あるいは、白血球増加症は、損傷または癌のような他の疾患の指標であり得る。白血球増加症（Leukocytosis）としては、好酸球増加症およびマクロファージの蓄積が挙げ

40

50

られるが、これらに限定されない。特定の実施形態では、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、白血球減少症を診断、予後判定、予防および/または処置するにおいて有用であり得る。他の特定の実施形態では、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、白血球増加症を診断、予後判定、予防および/または処置するにおいて有用であり得る。

【0660】

白血球減少症は、すべての型の白血球が概して減少した状態であり得るか、または特定の型の白血球の特異的枯渇であり得る。従って、特定の実施形態では、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、好中球数の減少（好中球減少症として公知）を診断、予後判定、予防および/または処置するにおいて有用であり得る。本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストによって診断、予後判定、予防および/または処置され得る好中球減少症としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：乳児遺伝性顆粒球減少症（*infantile genetic agranulocytosis*）、家族性好中球減少症、周期性好中球減少症、食事性欠損（例えば、ビタミンB12欠損または葉酸欠損）から生じるかまたはこれに関連する好中球減少症、薬物処置（例えば、抗生物質レジメン（例えば、ペニシリン処置）、スルホンアミド処置、抗凝固薬処置、鎮痙薬物、抗甲状腺性薬物、および癌化学療法）から生じるかまたは薬物処置に関連した好中球減少症、およびいくつかの細菌感染またはウイルス感染、アレルギー性障害、自己免疫疾患、個体が膨張した脾臓を有し（例えば、フェルティ症候群、マラリア、およびサルコイドーシス）、そしていくつかの薬物処置レジメンを有する状態に関連して生じ得る好中球破壊の増加から生じる好中球減少症。

【0661】

本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、ストレス、薬物処置（例えば、コルチコステロイドを用いる薬物処置、癌化学療法、および/または放射線治療）、AIDS感染、および/または他の疾患（例えば、癌、慢性関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、慢性感染、いくつかのウイルス感染、および/または遺伝性障害（例えば、ディ・ジョージ症候群、ヴィスコット-オールドリッチ症候群、重症複合型免疫不全、毛細血管拡張性運動失調）など）から生じるかまたはそれらに関連するリンパ球減少症を含むが、これに限定されないリンパ球減少症（Bリンパ球/Tリンパ球の数の減少）を診断、予後判定、予防および/または処置するにおいて有用であり得る。

【0662】

本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、ゴシェ病、ニーマン-ピック病、レテラー-ジーヴェ病、およびハンド-シュラー-クリスチャン病を含むが、これらに限定されない、マクロファージ数および/またはマクロファージ機能に関連した疾患および障害を診断、予後判定、予防および/または処置するにおいて有用であり得る。

【0663】

別の実施形態では、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、特発性好酸球增多症候群、好酸球增多-筋痛症候群、およびハンド-シュラー-クリスチャン病を含むが、これらに限定されない、好酸球数および/または好酸球機能に関連した疾患および障害を診断、予後判定、予防および/または処置するにおいて有用であり得る。

【0664】

さらに別の実施形態では、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、急性リンパ性（リンパ芽球性）白血病（ALL）、急性骨髄性（骨髄性（*myelocytic*）、骨髄性（*myelogenous*）、骨髄芽球性または骨髄単球性）白血病、慢性リンパ性白血病（例えば、B細胞白血病、

10

20

30

40

50

T細胞白血病、セザリー症候群、およびヘアリーセル白血病)、慢性骨髄性(骨髄性(myeloid)、骨髄性(myelogenous)または顆粒球性)白血病、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、パーキットリンパ腫、および菌状息肉腫を含むが、これらに限定されない白血病およびリンパ腫を診断、予後判定、予防および/または処置するにおいて有用であり得る。

【0665】

他の実施形態では、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、形質細胞異形成、モノクローナル高ガンマグロブリン血症、意義不明のモノクローナル高ガンマグロブリン血症(monoclonal gammopathies of undetermined significance) 10、多発性骨髄腫、マクログロブリン血症、ヴァルデンストレームマクログロブリン血症、クリオグロブリン血症、レーノー現象を含むが、これらに限定されないプラズマ細胞の疾患および障害を診断、予後判定、予防および/または処置するにおいて有用であり得る。

【0666】

他の実施形態では、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、真性赤血球増加症、相対的赤血球増加症、二次的赤血球増加症(secondary polycythemia)、骨髄線維症、急性骨髄線維症、原因不明骨髄様化生、血小板血症(一次的および二次的血小板血症の両方を含む)、および慢性骨髄性白血病を含むが、これらに限定されない、骨髄増殖性障害を診断、予防および/または処置するにおいて有用であり得る。 20

【0667】

他の実施形態では、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、外科手術の前に、血球産生を増加させるための処置として有用であり得る。

【0668】

他の実施形態では、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、好中球、好酸球およびマクロファージの移動、食作用、スーパーオキシド産生、抗体依存性細胞傷害性を増強するための薬剤として有用であり得る。

【0669】

他の実施形態では、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、幹細胞フェレーシスの前に、循環系の幹細胞数を増加させるための薬剤として有用であり得る。別の特定の実施形態では、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、血小板フェレーシスの前に、循環系の幹細胞数を増加させるための薬剤として有用であり得る。 30

【0670】

他の実施形態では、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、サイトカイン産生を増加させるための薬剤として有用であり得る。 40

【0671】

他の実施形態では、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、一次造血障害を診断、予後判定、および/または処置するにおいて有用であり得る。

【0672】

(過剰増殖性障害)

特定の実施形態では、本発明のポリヌクレオチド、もしくはポリペプチド、またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、過剰増殖性障害(新生物を含む)を処置または検出するために使用され得る。本発明のポリヌクレオチド、もしくはポリペプチド、またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、直接的相互作用または間接的相互作用を通して、この障 50

害の増殖を阻害し得る。あるいは、本発明のポリヌクレオチド、もしくはポリペプチド、またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、過剰増殖性障害を阻害し得る他の細胞を増殖し得る。

【0673】

例えば、免疫応答を増加させることによって、特に、過剰増殖性障害の抗原性の質を増加させることがまたはT細胞を増殖、分化、もしくは動員することによって、過剰増殖性障害は処置され得る。この免疫応答は、既存の免疫応答を増強することか、または新たな免疫応答を開始することのいずれかによって増加され得る。あるいは、免疫応答を減少させることはまた、過剰増殖性障害を処置する方法であり得る（例えば、化学療法剤）。

【0674】

本発明のポリヌクレオチド、もしくはポリペプチド、またはアゴニストもしくはアンタゴニストによって処置または検出され得る過剰増殖性障害の例としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：結腸、腹部、骨、乳房、消化器系、肝臓、膵臓、腹膜、内分泌腺（腎上体、上皮小体、下垂体、精巣、卵巣、胸腺、甲状腺）、眼、頭頸部、神経（中枢および末梢）、リンパ系、骨盤、皮膚、軟部組織、脾臓、胸郭、および泌尿性器管に位置づけられる新生物。

【0675】

同様に、他の過剰増殖性障害もまた、本発明のポリヌクレオチド、もしくはポリペプチド、またはアゴニストもしくはアンタゴニストによって処置または検出され得る。このような過剰増殖性障害の例としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：急性小児性リンパ芽球性白血病、急性リンパ芽球性白血病、急性リンパ性白血病、急性骨髄性白血病、副腎皮質癌腫、成体（原発性（primary））肝細胞癌、成体（原発性（primary））肝臓癌、成体急性リンパ性白血病、成体急性骨髄性白血病、成体ホジキン病、成体ホジキンリンパ腫、成体リンパ性白血病、成体非ホジキンリンパ腫、成体原発性肝臓癌、成体軟部組織肉腫、AIDS関連リンパ腫、AIDS関連悪性疾患、肛門癌、星状細胞腫、胆管癌、膀胱癌、骨の癌（bone cancer）、脳幹グリオーム、脳腫瘍、乳癌、腎盤および尿管の癌、中枢神経系（原発性）リンパ腫、中枢神経系リンパ腫、小脳星状細胞腫、大脳星状細胞腫、子宮頸癌、小児性（原発性）肝細胞癌、小児性（原発性）肝臓癌、小児性急性リンパ芽球性白血病、小児性急性骨髄性白血病、小児性脳幹グリオーム、小児性小脳星状細胞腫、小児性大脳星状細胞腫、小児性頭蓋外胚細胞腫瘍（Childhood Extracranial Germ Cell Tumor）、小児性ホジキン病、小児性ホジキンリンパ腫、小児性視床下部および視路グリオーム（Childhood Hypothalamic and Visual Pathway Glioma）、小児性リンパ芽急性白血病、小児性髄芽腫、小児性非ホジキンリンパ腫、小児性松果体およびテント上未分化神経外胚葉性腫瘍、小児性原発性肝臓癌、小児性横紋筋肉腫、小児性軟部組織肉腫、小児性視路および視床下部グリオーム、慢性リンパ球性白血病、慢性骨髄性白血病、結腸癌、皮膚T細胞リンパ腫、内分泌膵島細胞癌腫、子宮内膜癌、上衣腫、上皮癌、食道癌、ユーイング肉腫および関連の腫瘍、膵外分泌癌（Exocrine Pancreatic Cancer）、頭蓋外胚細胞腫瘍（Extracranial Germ Cell Tumor）、性腺外胚細胞腫瘍（Extragenital Germ Cell Tumor）、肝外胆管癌、眼の癌、雌性乳癌、ゴシェ病、胆嚢癌、胃癌、胃腸類癌腫、胃腸腫瘍、胚細胞腫瘍（Germ Cell Tumor）、妊娠期栄養膜腫瘍（Gestational Trophoblastic Tumor）、ヘアリーセル白血病、頭頸部の癌、肝細胞癌、ホジキン病、ホジキンリンパ腫、高ガンマグロブリン血症、下咽頭癌、腸の癌、眼内黒色腫、島細胞癌腫、島細胞膵臓癌、カボージ肉腫、腎臓癌、喉頭癌、口唇および口腔の癌、肝臓癌、肺癌、リンパ増殖性（Lymphoproliferative）障害、マクログロブリン血症、雄性乳癌、悪性中皮腫、悪性胸腺腫、髄芽腫、黒色腫、中皮腫、転移性潜在性原発性扁平上皮頸癌（Metastatic Occult Primary Squamous Neck Cancer）、転移性原発性扁平上皮頸癌（Metastatic Primary Sq

10

20

30

40

50

uamous Neck Cancer)、転移性扁平上皮頸癌(Metastatic Squamous Neck Cancer)、多発性骨髄腫、多発性骨髄腫/プラズマ細胞新生物、脊髄形成異常症候群、骨髄性白血病(Myelogenous Leukemia)、骨髄性白血病(Myeloid Leukemia)、骨髄増殖性障害、鼻腔および副鼻腔の癌、鼻咽頭癌、神経芽腫、妊娠期の非ホジキンリンパ腫、非黒色腫皮膚癌(Nonmelanoma Skin Cancer)、非小細胞肺癌、潜在性原発性転移性扁平上皮頸癌(Occult Primary Metastatic Squamous Neck Cancer)、口腔咽頭癌、骨/悪性線維性肉腫、骨肉腫/悪性線維性組織球腫、骨の骨肉腫/悪性線維性組織球腫、卵巣上皮癌、卵巣胚細胞腫瘍、卵巣境界型腫瘍、膵臓癌、パラプロテイン血症、紫斑、上皮小体癌、陰茎癌、褐色細胞腫、下垂体腫瘍、プラズマ細胞新生物/多発性骨髄腫、原発性中枢神経系リンパ腫、原発性肝臓癌、前立腺癌、直腸癌、腎細胞癌、腎盤および尿管の癌、網膜芽腫、横紋筋肉腫、唾液腺癌、サルコイドーシス肉腫、セザリー症候群、皮膚癌、小細胞肺癌、小腸癌、軟部組織肉腫、扁平上皮頸癌、胃癌、テント上未分化神経外胚葉性および松果体腫瘍、T細胞リンパ腫、精巣癌、胸腺腫、甲状腺癌、腎盤および尿管の移行上皮癌、移行性の腎盤および尿管の癌、栄養膜腫瘍、尿管および腎盤細胞の癌、尿道癌、子宮癌、子宮肉腫、膣の癌、視路および視床下部グリオーム、外陰部の癌、ヴァルデンストレームマクログロブリン血症、ウィルムス腫、ならびに任意の他の過剰増殖性疾患、および新形成であって、上記に列挙された器官系に位置付けられるもの。

10

【0676】

別の好ましい実施形態において、本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチド、あるいはアゴニストまたはアンタゴニストを用いて、前悪性状態の診断、予後判断、予防および/または処置、ならびに上に記載されるような障害を含むがこれらに限定されない腫瘍性状態または悪性状態への進行を予防を行う。このような使用が示されるのは、腫瘍性または癌(特に、ここで、過形成、化生、または最も特には形成異常からなる非腫瘍性の細胞増殖が起こっている(このような異常な増殖状態の総説については、RobbinsおよびAngell, 1976, Basic Pathology, 第2版, W. B. Saunders Co., Philadelphia, pp 68~79)を参照)への前述の進行が知られるか、または疑われる状況においてである。

20

【0677】

過形成は、制御された細胞増殖形態であり、これは、構造または機能において有意な変化を伴わない、組織または器官における細胞数の増大を含む。本発明の組成物(ポリヌクレオチド、ポリペプチド、アゴニストまたはアンタゴニストを含む)を用いて、診断、予後判断、予防および/または処置し得る過形成障害としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない: 脈管濾胞性縦隔リンパ節増殖、好酸球増加随伴性血管類リンパ組織増殖症、非定型メラニン細胞過形成、基底細胞過形成、良性巨大リンパ節増殖、セメント質過形成、先天性副腎過形成、先天性脂腺増生症、嚢胞性増殖、乳房嚢胞性過形成、義歯性線維症、導管過形成、子宮内膜過形成、線維筋過形成、局所性上皮肥厚、歯肉増殖、炎症性線維性過形成、炎症性乳頭状過形成、血管内乳頭状内皮過形成、結節性前立腺過形成、結節性再生過形成、偽上皮腫性増殖、老年性脂腺増生症、ならびに疣贅性肥厚。

30

40

【0678】

化生は、成体の細胞または完全に分化した細胞の1つの型が、別の型の成体の細胞に代わる制御された細胞増殖形態である。本発明の組成物(ポリヌクレオチド、ポリペプチド、アゴニストまたはアンタゴニストを含む)を用いて、診断、予後判断、予防および/または処置し得る化生障害としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない: 原因不明骨髄様化生、アポクリン化生、非定型化性(atypical metaplasia)、自己実質化生、結合組織化生、上皮化生、腸上皮化生、化生性貧血、変形骨化、異形成性ポリープ、骨髄化生、原発性骨髄様化生、二次性骨髄様化生、扁平化生、羊膜の扁平化生、および症候性骨髄化生。

【0679】

50

形成異常は、頻繁に癌の前兆であり、そして主に上皮において見出される；形成異常は、非腫瘍性細胞増殖の最も乱れた形態であり、これは、個々の細胞の一様性の損失および細胞の構築的配向の喪失を含む。形成異常細胞は、しばしば異常に大きく、深く染色される核を有し、そして多態性を呈する。形成異常は、特徴的に慢性的な過敏または炎症の存在するところに生じる。本発明の組成物（ポリヌクレオチド、ポリペプチド、アゴニストまたはアンタゴニストを含む）を用いて、診断、予後判断、予防および/または処置し得る形成異常障害としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：無汗性外胚葉性形成異常、前後形成異常、窒息性胸郭形成異常、心房指（atriodigital）形成異常、気管支肺異形成症、終脳形成異常、子宮頸部形成異常、軟骨外胚葉性形成異常、鎖骨頭蓋骨形成不全、先天性外胚葉性形成異常、頭蓋骨幹形成異常、頭蓋骨手根骨足根骨形成不全、頭蓋骨幹端形成異常、ぞうげ質異形成症、骨幹形成異常、外胚葉性形成異常、エナメル質形成異常、脳-眼球異形成（encephalo-ophthalmic dysplasia）、足根骨肥大、多発性骨端形成異常、点状骨端形成異常、上皮形成異常、顔面指趾生殖器形成異常、家族性顎骨の線維性形成障害、家族性白色癩性形成異常、線維筋性形成異常、線維性骨形成異常、開花性骨異形成症、遺伝性腎性-網膜性形成異常（hereditary renal-retinal dysplasia）、発汗性外胚葉性形成異常、無汗性外胚葉形成異常症、リンパ球減少性胸腺形成異常、乳房形成異常、顎顔面形成異常、骨幹端形成異常、モンディーニ型内耳形成異常、単発性線維性形成異常、粘膜上皮形成異常、多発性骨端形成異常、眼耳脊椎形成異常、眼歯指形成異常、眼脊椎形成異常、歯牙形成不全、眼下顎四肢形成不全、根尖性セメント質異形成症、多発性線維性骨形成異常、偽軟骨発育不全脊椎骨端形成異常、網膜形成異常、中隔-視覚異形成症、脊椎骨端形成異常、および心室橈骨形成異常。

10

20

【0680】

本発明の組成物（ポリヌクレオチド、ポリペプチド、アゴニストまたはアンタゴニストを含む）を用いて、診断、予後判断、予防および/または処置し得るさらなる前腫瘍性障害としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：良性の異常増殖障害（例えば、良性腫瘍、線維嚢胞状態、組織肥大、腸ポリープ、結腸ポリープ、および食道形成異常）、白斑症、角化症、ポーエン病、農夫皮膚、日光口唇炎、および日光性角化症。

【0681】

別の実施形態において、本発明のポリペプチドまたはポリヌクレオチド、抗体、このポリペプチドに対応するアゴニストまたはアンタゴニストを用いて、本発明のポリペプチドが発現される、表10列2（ライブラリーコード）に開示される1、2、3、4、5、またはそれより多くの組織を含む組織に関する障害の診断および/または予後判断し得る。

30

【0682】

別の実施形態において、本明細書において記載されるように毒素または放射性同位元素に結合した、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストを用いて、本明細書中に記載されるものを含むが、これらに限定されない癌および新生物を処置し得る。さらなる好ましい実施形態において、本明細書において記載されるように毒素または放射性同位元素に結合した、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストを用いて、急性骨髄性白血病を処置し得る。

40

【0683】

さらに本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、アポトーシスに影響し得、したがって細胞生存の増大またはアポトーシスの阻害に関する多くの疾患を処置する際に有用である。例えば、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストを用いて診断、予後判断、予防、および/または処置し得る細胞生存の増大またはアポトーシスの阻害に関する疾患としては、以下が挙げられる：癌（例えば、濾胞性リンパ腫、p53変異を伴う癌、およびホルモン依存性腫瘍（以下を含むが、これらに限定されない：結腸癌、心臓性腫瘍（cardiac tumors）、膵臓癌、黒色腫、網膜芽腫、神経膠芽腫、肺

50

癌、腸癌、精巣癌、胃癌、神経芽腫、粘液腫、筋腫、リンパ腫、内皮腫、骨芽細胞腫、骨巨細胞腫、骨肉腫、軟骨肉腫、腺腫、乳癌、前立腺癌、カポージ肉腫、および卵巣癌) ; 自己免疫障害 (例えば、多発性硬化症、シェーグレン症候群、橋本甲状腺炎、胆汁性肝硬変、ベーチェット病 (Behcet's disease)、クローン病、多発性筋炎、全身性エリテマトーデス、ならびに免疫性糸球体腎炎 (immune-related glomerulonephritis) および慢性関節リウマチ) ならびにウイルス感染 (例えば、ヘルペスウイルス、ポックスウイルスおよびアデノウイルス)、炎症、対宿主性移植片病、急性移植片拒絶、ならびに慢性移植片拒絶。

【0684】

好ましい実施形態において、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、および/または

10

【0685】

本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストによって、診断、予後判断、予防および/または処置され得る、細胞の生存を増大させることに関するさらなる疾患または状態としては、以下の進行および/または転移が挙げられるが、これらに限定されない: 悪性腫瘍および関連する障害 (例えば、白血病 (急性白血病 (例えば、急性リンパ性白血病、急性骨髄性白血病 (骨髄芽球性白血病、前骨髄性白血病 (promyelocytic)、骨髄単球性白血病、単球性白血病および赤白血病を含む))、ならびに慢性白血病 (例えば、慢性骨髄性白血病 (顆粒球性白血病) および慢性リンパ性白血病) を含む)、真性赤血球増加、リンパ腫 (例えば、ホジキン病 および非ホジキン病)、多発性骨髄腫、ヴァルデンストレームマクログロブリン血症、H鎖病、および固形腫瘍 (これらは、以下が挙げられるが、これらに限定されない: 肉腫および癌 (例えば、線維肉腫、粘液肉腫、脂肪肉腫、軟骨肉腫、骨原性肉腫、脊索腫、血管肉腫、内皮性肉腫 (endotheliosarcoma)、リンパ管肉腫、リンパ管内皮腫、骨膜腫、中皮腫、ユーイング腫、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、結腸癌、膵臓、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、扁平上皮癌、基底細胞癌、腺癌、汗腺癌、皮脂腺癌、乳頭状癌、乳頭状腺癌、嚢胞腺癌、髄様癌、気管支原生癌、腎細胞癌、ヘパトーム、胆管癌、絨毛癌、セミノーマ、胎生期癌、ウィルムス腫、頸部癌、精巣癌、肺癌、小細胞肺癌、膀胱癌、上皮癌、神経膠腫、星状細胞腫、髄芽腫、頭蓋咽頭腫、脳室上衣細胞腫、松果体腫、血管芽細胞腫 (emangioblastoma)、聴神経鞘腫 (acoustic neuroma)、乏突起神経膠腫、髄膜腫 (menangioma)、黒色腫、神経芽腫、ならびに網膜芽腫)))。

20

30

【0686】

本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストによって、診断、予後判断、予防および/または処置され得る、アポトーシスを増大させることに関する疾患は、以下を含む: AIDS; 神経変性障害 (例えば、アルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症、色素性網膜炎、小脳変性、および脳腫瘍または原発性関連疾患 (prior associated disease)); 自己免疫障害 (例えば、多発性硬化症、シェーグレン症候群、橋本甲状腺炎、胆汁性肝硬変、ベーチェット病、クローン病、多発性筋炎、全身性エリテマトーデス、および免疫関連糸球体腎炎および慢性関節リウマチ)、脊髄形成異常症候群 (例えば、再生不良性貧血)、対宿主性移植片病、虚血性障害 (例えば、心筋梗塞、発作、および再灌流障害に起因するもの)、肝障害 (例えば、肝炎に関連する肝障害、虚血/再灌流障害、胆汁うっ滞 (cholestosis) (胆管障害)、および肝癌); 毒素誘導性肝疾患 (例えば、アルコールに起因するもの)、敗血症性ショック、悪液質ならびに食欲不振。

40

【0687】

本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストによって、診断、予後判断、予防および/または処置され得る、過剰増殖性の疾患

50

骨、胸、消化器系、膵臓、腹膜、内分泌腺（副腎、上皮小体、下垂体、精巣、卵巣、胸腺、甲状腺）、眼、頭、および首、神経系（中枢神経および末梢神経）、リンパ系、骨盤、皮膚、柔組織、脾臓、胸郭および泌尿性器路に位置する新生物。

【0688】

同様に、他の過剰増殖障害もまた、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストによって、診断、予後判断、予防および/または処置され得る。このような過剰増殖障害の例としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：高ガンマグロブリン血症、リンパ球増殖障害、パラプロテイン血症、紫斑病、サルコイドーシス、セザリー症候群、ヴァルデンストレームマクログロブリン血症、ゴシェ病、組織球増殖症、および新形成に加えて、上に列挙した器官系に位置する他の任意の過剰増殖障害。

10

【0689】

別の好ましい実施形態は、本発明を使用する遺伝子治療および/またはそのタンパク質融合物またはそのフラグメントによって、異常な細胞分裂を阻害するために本発明のポリヌクレオチドを利用する。

【0690】

従って、本発明は、異常に増殖する細胞中に、本発明のポリヌクレオチドを挿入することによって細胞増殖性障害を処置するための方法を提供し、ここでこのポリヌクレオチドは、その発現を抑制する。

【0691】

本発明の別の実施形態は、個体において細胞増殖性障害を処置する方法を提供し、この方法は、異常な増殖する細胞（単数または複数）に本発明の1つ以上の活性遺伝子コピーを投与する工程を包含する。好ましい実施形態において、本発明のポリヌクレオチドは、そのポリヌクレオチドをコードするDNA配列を発現する際に有効な、組換え発現ベクターを含むDNA構築物である。本発明の別の好ましい実施形態において、本発明のポリヌクレオチドをコードするDNA構築物は、レトロウイルス（またはより好ましくは、アデノウイルスベクター）を利用して処置されるべき細胞中に、挿入される（G. J. Nabelら、PNAS 1999 96: 324~326（本明細書により参考として援用される）を参照のこと）。最も好ましい実施形態において、このウイルスベクターは欠損性であり、そして、非増殖細胞を形質転換せず、増殖する細胞のみ形質転換する。さらに、好ましい実施形態において、単独でか、他のポリヌクレオチドと組み合わせるか、または他のポリヌクレオチドに融合されてのいずれかで、増殖する細胞中に挿入される本発明のポリヌクレオチドは、その後、外部刺激（すなわち、磁気、特定の低分子、化学物質または薬物の投与など）を介して調節され得、この外部刺激は、コードされるタンパク質産物の発現を誘導するように、このポリヌクレオチドの上流のプロモーターに対して作用する。このように、本発明の有益な治療効果は、この外部刺激に基づいて明らかに調節され（すなわち、本発明の発現を増加、減少または阻害し）得る。

20

30

【0692】

本発明のポリヌクレオチドは、腫瘍性遺伝子または抗原の発現を抑制するにおいて有用であり得る。「腫瘍性遺伝子の発現を抑制する」とは、この遺伝子の転写の抑制、この遺伝子転写物（プレメッセージRNA）の分解、スプライシングの阻害、メッセンジャーRNAの破壊、タンパク質の翻訳後改変の妨害、タンパク質の破壊、またはタンパク質の正常な機能の阻害を意図する。

40

【0693】

異常に増殖している細胞への局所投与のために、本発明のポリヌクレオチドは、当業者に公知の任意の方法によって投与され得る。この方法には、トランスフェクション、エレクトロポレーション、細胞の微量注入、もしくはリポソームのようなビヒクル、リポフェクション、または裸のポリヌクレオチドとして、あるいは、本明細書全体を通して記載される任意の他の方法が挙げられるが、これらに限定されない。本発明のポリヌクレオチドは、当業者に公知のレトロウイルスベクター（Gilboa, J. Virology 44

50

: 845 (1982); Hocke, Nature 320: 275 (1986); Wilsonら, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 85: 3014)、ワクシニアウイルス系 (Chakrabartyら, Mol. Cell Biol. 5: 3403 (1985)、または他の効率的なDNA送達系 (Yatesら, Nature 313: 812 (1985))のような公知の遺伝子送達系 (しかし、これらの限定されない)によって送達され得る。これらの参考文献は例示のみであり、そして本明細書中で参考として援用される。異常に増殖している細胞を特異的に送達またはトランスフェクトし、そして非分裂の細胞を残すために、当業者に公知のレトロウイルス、またはアデノウイルス (当該分野において記載され、そして本明細書中の他の箇所において記載されるような)送達系を利用することが好ましい。宿主DNA複製は、レトロウイルスDNAを組み込むために必要とされ、そしてレトロウイルスは、その生活環に必要とされるレトロウイルス遺伝子を欠損するので、自律複製し得ない。本発明のポリヌクレオチドのためにこのようなレトロウイルス送達系を利用することは、この遺伝子および構築物を異常に増殖している細胞へと標的化し、そして分裂していない正常細胞を残す。

10

【0694】

本発明のポリヌクレオチドは、疾患部位に直接的に注射針をガイドするために使用される画像化デバイスを使用することによって、内部の器官、体腔などにおける細胞増殖性障害/疾患の部位に直接的に送達され得る。本発明のポリヌクレオチドはまた、外科的介入の時点で、疾患部位に投与され得る。

【0695】

「細胞増殖性疾患」とは、良性であろうと悪性であろうと、細胞、細胞群、または組織の単一または複数の局所的異常増殖によって特徴付けられる、器官、腔、または身体部分のいずれか1つまたはいずれかの組み合わせに罹患する、ヒトまたは動物の任意の疾患または障害を意味する。

20

【0696】

本発明のポリヌクレオチドの任意の量が、それらが処理された細胞の増殖に対して生物学的に阻害する効果を有する限り、投与され得る。さらに、同一部位に同時に、本発明の1より多くのポリヌクレオチドを投与することが可能である。「生物学的に阻害する」とは、部分的または全体的な増殖阻害、ならびに細胞の増殖または成長の速度減少を意味する。生物学的に阻害性の用量は、組織培養物中の標的悪性疾患または異常に増殖している細胞増殖、動物および細胞培養物中の腫瘍増殖に対する本発明のポリヌクレオチドの効果を評価することによって、または当業者に公知の任意の他の方法によって、決定され得る。

30

【0697】

本発明はさらに、記載された1以上の障害を処置するために、哺乳動物 (好ましくは、ヒト)患者に、抗ポリペプチド抗体および抗ポリヌクレオチド抗体を投与する工程を包含する、抗体に基づく治療に関する。抗ポリペプチド抗体、および抗ポリヌクレオチド抗体であるポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体を産生する方法は、本明細書中の他の箇所で詳細に記載されている。このような抗体は、当該分野で公知または本明細書中に記載のような薬学的に受容可能な組成物において提供され得る。

【0698】

本発明の抗体が治療的に使用され得る様式をまとめると、身体内に局所的または全身的に本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチドを結合させることか、または抗体の直接的な細胞傷害性によるか (例えば、補体 (CDC)によるか、またはエフェクター細胞 (ADCC)によって媒介されるような)が挙げられる。これらのアプローチのいくつかは、以下により詳細に記載される。本明細書中に提供される教示を携えて、当業者は、過度な実験を伴わずに、診断目的、モニタリング目的、または治療目的のために本発明の抗体を使用する方法を知る。

40

【0699】

特に、本発明の抗体、フラグメント、および誘導体は、本明細書中に記載のような細胞の増殖および/または分化障害を有するかまたは発生させている被験体を処置するために有

50

用である。このような処置は、単回用量または複数回用量の抗体、またはそれらのフラグメント、誘導体、もしくは結合体を投与する工程を包含する。

【0700】

本発明の抗体は、他のモノクローナル抗体もしくはキメラ抗体と組み合わせて、またはリンホカインもしくは造血性増殖因子（例えば、抗体と相互作用するエフェクター細胞の数または活性を増加させるように作用する）と組み合わせて、有利なように利用され得る。

【0701】

本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチド（それらのフラグメントを含む）に関連した障害に関するイムノアッセイおよびその障害の治療の両方のために、本発明のポリペプチドもしくはポリヌクレオチド、そのフラグメントもしくは領域に対して高親和性であり、および/またはインビボで強力に阻害および/または中和する抗体、それらのフラグメントもしくは領域を使用することが好ましい。このような抗体、フラグメント、または領域は、好ましくは、ポリヌクレオチドまたはポリペプチド（それらのフラグメントを含む）に対して親和性を有する。好ましい結合親和性としては、 5×10^{-6} M, 10^{-6} M, 5×10^{-7} M, 10^{-7} M, 5×10^{-8} M, 10^{-8} M, 5×10^{-9} M, 10^{-9} M, 5×10^{-10} M, 10^{-10} M, 5×10^{-11} M, 10^{-11} M, 5×10^{-12} M, 10^{-12} M, 5×10^{-13} M, 10^{-13} M, 5×10^{-14} M, 10^{-14} M, 5×10^{-15} M, および 10^{-15} M 未満の解離定数または K_d を有するものが挙げられる。

【0702】

さらに、本発明のポリペプチドは、単独でか、タンパク質融合物としてか、または本明細書中の他の箇所に記載されるように直接的または間接的に他のポリペプチドと組み合わせるかのいずれかで、増殖性の細胞または組織の新脈管形成を阻害するにおいて有用である。最も好ましい実施形態では、この抗新脈管形成作用は、例えば、造血性腫瘍特異的細胞（例えば、腫瘍関連マクロファージ）の阻害を通して、間接的に達成され得る（Joseph IBら, J Natl Cancer Inst, 90(21):1648-53(1998)（本明細書中で参考として援用される）を参照のこと）。本発明のポリペプチドまたはポリヌクレオチドに対して指向した抗体はまた、直接的または間接的に、新脈管形成の阻害を引き起こし得る（Witte Lら, Cancer Metastasis Rev. 17(2):155-61(1998)（本明細書中で参考として援用される）を参照のこと）。

【0703】

本発明のポリペプチド（タンパク質融合物を含む）またはそのフラグメントは、アポトーシスの誘導を通して増殖性の細胞または組織を阻害する際に有用であり得る。このポリペプチドは、例えば、死ドメイン（death-domain）レセプター（例えば、腫瘍壊死因子（TNF）レセプター-1、CD95（Fas/APO-1）、TNFレセプター関連アポトーシス媒介性タンパク質（TRAMP）およびTNF関連アポトーシス誘導リガンド（TRAIL）レセプター-1および-2（Schulze-Osthoff Kら, Eur J Biochem 254(3):439-59(1998)（本明細書中で参考として援用される）を参照のこと）の活性化において、増殖性の細胞および組織のアポトーシスを誘導するように、直接的または間接的のいずれかで作用し得る。さらに、本発明の別の好ましい実施形態では、このポリペプチドは、アポトーシスを活性化する他のタンパク質の活性化におけるような他の機構を通してか、あるいは単独または低分子薬物もしくはアジュバント（例えば、アポプトニン（apoptonin）、ガレクチン（gallectin）、チオレドキシン、抗炎症性タンパク質（例えば、Mutat Res 400(1-2):447-55(1998), Med Hypotheses 50(5):423-33(1998), Chem Biol Interact. Apr 24;111-112:23-34(1998), J Mol Med. 76(6):402-12(1998), Int J Tissue React; 20(1):3-15(1998)（これらはすべて、本明細書中で参考として援用される）を参照

のこと))と組み合わせてかのいずれかで、このタンパク質の発現を刺激することを通して、アポトーシスを誘導し得る。

【0704】

本発明のポリペプチド(それに対するタンパク質融合物を含む)、またはそのフラグメントは、増殖性細胞または組織の転移を阻害する際に有用である。阻害は、本明細書中他の箇所に記載されるように、ポリペプチドまたは上記ポリペプチドに対する抗体を投与する工程の直接的結果として、または間接的に(例えば、転移を阻害することが公知のタンパク質(例えば、4インテグリン)の発現を活性化する)生じ得る(例えば、本明細書中に参考として援用される、Curr Top Microbiol Immunol 1998; 231: 125-41を参照のこと)。本発明のこのような治療的影響は、単独で、または低分子薬物もしくはアジュバントと組み合わせてかのいずれかで達成され得る。

10

【0705】

別の実施形態において、本発明は、本発明のポリペプチドを含む組成物(例えば、ポリペプチドまたは異種ポリペプチドに関連するポリペプチド抗体、異種核酸、毒素、またはプロドラッグを含む組成物)を、本発明のポリペプチドを発現する、標的とされた細胞に送達する方法を提供する。本発明のポリペプチドまたはポリペプチド抗体は、異種ポリペプチド、異種核酸、毒素、またはプロドラッグと、疎水性、親水性、イオン性および/または共有結合的な相互作用を通じて結合され得る。

【0706】

本発明のポリペプチド、それに対するタンパク質融合物、またはそのフラグメントは、増殖性抗原および免疫原に対して、直接的(例えば、本発明のポリペプチドが「ワクチン接種」された場合、上記の抗原および免疫原に対して応答するように免疫応答を生じる)または間接的(例えば、免疫応答を増強することが公知のタンパク質(例えば、ケモカイン)の発現を活性化することにおいて)のいずれかで、増殖している細胞または組織の免疫原性および/または抗原性を増強する際に有用である。

20

【0707】

(腎臓疾患)

本発明のポリヌクレオチドもしくはポリペプチド、抗体および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストを使用して、腎臓系の障害を、処置、予防、診断、および/または予後判定し得る。本発明の組成物を用いて診断、予後判定、予防、および/または処置され得る腎臓疾患としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない: 腎不全、腎炎、腎臓の血管障害、代謝性腎臓障害および先天性腎臓障害、腎臓の尿障害、自己免疫障害、硬化症および壊死、電解質不均等、および腎臓癌。

30

【0708】

本発明の組成物を用いて診断、予後判定、予防、および/または処置され得る腎疾患としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない: 急性腎不全、慢性腎不全、アテローム塞栓症性腎不全、末期腎臓疾患、腎臓の炎症性疾患(例えば、急性糸球体腎炎、感染後糸球体腎炎、急速進行性糸球体腎炎、ネフローゼ症候群、膜性糸球体腎炎、家族性ネフローゼ症候群、膜性増殖性糸球体腎炎IおよびII、メサンギウム増殖性糸球体腎炎、慢性糸球体腎炎、急性尿細管間質性腎炎、慢性尿細管間質性腎炎、急性溶連菌感染後性糸球体腎炎(PSGN)、腎盂腎炎、ループス腎炎、慢性腎炎、間質性腎炎、および溶連菌感染後性糸球体腎炎)、腎臓の血管障害(例えば、腎梗塞形成、アテローム塞栓症性腎臓疾患、皮質壊死、悪性腎硬化症、腎静脈血栓症、腎貫流低下(renal underperfusion)、腎性網膜症(renal retinopathy)、腎虚血再灌流(renal ischemia-reperfusion)、腎動脈塞栓症、および腎動脈狭窄)、そして尿管疾患に起因する腎障害(例えば、腎盂腎炎、水腎症、尿石症(腎結石症、腎石症)、逆流性腎症、尿管感染、尿閉(urinary retention)、および急性または慢性片側閉塞性尿路疾患)。

40

【0709】

50

さらに、本発明の組成物を用いて、腎臓の代謝障害および先天性障害（例えば、尿毒症、腎アミロイドーシス、腎性骨形成異常症、尿細管性アシドーシス、腎性糖尿、腎原性尿崩症、シスチン尿症、ファンコーニ症候群、腎性くる病（renal fibrocystic osteosis (renal rickets)）、ハートナップ病、バーター症候群、リドル症候群、多発性嚢胞腎疾患、髄質嚢胞病、髄質海綿腎、アルポート症候群、爪-膝蓋骨症候群、先天性ネフローゼ症候群、クラッシュ症候群、馬蹄腎、糖尿病性ニューロパシー、腎原性尿崩症、鎮痛薬性腎症、腎結石、および膜性腎症）、ならびに腎臓の自己免疫障害（例えば、全身性エリテマトーデス（SLE）、グッドパスチャー症候群、IgA腎症、およびIgMメサンギウム増殖性糸球体腎炎）を診断、予後判定、予防、および/または処置し得る。

10

【0710】

本発明の組成物はまた、腎臓の硬化性障害または壊死性障害（例えば、糸球体硬化症、糖尿病性腎症、巣状分節状糸球体硬化症（FSGS）、壊死性糸球体腎炎、および腎乳頭壊死）、腎臓の癌（例えば、腎腫、副腎腫、腎芽細胞腫、腎細胞癌、移行上皮癌、腎癌腫、扁平上皮癌、およびウィルムス腫瘍）、ならびに電解質の不均衡（例えば、腎石灰症、膿尿、水腫、水腎症、蛋白尿、低ナトリウム血症、高ナトリウム血症、低カリウム血症、高カリウム血症、低カルシウム血症、高カルシウム血症、低リン酸塩血症、および高リン酸塩血症）を診断、予後判定、予防、および/または処置し得る。

【0711】

ポリペプチドは、送達部位での直接針注入、静脈注射、局所投与、カテーテル注入、微粒子銃インジェクタ（biolistic injector）、粒子加速器（particle accelerator）、ゲルフォームスポンジデポット（gel foam sponge depot）、他の市販のデポット材料、浸透圧ポンプ、経口用または坐剤用の固体の薬学的処方物、手術中のデカント（decanting）または局所塗布、エアゾル送達を含むが、これらに限定されない、当該分野で公知の任意の方法を用いて投与され得る。このような方法は、当該分野で公知である。ポリペプチドは、以下により詳細に記載されるように、治療剤の一部として投与される。ポリペプチドを送達する方法は、本明細書中により詳細に記載される。

20

【0712】

（心臓血管障害）

本発明のポリヌクレオチドもしくはポリペプチド、またはアゴニストもしくはアンタゴニストを使用して、四肢虚血のような末梢動脈疾患を含むがこれらに限定されない、心臓血管障害を処置、予防、診断および/または予後判定し得る。

30

【0713】

心臓血管障害としては、動脈瘤（arterio-arterial fistula）、動静脈瘤、大脳動静脈先天異常、先天性心欠陥（congenital heart defects）、肺動脈弁閉鎖症、およびシミター症候群のような心臓血管異常が挙げられるがこれらに限定されない。先天性心欠陥としては、大動脈縮窄、三房心、冠状脈管奇形（coronary vessel anomalies）、交差心、右胸心、開存性動脈管（patent ductus arteriosus）、エプスタイン奇形、アイゼンメンガー複合体、左心室発育不全症候群、左胸心、ファロー四徴症、大血管転位症、両大血管右室起始症、三尖弁閉鎖症、動脈管遺残、および心中隔欠損症（heart septal defects）（例えば、大動脈肺動脈中隔欠損症（aortopulmonary septal defect）、心内膜床欠損症、リュタンバッシュ症候群、ファロー三徴症、心室心中隔欠損症（ventricular heart septal defects））が挙げられるがこれらに限定されない。

40

【0714】

心臓血管障害としてはまた、不整脈、カルチノイド心臓病、高心拍出量（high cardiac output）、低心拍出量（low cardiac output）、心タンポナーデ、心内膜炎（細菌性を含む）、心臓動脈瘤、心停止、うっ血性心不全、う

50

う血性心筋症、発作性呼吸困難、心臓水腫、心肥大、うっ血性心筋症、左心室肥大、右心室肥大、梗塞後心破裂 (post-infarction heart rupture)、心室中隔破裂、心臓弁疾患、心筋疾患、心筋虚血、心内膜液浸出、心外膜炎 (梗塞性および結核性を含む)、気心膜症、心膜切開後症候群、右心疾患、リウマチ性心疾患、心室機能不全、充血、心臓血管妊娠合併症 (cardiovascular pregnancy complications)、シミター症候群、心血管梅毒、および心血管結核 (cardiovascular tuberculosis) のような心臓病が挙げられるがこれらに限定されない。

【0715】

不整脈としては、洞性不整脈、心房性細動、心房粗動、徐脈、期外収縮、アダムズ-ストークス症候群、脚ブロック、洞房ブロック、長QT症候群 (long QT syndrome)、副収縮、ローン-ギャング-レヴァイン症候群、マヘーム型早期興奮症候群 (Mahaim-type pre-excitation syndrome)、ウルフ-パーキンソン-ホワイト症候群、洞不全症候群、頻拍、および心室性細動が挙げられる。頻拍としては、発作性頻拍、上室性頻拍、心室固有調律促進、房室結節性再入頻拍 (atrioventricular nodal reentry tachycardia)、異所心房性頻拍、異所接合部頻拍、洞房結節性再入頻拍 (sinoatrial nodal reentry tachycardia)、洞性頻拍、トルサード・ド・ポワント、および心室性頻拍が挙げられるがこれらに限定されない。

10

【0716】

心臓弁疾患としては、大動脈弁機能不全症、大動脈弁狭窄症、心雑音 (heart murmur)、大動脈弁逸脱症、僧帽弁逸脱症、三尖弁逸脱症、僧帽弁機能不全、僧帽弁狭窄症、肺動脈弁閉鎖症、肺動脈弁機能不全、肺動脈弁狭窄症、三尖閉鎖症、三尖弁機能不全、および三尖弁狭窄症が挙げられるがこれらに限定されない。

20

【0717】

心筋疾患としては、アルコール性心筋症、うっ血性心筋症、肥大型心筋症、弁下部性大動脈狭搾症、弁下部性肺動脈狭搾症、拘束型心筋症、シャーガス心筋症、心内膜線維弾性症、心内膜心筋線維症、キーンズ症候群、心筋再灌流障害、および心筋炎が挙げられるがこれらに限定されない。

【0718】

心筋性虚血としては、狭心症、冠動脈瘤、冠動脈硬化、冠動脈血栓症、冠動脈血管痙攣、心筋梗塞、および心筋気絶 (myocardial stunning) のような冠動脈疾患が挙げられるが、これらに限定されない。

30

【0719】

心臓血管疾患としてはまた、動脈瘤、血管形成異常、血管腫症、細菌性血管腫症状、ヒッペル-リンダラ疾患 (Hippel-Lindau Disease)、クリペル-トルノー-ウェーバー症候群、スタージ-ウェーバー症候群、血管運動神経性水腫、大動脈疾患、高安動脈炎、大動脈炎、ルリーシュ症候群、動脈閉塞疾患、動脈炎、動脈内膜炎 (endarteritis)、結節性多発性動脈炎、脳血管障害、糖尿病性血管障害、糖尿病性網膜症、塞栓症、血栓症、先端紅痛症、痔、肝静脈閉塞障害、高血圧、低血圧、虚血、末梢血管障害、静脈炎、肺静脈閉塞疾患、高血圧、低血圧、虚血、末梢血管疾患、静脈炎、肺静脈閉塞疾患、レーノー病、CREST症候群、網膜静脈閉塞、シミター症候群、上大静脈症候群、毛細血管拡張症、毛細血管拡張性運動失調 (ataxia telangiectasia)、遺伝性出血性毛細管拡張症、精索静脈瘤、拡張蛇行静脈、静脈瘤性潰瘍、脈管炎、および静脈機能不全のような血管疾患が挙げられる。

40

【0720】

動脈瘤としては、解離性動脈瘤、偽動脈瘤、感染した動脈瘤、破裂した動脈瘤、大動脈性動脈瘤、大脳性動脈瘤、冠動脈瘤、心動脈瘤、および腸骨性動脈瘤が挙げられるがこれらに限定されない。

【0721】

50

動脈閉塞疾患としては、動脈硬化症、間欠性跛行、頸動脈狭窄症、線維筋性形成異常、腸間膜性血管閉塞、モヤモヤ病、腎動脈閉塞、網膜動脈閉塞、および閉塞性血栓性血管炎が挙げられるがこれらに限定されない。

【0722】

脳血管障害としては、頸動脈疾患、脳のアミロイド血管症、大脳動脈瘤、大脳無酸素症、大脳動脈硬化、大脳動静脈先天異常、大脳動脈疾患、大脳の塞栓症および血栓症、頸動脈血栓症、洞血栓症、ヴァレンベルク症候群、大脳出血、硬膜上血腫、硬膜下血腫、クモ膜下出血 (subarachnoid hemorrhage)、大脳梗塞、大脳虚血 (一過性を含む)、鎖骨下動脈盗血症候群、室周白軟化症 (periventricular leukomalacia)、血管性頭痛、群発性頭痛、片頭痛、および椎骨基部 (vertebrobasilar) 機能不全が挙げられるがこれらに限定されない。

10

【0723】

塞栓症としては、空気塞栓症、羊水塞栓症、コレステロール塞栓症、爪先チアノーゼ症候群、脂肪塞栓症、肺動脈塞栓症、および血栓塞栓症が挙げられるがこれらに限定されない。血栓症としては、冠状動脈血栓症、肝静脈血栓症、網膜静脈閉塞、頸動脈血栓症、洞血栓症、ヴァレンベルク症候群、および血栓性静脈炎が挙げられるがこれらに限定されない。

【0724】

虚血としては、大脳虚血、虚血性大腸炎、仕切り症候群 (compartment syndrome)、前仕切り症候群 (anterior compartment syndrome)、心筋虚血、再灌流傷害、および末梢四肢虚血が挙げられるがこれらに限定されない。脈管炎としては、大動脈炎、動脈炎、ベーチェット (Behcet) 症候群、チャグ-ストラウス症候群、粘膜皮膚リンパ節症候群、閉塞性血栓性血管炎、過敏性血管炎、シェンライン-ヘーノホ紫斑病 (Schoenlein-Henoch purpura)、アレルギー性皮膚血管炎およびヴェーゲナー肉芽腫症が挙げられるがこれらに限定されない。

20

【0725】

ポリペプチドは、当該分野で公知である任意の方法を使用して投与され得、これらの方法としては、送達部位における直接的針注射、静脈内注射、局所投与、カテーテル注入、微粒子銃 (biolistic) 注射、粒子加速器、ゲルフォームスポンジデポー、他の市販デポー物質、浸透圧ポンプ、経口または坐剤の固形薬学的処方物、手術中のデカンティングまたは局所適用、エアロゾル送達も挙げられるが、これらに限定されない。そのような方法は当該分野で公知である。ポリペプチドは、下記でより詳細に記載される、治療剤 (Therapeutic) の一部として投与され得る。ポリヌクレオチドを送達する方法は、本明細書中でより詳細に記載される。

30

【0726】

(呼吸障害)

本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、またはアゴニストもしくはアンタゴニストを用いて、呼吸器系の疾患および/または障害を、処置、診断および/または予後判定し得る。

40

【0727】

呼吸器系の疾患および障害としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：鼻前庭炎 (nasal vestibulitis)、非アレルギー性鼻炎 (例えば、急性鼻炎、慢性鼻炎、アトピー性鼻炎、血管運動神経性鼻炎)、鼻ポリープ、ならびに静脈洞炎、若年性血管線維腫、鼻の癌および若年性乳頭腫、声帯結節 (歌手結節)、接触潰瘍 (contact ulcer)、声帯結節麻痺、喉頭気腫、咽頭炎 (例えば、ウイルス性および細菌性)、扁桃炎、扁桃蜂巣炎、副咽頭間隙膿瘍、喉頭炎、喉頭気腫、ならびに咽喉癌 (例えば、鼻咽頭の癌、扁桃癌、咽頭癌)、肺癌 (例えば、扁平上皮癌、小細胞 (燕麦細胞) 癌、大細胞癌、および腺癌)、アレルギー性障害 (好酸球性肺炎、過敏性肺炎 (例えば、外因性アレルギー性肺胞炎、アレルギー性間質性肺炎、有機塵肺症、アレルギー性

50

気管支肺アスペルギルス症、喘息、ヴェーゲナー肉芽腫症（肉芽腫性脈管炎）、グッドパスチャー症候群）、肺炎（例えば、細菌性肺炎（*Streptococcus pneumoniae*（連鎖球菌性肺炎）、*Staphylococcus aureus*（ブドウ球菌性肺炎）、グラム陰性細菌性肺炎（例えば、*Klebsiella*および*Pseudomonas* spp.により引き起こされる）、*Mycoplasma pneumoniae*肺炎、*Hemophilus influenzae*肺炎、*Legionella pneumophila*（レジオネラ症）、および*Chlamydia psittaci*（オウム病））、ならびにウイルス性肺炎（例えば、インフルエンザ、水痘（*varicella*））。

【0728】

呼吸器系のさらなる疾患および障害としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：細気管支炎、ポリオ（灰白髄炎）、クループ、RSウイルス感染、おたふくかぜ、伝染性紅斑（第五病）、小児バラ疹、進行性風疹汎脳炎（*progressive rubella panencephalitis*）、風疹、および亜急性硬化性汎脳炎）、真菌性肺炎（例えば、ヒストプラズマ症、コクシジオイデス真菌症、プラストミセス症、重篤に抑制された免疫系を有する人における真菌感染（例えば、*Cryptococcus neoformans*により引き起こされる、クリプトコックス症；*Aspergillus* spp.により引き起こされる、アスペルギルス症；*Candida*により引き起こされる、カンジダ症；およびムコール症）、*Pneumocystis carinii*（ニューモシステイス肺炎）、異型肺炎（例えば、*Mycoplasma*および*Chlamydia* spp.）、日和見感染肺炎、院内感染肺炎、化学物質肺炎、および吸引性肺炎、胸膜障害（例えば、胸膜炎、胸水、および気胸症（例えば、単純自然気胸、併発自然気胸、緊張性気胸））、閉塞性気道疾患（例えば、喘息、慢性閉塞性肺疾患（COPD）、気腫、慢性または急性気管支炎）、職業性肺疾患（例えば、珪肺症、黒色肺（炭坑夫塵肺症）、石綿沈着症、ペリリウム症、職業性喘息、および良性塵肺症）、浸潤性肺疾患（例えば、肺線維症（例えば、線維化肺胞炎、通常型間質性肺炎）、特発性肺線維症、剥離性間質性肺炎、リンパ球性間質性肺炎、原因不明性組織球増殖症（例えば、レテラー-ジーヴェ病、ハンド-シュラー-クリスチャン病、好酸球性肉芽腫）、特発性肺ヘモジデリン沈着症、サルコイドーシス、および肺胞性蛋白症）、急性呼吸窮迫症候群（例えば、成人呼吸促進症候群とも呼ばれる）、水腫、肺動脈塞栓症、気管支炎（例えば、ウイルス性、細菌性）、気管支拡張症、無気肺、肺膿瘍（例えば、*Staphylococcus aureus*または*Legionella pneumophila*により引き起こされる）、ならびに嚢胞性線維症。

【0729】

（抗新脈管形成活性）

新脈管形成の内因性の、刺激因子とインヒビターとの間の天然に存在する平衡は、阻害影響が優勢である平衡である。Rastinejadら、*Cell* 56:345~355（1989）。新生血管形成が正常な生理学的条件下において生じるまれな場合（例えば、創傷治癒、器官再生、胚発生、および雌性生殖プロセス）において、新脈管形成は、厳密に調節され、そして空間的および時間的に定められる。病的な新脈管形成の条件（例えば、固形腫瘍増殖を特徴付ける）の下において、これらの調節の制御はできない。調節されていない新脈管形成は病的になり、そして多くの新生物性疾患および非新生物性疾患の進行を維持する。多くの重篤な疾患は、固形腫瘍の増殖および転移、関節炎、いくつかの型の眼の障害および乾癬を含む、異常な新生血管形成により支配される。例えば、Mosèsら、*Biotech.* 9:630~634（1991）；Folkmanら、*N. Engl. J. Med.*、333:1757~1763（1995）；Auerbachら、*J. Microvasc. Res.* 29:401~411（1985）；Folkman、*Advances in Cancer Research*、KleinおよびWeinhouse編、*Academic Press*、New York、175~203頁（1985）；Patz、*Am. J. Ophthalmol.* 94:715~743（1

10

20

30

40

50

982) ; および Folkmanら、Science 221 : 719 ~ 725 (1983) による概説を参照のこと。多くの病的状態において、新脈管形成のプロセスは、その疾患状態に寄与する。例えば、固形腫瘍の増殖が新脈管形成に依存することを示唆する有意なデータが蓄積されている。Folkman および Klagsbrun、Science 235 : 442 ~ 447 (1987)。

【0730】

本発明は、本発明のポリヌクレオチドおよび/またはポリペプチド、ならびに本発明のアゴニストまたはアンタゴニストの投与による新生血管形成に関連する疾患または障害の処置を提供する。本発明のポリヌクレオチドおよびポリペプチド、またはアゴニストもしくはアンタゴニストを用いて処置し得る悪性状態および転移性状態には、本明細書に記載の悪性疾患、固形腫瘍、および癌、ならびに当該分野で公知の他のもの(このような障害の総説については、Fishmanら、Medicine、第2版、J. B. Lippincott Co., Philadelphia (1985) を参照のこと) が挙げられるが、これらに限定されない。従って、本発明は、新脈管形成関連疾患および/または障害の処置の方法を提供し、この方法は、治療有効量の、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、アンタゴニストおよび/またはアゴニストを、その処置の必要な個体に投与する工程を包含する。例えば、ポリヌクレオチド、ポリペプチド、アンタゴニストおよび/またはアゴニストは、癌または腫瘍を治療的に処置するために、種々のさらなる方法で利用され得る。ポリヌクレオチド、ポリペプチド、アンタゴニストおよび/またはアゴニストで処置され得る癌としては、前立腺癌、肺癌、乳癌、卵巣癌、胃癌、膵臓癌、喉頭癌、食道癌、精巣癌、肝臓癌、耳下腺癌、胆管癌、結腸癌、直腸癌、頸部癌、子宮癌、子宮内膜癌、腎臓癌、膀胱癌、甲状腺癌を含む固形腫瘍；原発性腫瘍および転移；黒色腫；膠芽腫；カポージ肉腫；平滑筋肉腫；非小細胞肺癌；結腸直腸癌；進行性(advanced)悪性疾患；および血液から生じる腫瘍(例えば、白血病)が挙げられるが、これらに限定されない。例えば、ポリヌクレオチド、ポリペプチド、アンタゴニストおよび/またはアゴニストは、皮膚癌、頭頸部腫瘍、乳房腫瘍およびカポージ肉腫のような癌を処置するために、局所送達され得る。

【0731】

なお他の局面において、ポリヌクレオチド、ポリペプチド、アンタゴニストおよび/またはアゴニストは、例えば膀胱内投与によって膀胱癌の表面形態を処置するために利用され得る。ポリヌクレオチド、ポリペプチド、アンタゴニストおよび/またはアゴニストは、腫瘍に直接的に、または注射もしくはカテーテルを介して腫瘍部位付近に送達され得る。当然のことながら、当業者が理解するように、適切な投与様式は、処置されるべき癌によって変化する。他の送達様式は本明細書中において議論される。

【0732】

ポリヌクレオチド、ポリペプチド、アンタゴニストおよび/またはアゴニストは、癌に加えて、他の障害(新脈管形成を含む)を処置する際に有用であり得る。これらの障害としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：良性腫瘍(例えば、血管腫、聴神経腫、神経線維腫、トラコーマ、および化膿性肉芽腫)；動脈硬化プラーク；眼の脈管形成疾患(例えば、糖尿病性網膜症、未熟網膜症、黄斑変性、角膜移植拒絶、血管新生緑内障、水晶体後線維増殖、ルベオシス、網膜芽細胞腫、ブドウ膜炎(uvietis)および眼の翼状片(Pterygia)(異常な血管増殖))；慢性関節リウマチ；乾癬；遅延型創傷治癒；子宮内膜症；脈管形成；顆粒化；過形成性癒痕(ケロイド)；偽関節骨折；強皮症；トラコーマ；血管接着；心筋の新脈管形成；冠状側副枝(coronary collaterals)；大脳側副枝；動静脈奇形；虚血性四肢新脈管形成；オスラー-ウェーバー(Osler-Weber)症候群；プラーク新生血管形成；毛細血管拡張症；血友病性関節；血管線維腫；線維筋性形成異常；創傷顆粒化；クローン病；およびアテローム性動脈硬化症。

【0733】

例えば、本発明の1つの局面において、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、アン

10

20

30

40

50

タゴニストおよび/またはアゴニストを過形成性癬痕またはケロイドに投与する工程を包含する、過形成性癬痕およびケロイドを処置するための方法が提供される。

【0734】

本発明の1つの実施形態において、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、アンタゴニストおよび/またはアゴニストは、過形成性癬痕またはケロイドに、これらの病変の進行を妨げるために直接注射される。この治療は、過形成性癬痕およびケロイド（例えば、やけど）の発生を生じることが知られている状態の予防処置において特に価値があり、そして好ましくは、増殖期が進行する時間（最初の傷害の約14日後）を経た後であるが、過形成性癬痕またはケロイドの発生の前に開始される。上述のように、本発明はまた、眼の新生血管形成疾患（例えば、角膜新生血管形成、血管新生緑内障、増殖性糖尿病網膜症、水晶体後線維増殖および黄斑変性を含む）を処置するための方法を提供する。

10

【0735】

さらに、本発明のポリヌクレオチドおよびポリペプチド（アゴニストおよび/またはアンタゴニストを含む）を用いて処置され得る新生血管形成に関連する眼の障害としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：血管新生緑内障、糖尿病網膜症、網膜芽細胞腫、水晶体後線維増殖症、ブドウ膜炎、未熟児網膜症、黄斑変性、角膜移植新生血管形成、ならびに他の眼の炎症性疾患、眼の腫瘍、および脈絡膜または虹彩の新生血管形成に関連する疾患。例えば、Waltmanら、Am. J. Ophthalmol. 85: 704~710 (1978) および Gartnerら、Surv. Ophthalmol. 22: 291~312 (1978) による総説を参照のこと。

20

【0736】

従って、本発明の1つの局面において、血管の形成が阻害されるように、治療有効量の化合物（上記）を患者に対して角膜に投与する工程を包含する、角膜新生血管形成（角膜移植新生血管形成を含む）のような眼の新生血管形成疾患を処置するための方法が提供される。簡潔には、角膜は、通常には血管を欠く組織である。しかし、特定の病的状態において、毛細血管は、縁の角膜周囲脈管叢から角膜に伸長し得る。角膜が血管化される場合、角膜はまた混濁され、患者の視力の衰えを生じる。角膜が完全に不透明になる（opacity）場合に、完全に視力喪失になり得る。広範な種々の障害は、例えば、以下を含む角膜新生血管形成を生じ得る：角膜感染（例えば、トラコーマ、単純ヘルペス角膜炎、リーシュマニア症およびオンコセルカ症）、免疫学的プロセス（例えば、移植片拒絶およびスティーヴンズ-ジョンソン症候群）、アルカリやけど、外傷、炎症（任意の原因による）、毒性および栄養欠乏状態、ならびにコンタクトレンズを装着することの合併症として。

30

【0737】

本発明の特に好ましい実施形態において、生理食塩水（眼科用調製物において一般に使用される任意の保存剤および抗菌剤と組合せて）中で局所投与のために調製され得、そして点眼剤形態で投与され得る。溶液または懸濁液は、純粋な形態で調製され、そして1日に数回投与され得る。あるいは、上記のように調製される抗脈管形成組成物はまた、角膜に直接投与され得る。好ましい実施形態において、抗脈管形成組成物は、角膜に結合する粘膜炎接着性ポリマーとともに調製される。さらなる実施形態において、抗脈管形成因子または抗脈管形成組成物は、従来のステロイド治療に対する補助剤として利用され得る。局所治療はまた、脈管形成応答（例えば、化学的やけど）を誘導する高い可能性を有することが公知の角膜病変において予防的に有用であり得る。これらの場合において、処置（おそらくステロイドと組み合わせられる）は、その後の合併症を予防するのを補助するために直ちに開始され得る。

40

【0738】

他の実施形態において、上記の化合物は、角膜支質に直接、顕微鏡下での誘導のもとで眼科医によって注入され得る。好ましい注射部位は、個々の病巣の形態で変化し得るが、投与の目標は、脈管構造の前進している面に組成物を置くこと（すなわち、血管と正常な角膜との間に分散される）である。ほとんどの場合において、これは、前進している血管が

50

ら角膜を「防御」するための縁周囲 (p e r i l i m b i c) 角膜注射を含む。この方法はまた、角膜新生血管形成を予防的に防ぐために、角膜傷害の直後に利用され得る。この状況において、この物質は、角膜病巣とその所望されない潜在的な血液供給の縁との間に分散して縁周囲角膜に注射され得る。このような方法はまた、類似の様式で、移植された角膜の毛細血管侵入を予防するために利用され得る。徐放形態において、注入は、1年に2～3回のみ必要とされ得る。ステロイドもまた、注入溶液に添加され、その注射自体から生じる炎症を低減し得る。

【0739】

本発明の別の局面において、患者に、血管の形成を阻害するように、治療有効量のポリヌクレオチド、ポリペプチド、アンタゴニストおよび/またはアゴニストを眼に投与する工程を包含する、血管新生緑内障を処置するための方法が提供される。1つの実施形態において、化合物は、血管新生緑内障の早期形態を処置するために、眼に局所投与され得る。他の実施形態において、化合物は、前眼房角 (a n t e r i o r c h a m b e r a n g l e) の領域への注入によって移植され得る。他の実施形態において、化合物はまた、化合物が眼房水に連続的に放出されるように、任意の位置に配置され得る。本発明の別の局面において、患者に、血管の形成が阻害されるように、治療有効量のポリヌクレオチド、ポリペプチド、アンタゴニストおよび/またはアゴニストを眼に投与する工程を包含する、増殖性糖尿病性網膜症を処置するための方法が提供される。

10

【0740】

本発明の特に好ましい実施形態において、増殖性糖尿病性網膜症は、網膜におけるポリヌクレオチド、ポリペプチド、アンタゴニストおよび/またはアゴニストの局所濃度を増加させるために、眼房水または硝子体への注入によって処置され得る。好ましくは、この処置は、光凝固を必要とする重篤な疾患の獲得の前に開始されるべきである。

20

【0741】

本発明の別の局面において、患者に、血管の形成が阻害されるように、治療有効量のポリヌクレオチド、ポリペプチド、アンタゴニストおよび/またはアゴニストを眼に投与する工程を包含する、水晶体後線維増殖症を処置するための方法が、提供される。化合物は、硝子体内注射を介して、および/または眼内移植を介して局所投与され得る。

【0742】

さらに、このポリヌクレオチド、ポリペプチド、アゴニストおよび/またはアゴニストで処置され得る障害としては、以下が挙げられるが、それらに限定されない：血管腫、関節炎、乾癬、血管線維腫、アテローム性動脈硬化症斑、遅延型創傷治癒、顆粒化、血友病性関節、過形成性癒痕、偽関節骨折、オースラー-ウェーバー症候群、化膿性肉芽腫、強皮症、トラコーマ、および血管接着。

30

【0743】

さらに、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、アゴニストおよび/またはアゴニストで処置、予防、診断および/または予後判断され得る障害および/または状態としては、以下が挙げられるが、それらに限定されない：固形腫瘍、血液由来の (b l o o d b o r n) 腫瘍 (例えば、白血病)、腫瘍転移、カポジ肉腫、良性腫瘍 (例えば、血管腫、聴神経鞘腫、神経線維腫、トラコーマ、および化膿性肉芽腫)、慢性関節リウマチ、乾癬、眼の脈管形成疾患 (例えば、糖尿病性網膜症、未熟児網膜症、黄斑変性、角膜移植拒絶、血管新生緑内障、水晶体後線維増殖症、ルベオーシス、網膜芽細胞腫、およびブドウ膜炎)、遅延型創傷治癒、子宮内膜症、脈管形成、顆粒化、過形成性癒痕 (ケロイド)、偽関節骨折、強皮症、トラコーマ、血管接着、心筋の新脈管形成、冠状側副枝 (c o r o n a r y c o l l a t e r a l s)、大脳側副枝、動静脈奇形、虚血性四肢新脈管形成、オースラー-ウェーバー症候群、プラーク新生血管形成、毛細血管拡張症、血友病性関節、血管線維腫、線維筋性形成異常、創傷顆粒化、クローン病、アテローム性動脈硬化症、産児制限薬剤 (月経を制御する、胎芽着床のために必要な血管新生を予防することによる)、病気の結果 (例えば、ネコ引っかき病 (R o c h e l e m i n a l i a q u i n t o s a)、潰瘍 (ヘリコバクターピロリ (H e l i c o b a c t e r p y l o r i

40

50

))、バルトネラ症および細菌性血管腫症状)のような新脈管形成を有する疾患。

【0744】

出産制限方法の1つの局面において、胎芽着床をブロックするに十分な化合物の量は、性交および受精が起こる前またはその後に投与され、このようにして出産制限の有効な方法、おそらく「事後用(morning after)」方法を提供する。ポリヌクレオチド、ポリペプチド、アゴニストおよび/またはアゴニストはまた、月経を制御することにおいて使用され得るか、または子宮内膜症の処置における腹膜洗浄液として、もしくは腹膜移植のためのいずれかで投与され得る。

【0745】

本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、アゴニストおよび/またはアゴニストは、縫合(stitch)肉芽腫を予防するために、外科縫合に組み込まれ得る。 10

【0746】

ポリヌクレオチド、ポリペプチド、アゴニストおよび/またはアゴニストは、広範な種々の外科手順において利用され得る。例えば、本発明の1つの局面において、組成物(例えば、スプレーまたはフィルムの形態において)は、悪性組織から正常な周囲の組織を分離するため、そして/または周囲の組織への疾患の広がりを防ぐために、腫瘍の除去の前に、領域をコートまたはスプレーするために利用され得る。本発明の他の局面において、組成物(例えば、スプレーの形態において)は、腫瘍をコートするため、または所望の場所において新脈管形成を阻害するために、内視鏡手順を介して送達され得る。本発明のなお他の局面において、本発明の抗脈管形成組成物でコートされている外科メッシュが、外科メッシュが利用され得る任意の手順で利用され得る。例えば、本発明の1つの実施形態において、抗脈管形成組成物を含む外科メッシュは、構造に対する支持を提供するため、そして一定の量の抗脈管形成因子を放出するために、腹部癌切除手術の間(例えば、結腸切除の後)に利用され得る。 20

【0747】

本発明のさらなる局面において、癌の局所的再発およびその部位での新しい血管の形成が阻害されるように、切除後にポリヌクレオチド、ポリペプチド、アゴニストおよび/またはアゴニストを腫瘍の切除縁に投与する工程を包含する、腫瘍切除部位を処置するための方法が提供される。本発明の1つの実施形態において、抗脈管形成化合物は、腫瘍切除部位に直接投与される(例えば、塗布、ブラッシング(brushing)、または他の方法で抗脈管形成化合物で腫瘍の切除縁をコートすることによって適用される)。あるいは、抗脈管形成化合物は、投与前に公知の外科ペーストに組み込まれ得る。本発明の特に好ましい実施形態において、抗脈管形成化合物は、悪性疾患についての肝切除後および神経外科手術後に適用される。 30

【0748】

本発明の1つの局面において、ポリヌクレオチド、ポリペプチド、アゴニストおよび/またはアゴニストは、広範な種々の腫瘍(例えば、乳房腫瘍、結腸腫瘍、脳腫瘍および肝腫瘍を含む)の切除縁に投与され得る。例えば、本発明の1つの実施形態において、抗脈管形成化合物は、切除後に、神経学的腫瘍の部位に、その部位での新しい血管の形成が阻害されるように投与され得る。 40

【0749】

本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、アゴニストおよび/またはアゴニストはまた、他の抗脈管形成因子とともに投与され得る。他の抗脈管形成因子の代表的な例としては以下が挙げられる: 抗侵襲性因子、レチノイン酸およびその誘導体、パクリタキセル、スラミン、メタロプロテイナーゼ-1の組織インヒビター、メタロプロテイナーゼ-2の組織インヒビター、プラスミノゲン活性化インヒビター-1、プラスミノゲン活性化インヒビター-2および種々の形態のより軽い「d群」遷移金属。

【0750】

より軽い「d群」遷移金属には、例えばバナジウム、モリブデン、タングステン、チタン、ニオブおよびタンタル種が挙げられる。そのような遷移金属種は、遷移金属錯体を形成 50

し得る。上記の遷移金属種の適切な錯体としては、オキソ遷移金属錯体が挙げられる。

【0751】

バナジウム錯体の代表的な例としては、バナデート錯体およびバナジル錯体のようなオキソバナジウム錯体が挙げられる。適切なバナデート錯体としては、例えばメタバナジン酸アンモニウム、メタバナジン酸ナトリウムおよびオルトバナジン酸ナトリウムのようなメタバナデート錯体およびオルトバナデート錯体が挙げられる。適切なバナジル錯体としては、例えばバナジリアセチルアセトネートおよび硫酸バナジル（硫酸バナジルー水和物および硫酸バナジル三水和物のような硫酸バナジル水和物を含む）が挙げられる。

【0752】

タングステン錯体およびモリブデン錯体の代表的な例としてはまた、オキソ錯体が挙げられる。適切なオキソタングステン錯体としては、タングステート錯体およびタングステンオキシド錯体が挙げられる。適切なタングステート錯体としては、タングステン酸アンモニウム、タングステン酸カルシウム、タングステン酸ナトリウム二水和物およびタングステン酸が挙げられる。適切なタングステンオキシドとしては、タングステン（IV）オキシドおよびタングステン（VI）オキシドが挙げられる。適切なオキソモリブデン錯体としては、モリブデート、モリブデンオキシドおよびモリブデニル錯体が挙げられる。適切なモリブデート錯体としては、モリブデン酸アンモニウムおよびその水和物、モリブデン酸ナトリウムおよびその水和物、ならびにモリブデン酸カリウムおよびその水和物が挙げられる。適切なモリブデンオキシドとしては、モリブデン（VI）オキシド、モリブデン（VI）オキシドおよびモリブデン酸が挙げられる。適切なモリブデニル錯体としては、例えばモリブデニリアセチルアセトネートが挙げられる。他の適切なタングステン錯体およびモリブデン錯体としては、例えばグリセロール、酒石酸および糖由来のヒドロキソ誘導体が挙げられる。

【0753】

広範な種々の他の抗脈管形成因子もまた、本発明の状況において利用され得る。代表的な例としては、以下が挙げられる：血小板因子4；硫酸プロタミン；硫酸化キチン誘導体（クイーンクラブ（queen crab）の殻から調製される）（Murataら、Cancer Res. 51: 22~26、1991）；硫酸化多糖ペプチドグリカン複合体（SP-PG）（この化合物の機能は、ステロイド（例えば、エストロゲン）およびクエン酸タモキシフェンの存在によって、増強され得る）；スタウロスポリン；基質代謝の調節因子（例えば、プロリンアナログ、シスヒドロキシプロリン、d, L-3, 4-デヒドロプロリン、チアプロリン、 α -ジピリジル、アミノプロピオニトリルフマレートを含む）；4-プロピル-5-(4-ピリジニル)-2(3H)-オキサゾロン；メトトレキサート；ミトザントロン；ヘパリン；インターフェロン；2マクログロブリン-血清；ChIMP-3（Pavloffら、J. Bio. Chem. 267: 17321~17326、1992）；キモスタチン（Tomkinsonら、Biochem J. 286: 475~480、1992）；シクロデキストリンテトラデカサルフェート；エポネマイシン；カンプトテシン；フマギリン（Ingberら、Nature 348: 555~557、1990）；チオリング酸金ナトリウム（「GST」；MatsubaraおよびZiff、J. Clin. Invest. 79: 1440~1446、1987）；アンチコラゲナーゼ-血清；2-抗プラスミン（Holmesら、J. Biol. Chem. 262(4): 1659~1664、1987）；ピサントレン（National Cancer Institute）；ロベンザリット二ナトリウム（N-(2)-カルボキシフェニル-4-クロロアントロニル酸（chloroanthronilic acid）二ナトリウム、すなわち「CCA」；Takeuchiら、Agents Actions 36: 312~316、1992）；サリドマイド；Angostaticステロイド；AGM-1470；カルボキシアミノイミダゾール（carboxyaminolimidazole）；およびメタロプロテインナーゼインヒビター（例えば、BB94）。

【0754】

10

20

30

40

50

(細胞レベルでの疾患)

ポリヌクレオチドまたはポリペプチド、ならびに本発明のアンタゴニストまたはアゴニストを使用して処置、予防、診断および/または予後判定され得る細胞生存の増大あるいはアポトーシスの阻害に関連する疾患には、癌(例えば、濾胞性リンパ腫、p53変異を有する癌腫、およびホルモン依存性腫瘍、これらは以下:結腸癌、心臓腫瘍、膵臓癌、黒色腫、網膜芽細胞腫、神経膠芽細胞腫、肺癌、腸癌、精巣癌、胃癌、神経芽細胞腫、粘液腫、筋腫、リンパ腫、内皮腫、骨芽細胞腫、骨巨細胞腫、骨肉腫、軟骨肉腫、腺腫、乳癌、前立腺癌、カポジ肉腫および卵巣癌を含むが、これらに限定されない);自己免疫障害(例えば、多発性硬化症、シェーグレン症候群、橋本甲状腺炎、胆汁性肝硬変、ベーチェット病(Behcet's disease)、クローン病、多発性筋炎、全身性エリテマトーデスおよび免疫関連糸球体腎炎ならびに慢性関節リウマチ)およびウイルス感染(例えば、ヘルペスウイルス、ポックスウイルスおよびアデノウイルス)、炎症、対宿主性移植片病、急性移植片拒絶、ならびに慢性移植片拒絶、が挙げられる。

10

【0755】

好ましい実施形態において、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、および/またはアンタゴニストは、特に上記に列挙される、癌の増殖、進行、および/または転移(metastasis)を阻害するために使用される。

【0756】

本発明のポリヌクレオチドもしくはポリペプチド、またはアゴニストもしくはアンタゴニストによって処置あるいは検出され得る細胞生存の増大に関連するさらなる疾患または状態には、悪性疾患の進行および/または転移ならびに以下のような関連する障害が挙げられるが、これらに限定されない:白血病(急性白血病(例えば、急性リンパ性白血病、急性骨髄性白血病(骨髄芽球性、前骨髄球性、骨髄単球性、単球性および赤白血病を含む)を含む)ならびに慢性白血病(例えば、慢性骨髄性(顆粒球性)白血病および慢性リンパ球性白血病))、真性赤血球増加症、リンパ腫(例えば、ホジキン病および非ホジキン病)、多発性骨髄腫、ヴァルデンストレームマクログロブリン血症、H鎖病、ならびに固形腫瘍(肉腫および癌腫(例えば、線維肉腫、粘液肉腫、脂肪肉腫、軟骨肉腫、骨原性肉腫、脊索腫、血管肉腫、内皮肉腫(endotheliosarcoma)、リンパ管肉腫、リンパ管内皮腫、骨膜腫、中皮腫、ユーイング腫瘍、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、結腸癌腫、膵臓癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、扁平上皮癌、基底細胞癌、腺癌、汗腺癌、皮脂腺癌、乳頭状癌、乳頭状腺癌、嚢胞腺癌、髄様癌、気管支原生癌、腎細胞癌、肝細胞癌腫、胆管癌、絨毛癌、セミノーマ、胎生期癌、ウィルムス腫瘍、頸部癌、精巣腫瘍、肺癌、小細胞肺癌、膀胱癌、上皮癌、神経膠腫、神経膠星状細胞腫、髄芽細胞腫、頭蓋咽頭腫、脳室上衣細胞腫、松果体腫、血管芽細胞腫、聴神経腫、乏突起神経膠腫、髄膜腫(meningioma)、黒色腫、神経芽細胞腫、および網膜芽細胞腫)を含むが、これらに限定されない)。

20

30

【0757】

本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチド、およびアンタゴニストまたはアゴニストによって処置または予防、診断、および/または予後判定され得るアポトーシスの増大に関連する疾患には、以下が挙げられる: AIDS; 神経変性障害(例えば、アルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症、色素性網膜炎、小脳変性および脳腫瘍または以前に関連した疾患); 自己免疫障害(例えば、多発性硬化症、シェーグレン症候群、橋本甲状腺炎、胆汁性肝硬変、ベーチェット病(Behcet's disease)、クローン病、多発性筋炎、全身性エリテマトーデスおよび免疫関連糸球体腎炎ならびに慢性関節リウマチ)、脊髄形成異常症候群(例えば、再生不良性貧血)、対宿主性移植片病、虚血性傷害(心筋梗塞、発作および再灌流傷害によって生じるようなもの)、肝臓傷害(例えば、肝炎関連肝臓傷害、虚血/再灌流傷害、胆汁うっ滞(cholestosis)(胆管傷害)および肝臓癌); 毒物誘導性肝臓疾患(アルコールによって引き起こされるようなもの)、敗血症性ショック、悪液質ならびに食欲不振。

40

【0758】

50

(創傷治癒および上皮細胞増殖)

本発明のなおさらなる局面に従って、本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチド、およびアゴニストまたはアンタゴニストを、治療目的のため、例えば、創傷治癒の目的のために上皮細胞増殖および基底ケラチノサイトを刺激するため、ならびに毛包産生および皮膚創傷の治癒を刺激するために、利用するためのプロセスが提供される。本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチド、およびアゴニストまたはアンタゴニストは、以下を含む創傷治癒を刺激することにおいて臨床的に有用であり得る：外科的創傷、切除の創傷、深い創傷（真皮および表皮の損傷を含む）、眼組織の創傷、歯の組織の創傷、口腔の創傷、糖尿病性潰瘍、皮膚の潰瘍、肘の潰瘍、動脈性の潰瘍、静脈うっ滞潰瘍、熱への曝露または化学物質による熱傷、および他の異常な創傷治癒状態（例えば、尿毒症、栄養失調、ビタミン欠乏、ならびにステロイド、放射能療法および抗腫瘍性薬物および代謝拮抗物質を用いる全身性処置に関連する合併症。本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチド、およびアゴニストまたはアンタゴニストは、皮膚の欠失後の皮膚の回復を促進するために使用され得る。

10

【0759】

本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチド、およびアゴニストまたはアンタゴニストは、創傷床（wound bed）への皮膚移植片の付着を増大するため、および創傷床からの再上皮形成を刺激するために使用され得る。以下は、本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチド、アゴニストまたはアンタゴニストが創傷床への付着を増大するために使用され得る、移植片の型である：自家移植片、人工皮膚、同種移植片（allograft）、自己植皮片、自己表皮移植片（autoepidermic graft）、無血管性（avascular）移植片、ブレア-ブラウン移植片、骨移植片、胚胎組織移植片、真皮移植片、遅延移植片、皮膚移植片、表皮移植片、筋膜移植片、全層皮膚移植片、異種移植片（heterologous graft）、異種移植片（xenograft）、同種移植片（homologous graft）、増殖性移植片、層板状の移植片、網状移植片、粘膜移植片、オリエ-ティールシュ移植片、大網移植片（omentopial graft）、パッチの移植片、茎状移植片、全層移植片（penetrating graft）、分層植皮片、分層皮膚移植片。本発明のポリヌクレオチドもしくはポリペプチド、ならびにアゴニストもしくはアンタゴニストは、皮膚の強度を助長するため、および高齢の皮膚の外見を改善するために使用され得る。

20

30

【0760】

本発明のポリヌクレオチドもしくはポリペプチド、ならびにアゴニストもしくはアンタゴニストはまた、肝細胞増殖、および肺、乳房、膵臓、胃、小腸（small intestine）、および大腸における上皮細胞増殖における変化を生じると考えられる。本発明のポリヌクレオチドもしくはポリペプチド、ならびにアゴニストもしくはアンタゴニストは、上皮細胞（例えば、皮脂細胞（sebocyte）、毛包、肝実質細胞、肺胞上皮細胞II型（type II pneumocyte）、ムチン産生杯細胞、および他の上皮細胞、ならびに皮膚、肺、肝臓、および胃腸管内に含まれるそれらの先祖）の増殖を促進し得る。本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチド、およびアゴニストまたはアンタゴニストは、内皮細胞、ケラチノサイト、および基底ケラチノサイトの増殖を促進し得る。

40

【0761】

本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチド、およびアゴニストまたはアンタゴニストはまた、照射、化学療法処置またはウイルス感染から生じる腸の毒性の副作用を低減するために使用され得る。本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチド、およびアゴニストまたはアンタゴニストは、小腸粘膜上で細胞保護的な効果を有し得る。本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチド、およびアゴニストまたはアンタゴニストはまた、化学療法およびウイルス感染から生じる粘膜炎（mucositis）（口粘膜）の治癒を刺激し得る。

【0762】

50

本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチド、およびアゴニストまたはアンタゴニストは、熱傷を含む、完全なおよび部分的な厚さの皮膚欠損における皮膚の十分な再生（すなわち、毛包、汗腺、および皮脂腺の増殖）、乾癬のような他の皮膚欠損の処置においてさらに使用され得る。本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチド、およびアゴニストまたはアンタゴニストは、表皮水疱症、これらの損傷の再上皮形成を促進することによる頻繁な開放性かつ疼痛性の水疱を生じる内在的な真皮への表皮の接着における欠損を処置するために使用され得る。本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチド、およびアゴニストまたはアンタゴニストはまた、胃潰瘍および十二指腸潰瘍を処置し、そして粘膜の内層の瘢痕形成ならびにより迅速な腺の粘膜および十二指腸の粘膜の内層の再生による治癒を助けるために使用され得る。炎症性腸疾患（例えば、クローン病および潰瘍性大腸結腸炎）は、それぞれ、小腸または大腸の粘膜表面の崩壊を生じる疾患である。従って、本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチド、およびアゴニストまたはアンタゴニストは、粘膜表面の再表面化（*resurfacing*）を促進して、より迅速な治癒を助けるため、および炎症性腸疾患の進行を予防するために、使用され得る。本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチド、アゴニストまたはアンタゴニストを用いる処置は、胃腸管全体の粘膜の産生に対して有意な効果を有することが予測され、そして腸粘膜を、摂取された有害な物質または外科手術後の有害な物質から保護するために使用され得る。本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチド、およびアゴニストまたはアンタゴニストは、本発明のポリヌクレオチドの発現下に関連する疾患を処置するために使用され得る。

10

20

30

40

50

【0763】

さらに、本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチド、およびアゴニストまたはアンタゴニストは、種々の病的状態に起因する肺への損傷を予防および治癒するために使用され得る。本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチド、およびアゴニストまたはアンタゴニストは、急性または慢性の肺損傷を予防または処置するために、増殖および分化を刺激し得、そして肺胞および気管支（*broncholar*）上皮の修復を促進し得る。例えば、気管支上皮および肺胞（*aveoli*）の壊死を生じる、気腫（これは、肺胞の進行性の損失を生じる）および吸入損傷（すなわち、煙の吸入および熱傷から生じる）は、本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチド、アゴニストまたはアンタゴニストを使用して効果的に処置され得る。また、本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチド、およびアゴニストまたはアンタゴニストは、肺胞上皮細胞II型の増殖および分化を刺激するために使用され得、これは、未熟な乳児における硝子膜疾患（例えば、乳児呼吸窮迫症候群および気管支肺異形成症）のような疾患を処置または予防することを助け得る。

【0764】

本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチド、およびアゴニストまたはアンタゴニストは、肝実質細胞の増殖および分化を刺激し得、そして従って、肝臓疾患および病状（例えば、肝硬変により生じる劇症肝不全、肝炎ウイルスおよび毒性物質（すなわち、アセトアミノフェン、四塩化炭素（*carbon tetrachloride*）、および他の当該分野で公知の肝臓毒素）により生じる肝臓損傷）を緩和または処置するために使用され得る。

【0765】

さらに、本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチド、およびアゴニストまたはアンタゴニストは、真性糖尿病の発症を処置または予防するために使用され得る。新たにI型糖尿病およびII型糖尿病と診断された患者において、いくつかの島細胞機能が残っている場合、本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチド、ならびにアゴニストまたはアンタゴニストは、その疾患の持続性の発現を緩和、遅延または予防するように、その島機能を維持するために使用され得る。また、本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチド、およびアゴニストまたはアンタゴニストは、島細胞機能を改善または促進するための島細胞移植における補助として使用され得る。

【0766】

（神経活性および神経学的疾患）

本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチドおよびアゴニストまたはアンタゴニストは、脳および/または神経系の疾患、障害、損傷または傷害の診断および/または処置のために用いられ得る。本発明の組成物（例えば、免疫グロブリンスーパーファミリーポリペプチド、ポリヌクレオチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニスト）を用いて処置され得る神経系の障害としては、軸索の切断、ニューロンの減少もしくは変性、または脱髄のいずれかを引き起こす、神経系損傷、および疾患または障害が挙げられるが、これらに限定されない。本発明の方法に従って、患者（ヒト患者および非ヒト哺乳動物患者を含む）において処置され得る神経系病変には、以下、または中枢神経系（脊髄、脳を含む）もしくは末梢神経系のいずれかの病変が挙げられるが、これらに限定されない：（１）虚血病変（ここで、神経系の一部における酸素不足により、ニューロンの損傷または死が生じ、これには大脳梗塞もしくは虚血、または脊髄梗塞もしくは虚血が挙げられる）；（２）外傷病変（身体的損傷により生じるかまたは手術に関連する病変、例えば、神経系の一部を切断する病変、または圧縮損傷を含む）；（３）悪性病変（ここで、神経系の一部は、神経系関連悪性疾患もしくは非神経系組織由来の悪性疾患のいずれかである悪性組織により破壊または損傷される）；（４）感染性病変（ここで、神経系の一部は、例えば、膿瘍による感染の結果として、破壊または損傷されるか、あるいはヒト免疫不全ウイルス、帯状ヘルペスもしくは単純ヘルペスウイルスによる感染と関連するか、ライム病、結核、梅毒に関連する）；（５）変性病変（ここで、神経系の一部は、変性プロセスの結果として破壊または損傷され、これには、パーキンソン病、アルツハイマー病、ハンティングトン病または筋萎縮性側索硬化症（ALS）に関連する変性が挙げられるが、これらに限定されない）；（６）栄養性の疾患または障害に関連する病変（ここで、神経系の一部は、栄養障害または代謝障害によって破壊または損傷され、これには、ビタミンB12欠乏症、葉酸欠乏症、ヴェルニッケ病、タバコ-アルコール弱視、マルキアファ-ヴァ-ビニャーミ病（脳梁の一次変性）およびアルコール小脳変性が挙げられるが、これらに限定されない）；（７）全身性疾患に関連する神経性病変（糖尿病（糖尿病性ニューロパシー、ベル麻痺）、全身性エリテマトーデス、癌または類肉腫症が挙げられるが、これらに限定されない）；（８）毒性物質（アルコール、鉛または特定の神経毒を含む）により生じる病変；ならびに（９）脱髄性病変（ここで、神経系の一部は、脱髄性執権によって破壊または損傷され、これには、多発性硬化症、ヒト免疫不全ウイルス関連脊髄障害、横断脊髄障害または種々の病因、進行性多病巣性白質脳障害、および橋中央ミエリン溶解が挙げられるが、これらに限定されない）。

【0767】

1つの実施形態において、本発明のポリペプチド、ポリヌクレオチド、またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、低酸素症の損傷効果から神経細胞を保護するために使用される。さらに好ましい実施形態において、本発明のポリペプチド、ポリヌクレオチド、またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、大脳底酸素症の損傷効果から神経細胞を保護するために用いられる。この実施形態によると、本発明の組成物は、大脳底酸素症に関連する神経細胞損傷を処置または予防するために用いられる。この実施形態の1つの包括的な局面において、本発明のポリペプチド、ポリヌクレオチド、またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、大脳虚血と関連する神経細胞損傷を処置または予防するために用いられる。この実施形態の別の包括的な局面において、本発明のポリペプチド、ポリヌクレオチド、またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、大脳梗塞に関連する神経細胞損傷を処置または予防するために用いられる。

【0768】

別の好ましい実施形態において、本発明のポリペプチド、ポリヌクレオチド、またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、発作に関連する神経細胞損傷を処置または予防するために用いられる。特定の実施形態において、本発明のポリペプチド、ポリヌクレオチド、またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、発作に関連する大脳神経細胞損傷を処置または予防するために使用される。

【0769】

別の好ましい実施形態において、本発明のポリペプチド、ポリヌクレオチド、またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、心臓発作に関連する神経細胞損傷を処置または予防するために用いられる。特定の実施形態において、本発明のポリペプチド、ポリヌクレオチド、またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、心臓発作に関連する大脳神経細胞損傷を処置または予防するために使用される。

【0770】

神経系障害を処置または予防するのに有用な本発明の組成物は、ニューロンの生存または分化の促進における生物学的活性について試験することによって、選択され得る。例えば、制限する目的ではないが、以下の効果のいずれかを誘発する本発明の組成物は、本発明によると有用であり得る：(1)低酸素もしくは低酸素性状態の存在または非存在化で培養におけるニューロンの増加した生存時間；(2)培養またはインビボにおけるニューロンの増加した出芽；(3)培養またはインビボにおけるニューロン関連分子(例えば、運動ニューロンに関して、コリンアセチルトランスフェラーゼまたはアセチルコリンステラーゼ)の増加した産生；あるいは(4)インビボにおけるニューロン機能障害の軽減した症状。このような効果は、当該分野で公知の任意の方法によって測定され得る。好ましくは、非制限的な実施形態において、ニューロンの増加した生存時間は、本明細書中に記載される方法、またはそうでなければ当該分野で公知の方法(例えば、Zhangら、Proc Natl Acad Sci USA 97:3637-42(2000)またはArakawaら、J. Neurosci. 10:3507~3515(1990)に記載される方法など)を使用して慣用的に測定され得；ニューロンの増加した出芽は、当該分野で公知の方法(例えば、Pestronkら、Exp. Neurol. 70:65~82(1980)またはBrownら、Ann. Rev. Neurosci. 4:17~42(1981)に記載される方法など)によって検出され得；ニューロン関連分子の増加した産生は、当該分野で公知の技術を使用し、測定されるべき分子に基づいて、バイオアッセイ、酵素アッセイ、抗体結合、ノザンプロットアッセイなどによって、測定され得；そして運動ニューロンの機能障害は、運動ニューロン障害の物理的発現(例えば、弱さ、運動ニューロンの伝導速度、または機能障害)を評価することによって、測定され得る。

10

20

【0771】

特定の実施形態において、本発明に従って処置され得る運動ニューロンの障害には、運動ニューロンおよび神経系の他の成分に影響を与え得る障害(例えば、梗塞、感染、毒素への暴露、外傷、外科的損傷、変性疾患、または悪性疾患)、ならびにニューロンに選択的に影響する障害(例えば、筋萎縮性側索硬化症)が挙げられるが、これらに限定されず、そしてこれには、進行性脊髄性筋萎縮症、進行性球延髄麻痺、原発性側索硬化症、小児筋萎縮および若年性筋萎縮、小児期の進行性球麻痺(ファチオ-ロンデ病)、ポリオおよびポリオ後症状、ならびに遺伝性運動感覚性神経障害(シャルコー-マリー-トゥース病)が挙げられるが、これらに限定されない。

30

【0772】

さらに、本発明のポリペプチドまたはポリヌクレオチドは、ニューロン生存、シナプス形成；伝達；神経分化などにおいて役割を果たし得る。従って、本発明の組成物(ポリヌクレオチド、ポリペプチド、およびアゴニストまたはアンタゴニストを含む)は、学習および/または認識の障害を含むがこれに限定されない、これらの役割に関連する疾患または障害を、診断、および/または処置または予防するのに用いられ得る。本発明の組成物は、神経変性性疾患状態および/または行動障害の処置または予防において有用であり得る。このような神経変性性疾患状態および/または行動障害としては以下が挙げられるがこれらに限定されない：アルツハイマー病、パーキンソン病、ハンチントン病、ツレット症候群、精神分裂病、躁病、痴呆、偏執症、強迫性障害、鬱病、恐慌性障害、学習障害、ALS、精神病、自閉、および行動変化(栄養補給、睡眠パターン、平衡、および知覚の障害を含む)。さらに、本発明の組成物は、発生中の胚、または伴性障害に関連する発生の障害の予防および/または検出において役割を果たし得る。

40

50

【0773】

さらに、本発明のポリペプチド、ポリヌクレオチド、および/またはアゴニストまたはアンタゴニストは、以下を含むが挙げられるがこれらに限定されない脳血管障害に関連する、疾患、傷害、障害または損傷から、神経細胞を防御するのに有用であり得る：脳血管障害（例えば、頸動脈血栓症、頸動脈狭窄およびモヤモヤ病を含む頸動脈疾患）、脳のアミロイドアンギオパチー、大脳動脈瘤、脳低酸素症、大脳動脈硬化症、大脳動静脈奇形、大脳動脈疾患、脳塞栓症および血栓（例えば、頸動脈血栓症、洞血栓症およびヴァレンベルク症候群）、硬膜上血腫（例えば、硬膜外血腫または硬膜下血腫およびクモ膜下出血）、脳亀裂骨折、脳虚血（例えば、一過性脳虚血、鎖骨下動脈盗血症候群、または椎骨脳底不全（*vertebrobasilar insufficiency*））、血管性痴呆（例えば、多発脳梗塞性痴呆）、脳室周囲白質軟化症、ならびに血管性頭痛（例えば、群発性頭痛）。

10

【0774】

本発明のなおさらなる局面によれば、治療目的で、神経学的細胞増殖および/または分化を刺激するために、本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチド、およびアゴニストまたはアンタゴニストを利用するためのプロセスが提供される。従って、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、アゴニストおよび/またはアンタゴニストは、神経学的疾患を処置および/または検出するために用いられ得る。さらに、本発明のポリヌクレオチドもしくはポリペプチド、またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、特定の神経系疾患または障害のマーカーまたは検出因子として用いられ得る。

20

【0775】

本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、アゴニストおよび/またはアンタゴニストを用いて処置または検出され得る神経学的疾患の例としては、以下が挙げられる：脳疾患（例えば、母系フェニルケトン尿症のようなフェニルケトン尿症を含む代謝性脳疾患）、ピルビン酸カルボキシラーゼ欠乏症、ピルビン酸デヒドロゲナーゼ複合体欠乏症、ヴェルニッケ脳障害、脳水腫、テント下（*infratentorial*）新生物を含む小脳性新生物のような脳新生物、脈絡叢新生物のような脳室新生物、視床下部性新生物、テント上新生物、キャナヴァン病、毛細血管拡張性運動失調のような脊髄小脳性退化を含む小脳性運動失調のような小脳疾患、小脳性共同運動障害、フリードライヒ失調症、マチャド-ジョセフ病、オリーブ橋小脳萎縮、テント下新生物のような小脳性新生物、びまん性軸周囲性脳炎、球様細胞白質萎縮症、異染性白質萎縮症および亜急性硬化性汎脳炎のようなびまん性脳硬化。

30

【0776】

本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、アゴニストおよび/またはアンタゴニストを用いて処置または検出され得るさらなる神経学的疾患としては、以下が挙げられる：脳血管障害（例えば、頸動脈血栓症、頸動脈狭窄およびモヤモヤ病を含む頸動脈疾患）、脳のアミロイドアンギオパチー、大脳動脈瘤、大脳動脈硬化症、大脳動静脈奇形、大脳動脈疾患、頸動脈血栓症、洞血栓症およびヴァレンベルク症候群のような脳塞栓症および血栓症、硬膜上血腫、硬膜下血腫およびクモ膜下出血のような脳出血、脳亀裂骨折、一過性脳虚血、鎖骨下動脈盗血症候群および椎骨脳底不全（*vertebrobasilar insufficiency*）のような脳虚血、多発脳梗塞性痴呆のような血管性痴呆、脳室周囲白質軟化症、群発性頭痛のような血管性頭痛。

40

【0777】

本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、アゴニストおよび/またはアンタゴニストを用いて処置または検出され得るさらなる神経学的疾患としては以下が挙げられる：エイズ痴呆複合症のような痴呆症、アルツハイマー病およびクロイツフェルト-ヤコブ病のような初老期痴呆、アルツハイマー病および進行性核上性麻痺のような老年痴呆、多発脳梗塞性痴呆のような血管性痴呆、びまん性軸周囲性脳炎のような脳炎、流行性脳炎、日本脳炎、セントルイス脳炎、マダニ媒介性脳炎および西ナイル熱のようなウイルス性脳炎、急性播種性脳脊髄炎、ブドウ膜髄膜炎症候群、脳炎後パーキンソン病および亜球性硬化性汎

50

脳炎のような髄膜脳脊髄炎、室周白斑症のような脳軟化症、点頭痙攣を含む全身てんかんのようなてんかん、アブサンステんかん (absence epilepsy)、MERRF症候群を含むミオクローヌステんかん、強直・間代てんかん、複雑部分てんかん、前頭葉てんかんおよび側頭葉てんかんのような部分てんかん、外傷後てんかん、持続性部分てんかんのようなてんかん重積持続状態、ハレルフォルデン - シュパッツ症候群。

【0778】

本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、アゴニストおよび/またはアンタゴニストを用いて処置または検出され得るさらなる神経学的疾患としては、以下が挙げられる：ダンディ - ウォーカー症候群および正常圧水頭症のような水頭症、視床下部性新生物のような視床下部性疾患、大脳マラリア、脱力発作を含むナルコレプシー、延髄ポリオ (bulbar poliomyelitis)、大脳偽腫瘍、レット症候群、ライ症候群、視床疾患、大脳トキソプラズマ症、頭蓋内結核腫およびツェルヴェーガー症候群、エイズ痴呆複合症のような中枢神経系感染、脳膿瘍、硬膜下蓄膿症、ウマの脳脊髄炎のような脳脊髄炎、ベネズエラウマ脳脊髄炎、壊死性出血性脳脊髄炎、ピスナ、ならびに大脳マラリア。

10

【0779】

本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、アゴニストおよび/またはアンタゴニストを用いて処置または検出され得るさらなる神経学的疾患としては、以下が挙げられる：クモ膜炎のような髄膜炎、リンパ球性脈絡髄膜炎を含むウイルス性髄膜炎のような無菌性髄膜炎、ヘモフィルス髄膜炎を含む細菌性髄膜炎、リステリア髄膜炎、ウォーターハウス - フリーデリックセン症候群のような髄膜炎菌性脳脊髄膜炎、肺炎球菌髄膜炎および髄膜結核症、クリプトコックス髄膜炎のような真菌性髄膜炎、硬膜下滲出、ブドウ膜髄膜脳炎症候群のような髄膜脳炎、横行脊髄炎 (transverse myelitis) のような脊髄炎、脊髄癆のような神経梅毒、延髄ポリオおよびポリオ後症候群を含むポリオ、プリオン病 (例えば、クロイツフェルト - ヤーコブ病、ウシの海綿状脳症、ゲルストコン - シュトロイスラー症候群、クールー、スクラピー)、ならびに大脳トキソプラズマ症。

20

【0780】

本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、アゴニストおよび/またはアンタゴニストを用いて処置または検出され得るさらなる神経学的疾患としては、以下が挙げられる：テント下新生物のような小脳性新生物を含む脳新生物のような中枢神経系新生物、脈絡叢新生物、視床下部性新生物およびテント上新生物のような脳室新生物、髄膜新生物、硬膜外新生物を含む脊髄新生物、キャナヴァン病のような脱髄疾患、副腎脳白質ジストロフィーを含むびまん性大脳硬化症 (diffuse cerebral sclerosis)、びまん性軸周囲性脳炎、球様細胞白質萎縮症、異染性白質萎縮症のようびまん性大脳硬化症、アレルギー性脳脊髄炎、壊死性出血性脳脊髄炎、進行性多病巣性白質脳障害、多発性硬化症、橋中央ミエリン溶解、横行脊髄炎、視神経脊髄炎、スクラピー、脊柱前弯症、慢性疲労症候群、ピスナ、高圧神経質症候群 (High Pressure Nervous Syndrome)、髄膜症、先天性筋無緊張症のような脊髄疾患、筋萎縮性側索硬化症、ヴェルドニツヒ - ホフマン病のような棘筋萎縮、脊髄圧搾、硬膜外新生物のような脊髄新生物、脊髄空洞症、脊髄ろう、スティッフマン症候群、母親由来15q13微小欠損のような精神遅滞、ネコ鳴き症候群、ド・ラング症候群、ダウン症候群、ガングリオシドーシスG (M1) のようなガングリオシドーシス、ザントホフ病、テイ - サックス病、ハートナップ病、ホモシスチン尿症、ローレンス - ムーン - ビードル症候群、レッシュ - ナイハン症候群、カエデシロップ病、フコース蓄積症のようなムコリビドーシス、ニューロンセロイド脂褐素沈着症、眼脳腎症候群、母系フェニルケトン尿のようなフェニルケトン尿症、プラーダー - ヴィリ症候群、レット症候群、ルーピンスタイン - テービ症候群、結節硬化症、WAGR症候群、全前脳症のような神経系異常、水無能症 (hydranencephaly) を含む無能症のような神経管不全、アルノルト - キアーリ奇形、脳ヘルニア、髄膜瘤、髄膜脊髄瘤、嚢胞性二分脊椎および潜在性二分脊椎のような脊髄癒合不全。

30

40

【0781】

50

本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、アゴニストおよび/またはアンタゴニストを用いて処置または検出され得るさらなる神経学的疾患としては、以下が挙げられる：シャルコー-マリー疾患を含む遺伝性の運動および感覚ニューロン障害、視覚萎縮症、レフサム病、遺伝性痙性対麻痺、ヴェルドニッヒ-ホフマン病、先天性痛覚脱失症および家族性自律神経障害のような遺伝性感覚および自律性ニューロパシー、神経学的症状発現（例えば、ゲルストマン症候群を含む失認）、逆向性健忘症のような健忘症、失行症、神経因性膀胱、脱力発作、難聴、部分聴覚欠失および大声（*loudness*）レクルートメントおよび耳鳴を含む聴覚障害のような情報伝達障害、失書症、プロカ失語症およびヴェルニッケ失語症を含む失語症のような言語障害、急性失読症のような失読症、言語発達障害、名称失語症、プロカ失語症およびヴェルニッケ失語症を含む失語症のような発語障害、蓄積障害、構語障害、反響言語、無言症およびどもりを含む発語障害のような情報伝達障害、失声症および嘔声のような発声障害、除脳硬直状態、せん妄、線維束性攣縮、幻覚、髄膜症、母親由来15q13微小欠損、運動失調、アテトーシス、舞蹈病、失調症、運動低下症、筋肉緊張低下、ミオクロヌス、チック、斜頸および振せんのような運動障害、スティッフマン症候群のような筋肉硬直のような筋肉緊張亢進、筋肉痙性、耳帯状疱疹を含む顔面神経麻痺のような神経麻痺、胃不全麻痺、片麻痺、複視のような眼筋麻痺、デュエーン症候群、ホルナー症候群、キーンズ症候群のような慢性進行性外眼筋麻痺症、球麻痺、熱帯性痙攣不全対麻痺、ブラウン-セカール症候群、四肢麻痺、呼吸麻痺および声帯麻痺のような対麻痺、不全麻痺、幻肢、無味覚症および味覚不全のような味覚障害、弱視、失明、色覚異常、複視、半盲、視野暗点および準正常視覚（*subnormal vision*）のような視覚障害、クライネ-レヴィン症候群、不眠症および夢遊症を含む過眠症のような睡眠障害、開口障害のような痙縮、昏睡、持続性植物状態および失神およびめまいのような意識消失、先天性筋無緊張症のような神経筋疾患、筋萎縮性側索硬化症、ランバート-イトン筋無力症症候群、運動神経疾患、棘筋萎縮、シャルコー-マリー疾患およびヴェルドニッヒ-ホフマン病のような筋萎縮、後ポリオ症候群、筋ジストロフィー、重症筋無力症、萎縮性筋緊張症、先天性筋緊張症、ネマリンミオパシー、家族性期性四肢麻痺、多発性パラミロクローヌス（*Multiple Paramyeloclonus*）、熱帯性痙攣不全対麻痺およびスティッフマン症候群、先端肢端疼痛症のような末梢神経系疾患、腎アミロイドーシス、アーディー症候群、Barre-Lieou症候群、家族性自律神経障害、ホルナー症候群、反射性交感神経性ジストロフィーおよびシャイ-ドレーガー症候群のような自律神経系疾患、神経線維腫症2を含む聴神経腫のような内耳神経疾患のような脳神経疾患、顔面神経痛のような顔面神経疾患、メルカーソン-ローゼンタール症候群、弱視を含む眼球運動性障害、眼振、眼球運動麻痺、デュエーン症候群のような眼筋麻痺、ホルナー症候群、キーンズ症候群を含む慢性進行性外眼筋麻痺症、内斜視および外斜視のような斜視、動眼神経麻痺、遺伝性眼萎縮症を含む眼萎縮症のような眼神経疾患、視神経円板結晶腔、視神経脊髄炎のような視神経炎、乳頭水腫、三叉神経痛、声帯麻痺、視神経脊髄炎および脊柱前弯症のような脱髄疾患、糖尿病性足のような糖尿病性ニューロパシー。

【0782】

本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、アゴニストおよび/またはアンタゴニストを用いて処置または検出され得るさらなる神経学的疾患としては、以下が挙げられる：手根管症候群のような神経圧搾症候群、足根管症候群、頸肋症候群のような胸郭出口症候群、尺骨神経圧搾症候群、カウザルギー、頸腕神経痛、顔面神経痛および三叉神経痛のような神経痛、実験的アレルギー性神経炎、眼神経炎、多発性神経炎、多発性神経根神経炎および神経根炎（例えば、多発性神経根炎、遺伝性運動および感覚ニューロパシー（例えば、シャルコー-マリーエ疾患、遺伝性眼萎縮症、レフサム病、遺伝性痙性対麻痺およびヴェルドニッヒ-ホフマン病、遺伝性感覚および自律神経ニューロパシー（先天性痛覚脱失および、家族性自律神経障害を含む）、POEMS症候群、坐骨神経痛、味覚性発汗症候群およびテタニー））のような神経炎。

【0783】

10

20

30

40

50

(内分泌障害)

本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチド、またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、ホルモン不均衡に関連する障害および/もしくは疾患、ならびに/または内分泌系の障害もしくは疾患を処置、予防、診断、ならびに/あるいは予後判定するために用いられ得る。

【 0 7 8 4 】

内分泌系の腺によって分泌されるホルモンは、身体的な成長、性機能、代謝、および他の機能を制御する。障害は、2つの状態に分類され得る：ホルモンの産生における障害、およびホルモンに応答する組織の不能。これらのホルモン不均衡または内分泌系疾患、障害もしくは状態の病因は、遺伝性、体性（例えば、後天的な（例えば、化学療法、損傷または毒素による）癌および自己免疫疾患）、または感染性であり得る。さらに、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、内分泌系および/もしくはホルモン不均衡に関連する特定の疾患または障害のマーカ-あるいは検出器として使用され得る。

10

【 0 7 8 5 】

内分泌系および/またはホルモン不均衡および/または疾患は、子宮運動性の障害を含む。子宮運動性の障害としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：妊娠および分娩の合併症（例えば、早期分娩、過期妊娠、自然流産、および緩慢な（slow）または停止した分娩）；ならびに月経周期の障害および/または疾患（例えば、月経困難症および子宮内膜症）。

20

【 0 7 8 6 】

内分泌系障害および/または疾患ならびにホルモン不均衡障害および/または疾患としては、膵臓の障害および/または疾患（例えば、糖尿病、尿崩症、先天性膵臓形成不全、褐色細胞腫 - - 島細胞腫症候群など）；副腎の障害および/または疾患（例えば、アディソン病、コルチコステロイド欠損症、男性化疾患（virilizing disease）、多毛症、クッシング症候群、高アルドステロン症、褐色細胞腫など）；下垂体の障害および/または疾患（例えば、下垂体機能亢進症、下垂体機能低下症、下垂体性小人症、下垂体腺腫、汎下垂体機能低下症、先端巨大症、巨人症など）；甲状腺の障害および/または疾患（甲状腺機能亢進症、甲状腺機能低下症、プラマー病、グレーヴズ病（毒性びまん性甲状腺腫）、毒性結節性甲状腺腫、甲状腺炎（橋本甲状腺炎、亜急性肉芽腫性甲状腺炎、および無症候リンパ球性甲状腺炎）、ペンドレッド症候群、粘液水腫、クレチン病、甲状腺中毒症、甲状腺ホルモン結合欠損症（thyroid hormone coupling defect）、胸腺發育不全症、甲状腺のヒュルトレ細胞腫、甲状腺癌、甲状腺腫、髓様甲状腺癌が挙げられるが、これらに限定されない）；上皮小体の障害および/または疾患（例えば、上皮小体機能亢進症、上皮小体機能低下症など）；視床下部の障害および/または疾患が挙げられる。

30

【 0 7 8 7 】

特定の実施形態において、この遺伝子に対応するポリヌクレオチドおよび/またはポリペプチドならびに/あるいはこれらのポリペプチドのアゴニストまたはアンタゴニスト（抗体を含む）ならびにこれらのポリヌクレオチド、ポリペプチド、アゴニストおよびアンタゴニストのフラグメントおよび改変体は、異常なグルコース代謝または細胞へのグルコース取り込みに関連する疾患および障害を診断、予後判定、処置、予防、または改善するために使用され得る。

40

【 0 7 8 8 】

特定の実施形態において、この遺伝子に対応するポリヌクレオチドおよび/もしくはポリペプチドならびに/またはこれらのアゴニストおよび/もしくはアンタゴニストは、I型真性糖尿病（インスリン依存性真性糖尿病、IDDM）を診断、予後判定、処置、予防、または改善するために使用され得る。

【 0 7 8 9 】

別の実施形態において、この遺伝子に対応するポリヌクレオチドおよび/もしくはポリペ

50

プチドならびに／またはこれらのアゴニストおよび／もしくはアンタゴニストは、ⅠⅠ型真性糖尿病（インスリン抵抗性真性糖尿病）を診断、予後判定、処置、予防、または改善するために使用され得る。

【0790】

さらに、他の実施形態において、この遺伝子に対応するポリヌクレオチドおよび／もしくはポリペプチドならびに／またはこれらのアゴニストおよび／もしくはアンタゴニスト（特に中和抗体または拮抗抗体）は、（Ⅰ型またはⅠⅠ型）真性糖尿病に関連する状態を診断、予後判定、処置、予防、または改善するために使用され得る。この糖尿病に関連する状態としては、糖尿病性ケトアシドーシス、糖尿病性昏睡、非ケトーシス型血糖上昇性 - 高浸透圧性昏睡、発作、精神錯乱、嗜眠状態、心血管疾患（例えば、心臓病、アテローム性動脈硬化症、微小血管疾患、高血圧、発作、ならびに「心血管障害」の節に記載されるような他の疾患および障害）、異常脂肪血症、腎臓疾患（例えば、腎不全、腎症、「腎臓障害」の節に記載されるような他の疾患および障害）、神経損傷、ニューロパシー、視覚障害（例えば、糖尿病性網膜症および失明）、潰瘍および損傷創傷治癒、感染（例えば、「感染疾患」の節に記載されるような感染性疾患および障害、特に尿路および皮膚）、手根管症候群ならびにデュプイットラン拘縮が挙げられるが、それらに限定されない。

10

【0791】

他の実施形態において、この遺伝子に対応するポリヌクレオチドおよび／もしくはポリペプチドならびに／またはこれらのアゴニストおよび／もしくはアンタゴニストは、動物体重を調節するために動物、特に哺乳動物、そして最も好ましくはヒトに投与される。特定の実施形態において、この遺伝子に対応するポリヌクレオチドおよび／もしくはポリペプチドならびに／またはこれらのアゴニストおよび／もしくはアンタゴニストは、インスリンに関連する生化学的経路を調節することによって動物体重を調節するために動物、特に哺乳動物、そして最も好ましくはヒトに投与される。さらに他の実施形態において、この遺伝子に対応するポリヌクレオチドおよび／もしくはポリペプチドならびに／またはこれらのアゴニストおよび／もしくはアンタゴニストは、インスリン様成長因子に関連する生化学的経路を調節することによって動物体重を調節するために動物、特に哺乳動物、そして最も好ましくはヒトに投与される。

20

【0792】

さらに、内分泌系障害および／または疾患ならびに／あるいはホルモン不均衡障害および／または疾患としてまた、精巣または卵巣の障害および／あるいは疾患（癌を含む）が挙げられ得る。精巣または卵巣の障害および／あるいは疾患としてはさらに、例えば、卵巣癌、多嚢胞性卵巣症候群、クラインフェルター症候群、バニシング精巣症候群（両側無精巣）、先天的なライディヒ細胞の欠失、潜伏精巣症、ヌーナン症候群、筋緊張性ジストロフィー、精巣の毛細血管性血管腫（良性）、精巣の新形成および新精巣（neotestis）が挙げられ得る。

30

【0793】

さらに、内分泌系障害および／または疾患ならびに／あるいはホルモン不均衡障害および／または疾患としてまた、例えば、以下の障害および／または疾患が挙げられ得る：多内分泌腺機能低下症候群、褐色細胞腫、多発性内分泌腺腫症、ならびに内分泌組織の障害および／または癌など。

40

【0794】

別の実施形態において、本発明のポリペプチド、またはこのポリペプチドに対応するポリヌクレオチド、抗体、アゴニスト、もしくはアンタゴニストは、本発明のポリペプチドが発現される組織（表10の2列目（ライブラリーコード）に開示される1、2、3、4、5、またはそれより多い組織を含む）に関連する内分泌疾患および／または障害を診断、予後判定、予防、ならびに／あるいは処置するために使用され得る。

【0795】

（生殖系障害）

本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチド、またはアゴニストもしくはアンタゴニス

50

トは、生殖系の疾患および/または障害の診断、処置、あるいは予防のために使用され得る。本発明の組成物によって処置され得る生殖系障害としては、生殖系損傷、感染、腫瘍性障害、先天的欠損、ならびに不妊症、妊娠、分娩、または出産の合併症、および産後障害を生じる疾患または障害が挙げられるが、これらに限定されない。

【0796】

生殖系障害および/または疾患としては、精巣の疾患および/または障害（精巣萎縮症、精巣女性化、潜伏精巣症（片側および両側）、無精巣症、異所性精巣、精巣上体炎および精巣炎（典型的に感染（例えば、淋病、おたふくかぜ、結核、および梅毒など）から生じる）、精巣捻転、精管炎、生殖細胞腫瘍（例えば、精上皮腫、胚性細胞癌、奇形癌、絨毛癌、卵黄嚢腫瘍、および奇形腫）、間質腫瘍（例えば、ライディヒ細胞腫瘍）、水瘤、血瘤、精索静脈瘤、精液瘤、峯径ヘルニア、ならびに精子産生の障害（例えば、線毛不動症候群、無精液症、精子無力症、無精子症、精子過少症、および奇形精子症）を含む）が挙げられる。

10

【0797】

生殖系障害としてはまた、前立腺の障害（例えば、急性非細菌性前立腺炎、慢性非細菌性前立腺炎、急性細菌性前立腺炎、慢性細菌性前立腺炎、前立腺失調症（*prostatodystonia*）、前立腺症（*prostatosis*）、肉芽腫性前立腺炎、マラコプラキア、良性前立腺肥大または肥厚、および前立腺新形成障害（腺癌、移行上皮癌、管癌（*ductal carcinomas*）、および扁平上皮癌を含む））が挙げられる。

20

【0798】

さらに、本発明の組成物は、陰茎および尿道の障害または疾患（炎症性障害（例えば亀頭包皮炎、閉塞性乾燥性亀頭炎、包茎、嵌頓包茎、梅毒、単純疱疹ウイルス、淋病、非淋病性尿道炎、クラミジア、マイコプラズマ、トリコモナス、HIV、AIDS、ライター症候群、尖圭コンジローム、扁平コンジローム、および真珠状の陰茎丘疹（*pearly penile papule*））；尿道異常（例えば、尿道下裂、尿道上裂、および包茎）；前悪性の外傷（ケーラー紅色肥厚症、ポーエン病、ポーエノイド・パピュロシス、ブシュケ-レーヴェンシュタイン巨大コンジローム、およびいぼ状癌を含む）；陰茎癌（扁平上皮癌、上皮内癌、いぼ状癌、および散在性陰茎癌を含む）；尿道腫瘍性障害（陰茎尿道癌、球状膜性尿道癌、および前立腺尿道癌を含む）；ならびに勃起性障害（例えば、ブリアピスム、ペーロニー病、勃起不全症、およびインポテンス）を含む）の診断、処置、および/または予防に有用であり得る。

30

【0799】

さらに、精管の疾患および/または障害としては、脈管炎およびCBAVD（先天的な精管の両側欠如）が挙げられる；さらに、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、およびアゴニストまたはアンタゴニストは、精囊の疾患および/または障害（包虫症、先天的塩素下痢（*chloride diarrhea*）、および多発性嚢胞腎疾患を含む）の診断、処置、ならびに/あるいは予防において使用され得る。

【0800】

雄性生殖系の他の障害および/または疾患としては、例えば、クラインフェルター症候群、ヤング症候群、早漏、真性糖尿病、嚢胞性線維症、カルタゲナー症候群、高熱、多発性硬化症、および女性化乳房が挙げられる。

40

【0801】

本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、およびアゴニストまたはアンタゴニストは、膣および外陰の疾患および/または障害（細菌性膣炎、カンジダ膣炎、単純疱疹ウイルス、軟性下疳、峯径部肉芽腫、性病性リンパ肉芽腫、疥癬、ヒトパピローマウイルス、膣外傷、外陰外傷、腺疾患、クラミジア膣炎、淋病、トリコモナス、尖圭コンジローム、梅毒、伝染性軟属腫、萎縮性膣炎、パジェット病、硬化性苔癬、扁平苔癬、外陰病変（*vulvodynia*）、毒性ショック症候群、膣瘻、外陰膣炎、外陰膣前庭炎、および新形成障害（例えば、扁平上皮過形成、明細胞癌、基底細胞癌、黒色腫、バルトリン腺の癌、外

50

陰上皮内新形成)が挙げられる)の診断、処置、ならびに/あるいは予防に使用され得る。

【0802】

子宮の障害および/または疾患としては、月経困難症、後傾子宮、子宮内膜症、フィブロイド、腺筋症、無排卵出血、無月経、クッシング症候群、胞状奇胎、アッシエルマン症候群、早熟閉経、性的早熟、子宮ポリープ、不正子宮出血(例えば、異常なホルモンシグナルに起因する)、および新形成障害(例えば、腺癌、平滑筋肉腫(leiomyosarcomas)、および肉腫)が挙げられる。さらに、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、先天的な子宮奇形(例えば、二角子宮、中隔子宮、単純一角子宮(simple unicornuate uterus)、非空洞性不全角を有する一角子宮(unicornuate uterus with a noncavitary rudimentary horn)、非連結性空洞性不全角を有する一角子宮(unicornuate uterus with a non-communicating cavitary rudimentary horn)、連結性空洞性不全角を有する一角子宮(unicornuate uterus with a communicating cavitary rudimentary horn)、弓状子宮、子宮ジデルファス(didelphus)、およびT型子宮)のマーカ-または検出器として、ならびに診断、処置、および/または予防に有用であり得る。

10

【0803】

卵巣疾患および/または障害としては、無排卵、多嚢胞性卵巣症候群(スタイン-リーヴェンサール症候群)、卵巣嚢胞嚢腫、卵巣機能不全、性腺刺激ホルモンに対する卵巣非感受性、アンドロゲンの卵巣過剰産生、右卵巣静脈症候群、無月経、多毛症(hirsutism)、ならびに卵巣癌(原発性および後発性癌性増殖、セルトーリ-ライディヒ腫瘍、卵巣の類内膜癌、卵巣乳頭漿液腺癌、卵巣粘液性腺癌、および卵巣クルーケンベルク腫瘍を含むが、これらに限定されない)が挙げられる。

20

【0804】

子宮頸部疾患および障害としては、子宮頸管炎、慢性子宮頸管炎、粘液膿性子宮頸管炎、子宮頸部形成異常、子宮頸部ポリープ、ナーボト嚢胞、子宮頸部侵食、子宮頸部不全、ならびに子宮頸部新形成(例えば、子宮頸部癌、扁平上皮化生、扁平上皮癌、腺扁平上皮新形成、および円柱細胞新形成(columnar cell neoplasia)を含む)が挙げられる。

30

【0805】

さらに、生殖器系の疾患および/または障害としては、以下を含む妊娠の障害および/または疾患が挙げられる:流産および死産(例えば、早期流産、晚期流産、自然流産、人工流産、治療的流産、切迫流産、稽留流産、不全流産、完全流産、習慣性流産、稽留流産、および敗血性流産);異所性妊娠、貧血、Rh不適合、妊娠中の膣出血、妊娠糖尿病、子宮内発育遅延、羊水過多症、HELLP症候群、常位胎盤早期剥離、前置胎盤、悪阻、子かん前症、子かん、妊娠性ヘルペス、および妊娠のじんま疹。さらに、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、およびアゴニストまたはアンタゴニストは、以下を含む妊娠と併発し得る疾患を診断、処置および/または予防するために使用され得る:心臓疾患、心不全、リウマチ性心疾患、先天性心疾患、僧帽弁逸脱症、高血圧、貧血、腎臓疾患、感染疾患(例えば、風疹、サイトメガロウイルス、トキソプラズマ症、感染性肝炎、クラミジア、HIV、AIDS、および陰部ヘルペス)、真性糖尿病、グレーヴズ病、甲状腺炎、甲状腺機能低下症、橋本甲状腺炎、慢性活動性肝炎、肝臓の肝硬変、原発性胆汁性肝硬変、ぜん息、全身性エリテマトーデス、慢性関節リウマチ、重症筋無力症、特発性血小板減少性紫斑病、虫垂炎、卵巣嚢胞、胆嚢障害、および腸の閉塞症。

40

【0806】

分娩および出産に関連する合併症としては、膜の早期破裂(premature rupture of the membranes)、早産、後期妊娠(post-term)

50

pregnancy)、過熟妊娠、非常に遅く進行する分娩(labor that progresses too slowly)、胎児仮死(例えば、異常な心拍数(胎児性または母性)、呼吸の問題、および異常な胎児位置)、肩甲難産、臍帯脱出症、羊水塞栓症、および異常な子宮の出血が、挙げられる。

【0807】

さらに、分娩期後の疾患および/または障害としては、子宮内膜炎、子宮筋層炎、子宮傍結合組織炎、腹膜炎、骨盤血栓性静脈炎、肺動脈塞栓症、内毒素血症、腎盂腎炎、伏在性血栓性静脈炎、乳腺炎、膀胱炎、分娩後出血、および反転性子宮(inverted uterus)が挙げられる。

【0808】

本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、ならびにアゴニストまたはアンタゴニストにより診断、処置、および/または予防され得る雌性生殖器系の他の障害ならびに/または疾患としては、例えば、ターナー症候群、偽半陰陽、月経前緊張症候群、骨盤炎症性疾患、骨盤うっ血(pelvic congestion)(血管充血(vascular engorgement))、不感症、無オルガスム症、性交疼痛症、破裂性(ruptured)ファローピウス管、および中間痛が挙げられる。

【0809】

(感染性疾患)

本発明のポリヌクレオチドもしくはポリペプチド、およびアゴニストもしくはアンタゴニストは、感染因子を処置または検出するために用いられ得る。例えば、免疫応答を上昇させることによって、特にB細胞および/またはT細胞の増殖および分化を増加させることによって、感染性疾患が処置され得る。免疫応答は、既存の免疫応答を増強させるか、または新たな免疫応答を開始させるかのいずれかにより増加され得る。あるいは、本発明のポリヌクレオチドもしくはポリペプチド、およびアゴニストもしくはアンタゴニストはまた、必ずしも免疫応答を誘発することなく、感染因子を直接阻害し得る。

【0810】

ウイルスは、本発明のポリヌクレオチドもしくはポリペプチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストにより処置または検出され得る疾患または症状を引き起こし得る感染因子の一例である。ウイルスの例としては、以下のDNAおよびRNAのウイルスおよびウイルス科が挙げられるがこれらに限定されない：アルボウイルス、アデノウイルス科、アレナウイルス科、アルテリウイルス、ビルナウイルス科、ブニヤウイルス科、カルシウイルス科、サルコウイルス科(Circoviridae)、コロナウイルス科、デング熱、EBV、HIV、フラビウイルス科、ヘパドナウイルス科(肝炎)、ヘルペスウイルス科(例えば、サイトメガロウイルス、単純ヘルペス、ヘルペス帯状疱疹)、モノネガウイルス(Mononegavirus)(例えば、パラミクソウイルス科、麻疹ウイルス、ラブドウイルス科)、オルソミクソウイルス科(例えば、インフルエンザA、インフルエンザB、およびパラインフルエンザ)、パピローマウイルス、パポバウイルス科、バルボウイルス科、ピコルナウイルス科、ポックスウイルス科(例えば、痘瘡またはワクシニア)、レオウイルス科(例えば、ロタウイルス)、レトロウイルス科(HTLV-I、HTLV-II、レンチウイルス)、およびトガウイルス科(例えば、ルビウイルス属)。これらのファミリーに属するウイルスは、以下を含むがこれらに限定されない種々の疾患または症状を引き起こし得る：関節炎、細気管支炎(bronchiolitis)、呼吸性シンシチウムウイルス、脳炎、眼内感染症(例えば、結膜炎、角膜炎)、慢性疲労症候群、肝炎(A型、B型、C型、E型、慢性活動性、デルタ)、日本脳炎B型、アルゼンチン出血熱(Junin)、チングニア、リフトバレー熱、黄熱病、髄膜炎、日和見感染症(例えば、AIDS)、肺炎、バーキットリンパ腫、水痘、出血熱、麻疹、おたふくかぜ、パラインフルエンザ、狂犬病、感冒、ポリオ、白血病、風疹、性感染症、皮膚病(例えば、カポジ、いぼ)、およびウイルス血症。本発明のポリヌクレオチドもしくはポリペプチド、またはアゴニストもしくはアンタゴニストを用いて、任意のこれらの症状または疾患が処置または検出され得る。特定の実施形態において、本発明のポリヌク

10

20

30

40

50

レオチド、ポリペプチド、またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、以下の処置に使用される：髄膜炎、デング熱、EBV、および/または肝炎（例えば、B型肝炎）。さらなる特定の実施形態において、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、1以上の他の市販の肝炎ワクチンに非応答性の患者を処置するために使用される。さらなる特定の実施形態において、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、AIDSを処置するために使用される。

【0811】

同様に、疾患または症状を引き起こし得、かつ本発明のポリヌクレオチドもしくはポリペプチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストによって処置または検出され得る細菌性因子あるいは真菌性因子は、以下のグラム陰性細菌およびグラム陽性細菌、細菌科ならびに真菌が挙げられるがこれらに限定されない：Actinomyces（例えば、Norcardia）、Acinetobacter、Cryptococcus neoformans、Aspergilliosis、Bacillaceae（例えば、Bacillus anthracis）、Bacteroides（例えば、Bacteroides fragilis）、Blastomycosis、Bordetella、Borrelia（例えば、Borrelia burgdorferi）、Brucella、Candida、Campylobacter、Chlamydia、Clostridium（例えば、Clostridium botulinum、Clostridium difficile、Clostridium perfringens、Clostridium tetani）、Coccidioides、Corynebacterium（例えば、Corynebacterium diphtheriae）、Cryptococcus、Dermatocycoses、E.coli（例えば、Enterotoxigenic E.coliおよびEnterohemorrhagic E.coli）、Enterobacter（例えば、Enterobacter aerogenes）、Enterobacteriaceae（Klebsiella、Salmonella（例えば、Salmonella typhi、Salmonella enteritidis、Salmonella typhi）、Serratia、Yersinia、Shigella）、Erysipelothrix、Haemophilus（例えば、Haemophilus influenza B型）、Helicobacter、Legionella（例えば、Legionella pneumophila）、Leptospira、Listeria（例えば、Listeria monocytogenes）、Mycoplasma、Mycobacterium（例えば、Mycobacterium lepraeおよびMycobacterium tuberculosis）、Vibrio（例えば、Vibrio cholerae）、Neisseriaceae（例えば、Neisseria gonorrhoea、Neisseria meningitidis）、Pasteurellaceae、Proteus、Pseudomonas（例えば、Pseudomonas aeruginosa）、Rickettsiaceae、Spirochetes（例えば、Treponema spp.、Leptospira spp.、Borrelia spp.）、Shigella spp.、Staphylococcus（例えば、Staphylococcus aureus）、Meningiocooccus、PneumococcusならびにStreptococcus（例えば、Streptococcus pneumoniaeおよびA群、B群、およびC群Streptococcus）ならびにUreaplasmas。これらの細菌、寄生虫および真菌の科は、以下を含むがこれらに限定されない疾患または症状を引き起こし得る：抗生物質耐性感染、菌血症、心内膜炎、敗血症、眼感染症（結膜炎）、ブドウ膜炎、結核、歯肉炎、細菌性下痢、日和見感染症（例えば、AIDS関連感染症）、爪周囲炎、プロテアーゼ関連感染症、虫歯、ライター病、気道感染症（例えば、百日咳または蓄膿症）、敗血症、ライム病、ネコ引っ掻き病、赤痢、パラチフス熱、食中毒、レジオネラ病（Legio

10

20

30

40

50

nel disease)、慢性炎症および急性炎症、紅斑、酵母感染、腸チフス、肺炎、淋病、髄膜炎(例えば、髄膜炎A型およびB型)、クラミジア、梅毒、ジフテリア、ライ病、ブルセラ病、消化性潰瘍、炭疽、自然流産、出生時欠損、肺炎、肺感染、耳感染、難聴、失明、嗜眠、倦怠、嘔吐、慢性下痢、クローン病、大腸炎、膣の病気、生殖不能、骨盤炎症性疾患、カンジダ症、パラ結核、結核、狼瘡、ボツリヌス中毒、壊疽、破傷風、膿痂疹、リウマチ熱、猩紅熱、性感染症、皮膚病(例えば、蜂巣炎、皮膚真菌症(dermatocycoses)、毒血症、尿路感染症、創傷感染症、院内感染(nosocomial infections)。本発明のポリヌクレオチドもしくはポリペプチド、アゴニストもしくはアンタゴニストを用いて、任意のこれらの症状もしくは疾患を処置または検出し得る。特定の実施形態において、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、アゴニストまたはアンタゴニストは、以下を処置するために使用される：破傷風、ジフテリア、ボツリヌス、および/またはB型髄膜炎。

10

【0812】

さらに、本発明のポリヌクレオチドもしくはポリペプチド、および/またはアゴニストもしくはアンタゴニストにより処置、予防および/または診断され得る、寄生生物性因子が引き起こす疾患または症状としては以下のファミリーまたはクラスが挙げられるがこれらに限定されない：アメーバ症、バベシア症、コクシジウム症、クリプトスポリジウム症、二核アメーバ症(Dientamoebiasis)、交疫、外部寄生生物性、ジアルジア鞭毛虫症、蠕虫症、リーシュマニア症、住血吸虫症(schistisoma)、タイレリア症、トキソプラズマ症、トリパノソーマ症、およびトリコモナス(Trichomonas)症、ならびに孢子虫症(Sporozoan)(例えば、Plasmodium virax、Plasmodium falciparum、Plasmodium malariaeおよびPlasmodium ovale)。これらの寄生生物は、以下を含むがこれらに限定されない種々の疾患または症状を引き起こし得る：疥癬、ツツガムシ病、眼性感染症、腸疾患(例えば、赤痢、ジアルジア鞭毛虫症)、肝臓疾患、肺疾患、日和見感染症(例えば、AIDS関連)、マラリア、妊娠合併症、およびトキソプラズマ症。本発明のポリヌクレオチドもしくはポリペプチド、またはアゴニストもしくはアンタゴニストを用いて、任意のこれらの症状または疾患を処置、予防および/または診断し得る。特定の実施形態において、本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、またはアゴニストもしくはアンタゴニストは、マラリアを処置、予防および/または診断するために使用される。

20

30

【0813】

本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチド、およびアゴニストまたはアンタゴニストは、患者に有効量のポリペプチドを投与するか、または患者から細胞を取り出して、本発明のポリヌクレオチドをこの細胞に供給し、そして操作した細胞を患者に戻す(エキソピボ治療)かのいずれかによるものであり得る。さらに、本発明のポリペプチドまたはポリヌクレオチドはワクチンにおける抗原として用いられて、感染性疾患に対する免疫応答を惹起し得る。

【0814】

(再生)

本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチド、およびアゴニストまたはアンタゴニストを用いて、細胞を分化させ、増殖させ、そして誘引して、組織の再生を導き得る(Science 276:59-87(1997)を参照のこと)。組織の再生を用いて、先天性欠損、外傷(創傷、熱傷、切開、または潰瘍)、加齢、疾患(例えば、骨粗鬆症、変形性関節炎(osteoarthritis)、歯周病、肝不全)、美容形成手術を含む手術、線維症、再灌流傷害、もしくは全身性サイトカイン損傷により損傷を受けた組織を修復、置換、または保護し得る。

40

【0815】

本発明を用いて再生し得る組織としては、以下が挙げられる：器官(例えば、膵臓、肝臓、腸、腎臓、皮膚、内皮)、筋肉(平滑筋、骨格筋、または心筋)、血管系(血管および

50

リンパ管を含む)、神経、造血、および骨格(骨、軟骨、腱、および靭帯)の組織。好ましくは、再生は、瘢痕なく、または瘢痕が低減されて生じる。再生はまた、新脈管形成を含み得る。

【0816】

さらに、本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチド、およびアゴニストまたはアンタゴニストは、治療するのが困難な組織の再生を増加させ得る。例えば、腱/靭帯の再生を増大させることによって、損傷後の回復時間が早まる。本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチド、およびアゴニストまたはアンタゴニストはまた、損傷を回避する試みにおいて予防的に使用され得る。処置され得る特定の疾患は、腱炎、手根管症候群、および他の腱欠損または靭帯欠損を含む。非治療創傷の組織再生のさらなる例としては、褥瘡性潰瘍、脈管不全、外科的創傷、および外傷性創傷に関連する潰瘍が挙げられる。

10

【0817】

同様に、神経および脳組織はまた、神経細胞を増殖および分化させるために本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチド、およびアゴニストまたはアンタゴニストを使用することによって再生され得る。本方法を用いて処置され得る疾患としては、中枢神経系疾患および末梢神経系疾患、神経障害、または機械的および外傷性の障害(例えば、脊髄障害、頭部外傷、脳血管疾患、および発作(stroke))が挙げられる。詳細には、末梢神経傷害と関連する疾患、末梢神経障害(例えば、化学療法または他の医学的療法から生じる障害)、限局性神経障害、および中枢神経系疾患(例えば、アルツハイマー病、パーキンソン病、ハンチントン病、筋萎縮性側索硬化症、およびシャイ-ドレーガー症候群)はすべて、本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチドおよびアゴニストまたはアンタゴニストを用いて処置され得る。

20

【0818】

(胃腸障害)

本発明のポリヌクレオチドもしくはポリペプチドまたはアゴニストもしくはアンタゴニストは、胃腸障害を処置、予防、診断、および/または予後するために使用され得、この胃腸障害としては、炎症性の疾患および/または状態、感染、癌(例えば、腸新生物(小腸のカルチノイド、小腸の非ホジキンリンパ腫、小腸リンパ腫))ならびに潰瘍(例えば、消化性潰瘍)が挙げられる。

【0819】

胃腸障害としては、嚥下困難、嚥下痛、食道の炎症、消化性食道炎、胃逆流、粘膜下線維症および狭窄(stricturing)、マロリー-ヴァイス病変、平滑筋腫、脂肪腫、表皮癌、腺癌、胃貯留障害、胃腸炎、胃萎縮症、胃(gastric/stomach)癌、胃のポリープ、自己免疫障害(例えば、悪性貧血、幽門狭窄症、胃炎(細菌性、ウイルス性、好酸球性、ストレス誘導性、慢性びらん性、萎縮性、形質細胞、およびメネトリ工病)、ならびに腹膜疾患(例えば、乳び腹膜症(chyloperitoneum)、腹腔内出血、腸膜間嚢胞、腸膜間リンパ節炎、腸膜間脈管閉塞、皮下脂肪組織炎、新生物、腹膜炎、気腹症、横隔膜下(bubphrenic)膿瘍)が挙げられる。

30

【0820】

また胃腸障害として、小腸に関連する障害(例えば、吸収不良症候群、膨満、過敏性腸症候群(irritable bowel syndrome)、糖不耐性、腹腔疾患、十二指腸潰瘍、十二指腸炎、熱帯性スプルー、ホウィップル病、腸リンパ管拡張症、クローン病、虫垂炎、回腸の便秘、メッケル憩室、多発性憩室(multiple diverticula)、小腸および大腸の完全な循環の不全、リンパ腫、ならびに細菌性および寄生虫性疾患(例えば、旅行者下痢、チフスおよびパラチフス、コレラ、回虫(Ascariasis lumbricides)、鉤虫(Ancylostoma duodenale)、線虫(Enterobius vermicularis)、条虫類(Tenania saginata、Echinococcus granulosus、Diphyllobothrium spp.、およびT. soliumによる感染)が挙げられる。

40

50

【0821】

肝臓疾患および/または障害として、肝臓内胆汁うっ滞(アラギール(alagille)症候群、胆汁性肝硬変)、脂肪肝(アルコール性脂肪肝、ライ症候群)、肝静脈血栓症、ヘパトセントリキュラー(hepatocentricular)変性、肝腫、肝肺症候群、肝腎症候群、門脈圧亢進症(食道静脈瘤および胃静脈瘤)、肝膿瘍(アメーバ性肝膿瘍)、肝硬変(アルコール性、胆汁および実験的)、アルコール性肝疾患(脂肪肝、肝炎、肝硬変)、寄生虫性(肝性エキノコックス症、肝蛭症、アメーバ性肝膿瘍)、黄疸(溶血性、肝細胞性、および胆汁うっ滞性)、胆汁うっ滞、門脈圧亢進症、肝肥大、腹水、肝炎(アルコール性肝炎、動物性肝炎、慢性肝炎(自己免疫性、B型肝炎、C型肝炎、D型肝炎、薬物誘導性)、毒性肝炎、ウイルス性ヒト肝炎(A型肝炎、B型肝炎、C型肝炎、D型肝炎、E型肝炎)、ウイルソン病、肉芽腫性肝炎、二次性胆汁性肝硬変(secondary biliary cirrhosis)、肝性脳障害、門脈圧亢進症、静脈瘤、肝性脳障害、一次性胆汁性肝硬変(primary biliary cirrhosis)、原発性硬化性胆管炎、肝細胞腺腫、血管腫、胆汁石、肝不全(肝性脳障害、急性肝不全)、および肝性新生物(liver neoplasms)(血管筋脂肪腫、石灰化肝転移(calcified liver metastases)、嚢胞性肝転移、上皮腫瘍、線維層板肝細胞癌(fibrolamellar hepatocarcinoma)、病巣結節過形成(focal nodular hyperplasia)、肝細胞腺腫、血性胆汁嚢胞腺腫(hepatobiliary cystadenoma)、胚芽腫、肝細胞癌、肝癌(hepatoma)、肝癌(liver cancer)、肝臓血管内皮腫、間葉過誤腫(mesenchymal hamartoma)、肝臓の間葉腫瘍、結節再生過形成(nodular regenerative hyperplasia)、良性肝癌(肝嚢胞(単純嚢胞(Simple cyst)、多嚢胞性肝疾患、血性胆汁嚢胞腺腫(Hepatobiliary cystadenoma)、総胆管嚢胞)、間葉腫瘍(間葉過誤腫、乳児先天性血管内皮腫、血管腫、肝臓紫斑病、脂肪腫、炎症性偽腫瘍、ミスセラネウス(Miscellaneous))、上皮腫瘍(胆管上皮(胆管過誤腫、胆管腺腫)、肝細胞(腺腫、病巣結節過形成、結節再生過形成))、転移性肝臓腫瘍(肝細胞、胚芽腫、肝細胞癌、胆管細胞(cholangiocellular)、胆管癌、嚢胞腺癌、血管の腫瘍、血管肉腫、カポージー肉腫、血管内皮腫、他の腫瘍、胎生期肉腫(embryonal sarcoma)、線維肉腫、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、癌肉腫、奇形腫、カルチノイド、扁平上皮癌、原発性リンパ腫))、肝臓紫斑病、赤芽肝性ポルフィリン症(erythrohepatic porphyria)、肝性ポルフィリン症(急性間欠性ポルフィリン症、晩発性皮膚ポルフィリン症)、ツェルヴェーガー症候群)が挙げられる。

【0822】

膵臓疾患および/または障害として、急性膵炎、慢性膵炎(急性壊死膵炎(acute necrotizing pancreatitis)、アルコール性膵炎)、新生物(膵臓の腺癌、嚢胞腺癌、インスリノーマ、ガストリノーマ、およびグルカゴノーマ、嚢胞性新生物、島細胞腫瘍、膵臓芽腫(pancreoblastoma))、および他の膵臓疾患(例えば、嚢胞性線維症、嚢胞(膵臓偽嚢胞、膵臓フィステル、不全))が挙げられる。

【0823】

胆嚢疾患として、胆石(胆石症および総胆管結石症)、胆嚢摘出後症候群、胆嚢の憩室症、急性胆嚢炎、慢性胆嚢炎、胆管腫瘍および涙嚢腫が挙げられる。

【0824】

大腸の疾患および/または障害として、抗生物質関連大腸炎、憩室炎、潰瘍性大腸炎、後天性巨大結腸、膿瘍、真菌性感染および細菌性感染、肛門直腸疾患(例えば、裂溝、痔)、結腸疾患(大腸炎、結腸新生物(結腸癌(colon cancer)、腺腫様結腸ポリープ(例えば、絨毛腺腫)、結腸癌(colon carcinoma)、結腸直腸癌)、結腸憩室炎、大腸憩室、巨大結腸(ヒルシュスプルング病、毒性巨大結腸); S状疾

患 (sigmoid diseases) (直腸結腸炎、シグモイン (sigmoidin) 新生物)、便秘症、クローン病、下痢 (乳児期下痢、赤痢)、十二指腸疾患 (十二指腸新生物、十二指腸閉塞症、十二指腸潰瘍、十二指腸炎)、腸炎 (enteritis) (腸炎 (enterocolitis))、HIV 腸症、回腸疾患 (回腸新生物、回腸炎)、免疫増殖性小腸疾患、炎症性腸疾患 (潰瘍性大腸炎、クローン病)、腸閉鎖、寄生虫病 (アニサキス症、バランチジウム症、プラストシスティス属感染症、クリプトスポリジウム症、二核アメーバ症 (dientamoebiasis)、アメーバ赤痢、ジアルジア鞭毛虫症)、腸フィステル (直腸フィステル)、腸新生物 (盲端新生物、結腸新生物、十二指腸新生物、回腸新生物、腸ポリープ、空腸新生物、直腸新生物)、腸閉塞 (輸入脚症候群、十二指腸閉塞、楔合便 (impacted feces)、腸偽閉塞 (intestinal pseudo-obstruction) (盲腸捻転)、重積症)、腸閉鎖 (intestinal perforation)、腸ポリープ (結腸ポリープ、ガードナー症候群、ポイツ-ジエガーズ症候群)、空腸疾患 (空腸新生物)、吸収不良症候群 (盲係蹄症候群、セリアック病 (celiac disease)、乳糖不耐症、短腸症候群、熱帯性スプルー、ホウィップル病)、腸間膜血管閉塞 (mesenteric vascular occlusion)、腸壁嚢胞状気腫、蛋白喪失性腸症 (腸リンパギエクタシス (intestinal lymphagiectasis))、腸疾患 (肛門疾患、便失禁、痔、直腸炎、腸フィステル、脱腸、直腸瘤)、消化性潰瘍 (十二指腸潰瘍、消化性食道炎、出血、穿孔、胃潰瘍、ゾリンジャー-エリソン症候群)、胃切除後症候群 (ダンピング症候群)、胃障害 (例えば、塩酸欠乏症、胃十二指腸逆流 (胆汁逆流)、胃洞血管膨張 (gastric antral vascular ectasia)、胃フィステル、胃排出口閉塞 (gastric outlet obstruction)、胃炎 (萎縮性または肥大性)、胃不全麻痺、胃拡張、胃憩室、胃新生物 (胃癌、胃ポリープ、胃腺癌、増殖性胃ポリープ)、胃破裂、胃潰瘍、胃閉塞)、結核、内臓下垂症、嘔吐 (例えば、吐血、妊娠悪阻、手術後悪心 (postoperative nausea) および手術後嘔吐) および出血性大腸炎が挙げられる。

【0825】

さらに胃腸系の疾患および/または障害として、胆汁管障害 (例えば、胃壁破裂症)、フィステル (例えば、胆道フィステル、食道フィステル、胃フィステル、腸フィステル、膵臓フィステル)、新生物 (例えば、胆汁管新生物、食道新生物 (例えば、食道の腺癌)、食道扁平上皮癌、胃腸新生物、膵臓新生物 (例えば、膵臓の腺癌)、膵臓のムチン嚢胞性新生物、膵臓嚢胞性新生物、膵臓芽腫および腹膜新生物)、食道疾患 (例えば、水疱性疾患、カンジダ症、グリコゲンアカントシス、潰瘍形成、バレット食道静脈瘤、閉鎖症、嚢胞、憩室 (例えば、ツェンカー憩室)、フィステル (例えば、気管食道フィステル)、運動性疾患 (例えば、CREST 症候群、嚥下障害、アカラシア、痙縮、食道逆流)、新生物、穿孔 (例えば、ブルハーフェ症候群、マロリー-ヴァイス症候群)、狭窄症、食道炎、横隔膜ヘルニア (例えば、裂孔ヘルニア)；胃腸疾患 (例えば、胃腸炎 (例えば、コレラ病、ノーウォークウイルス感染))、出血 (例えば、吐血、メレナ、消化性潰瘍出血)、胃新生物 (胃癌 (gastric cancer)、胃ポリープ、胃腺癌、胃癌 (stomach cancer))、ヘルニア (例えば、先天性横隔膜ヘルニア、大腿ヘルニア、兎径ヘルニア、閉鎖孔ヘルニア、臍ヘルニア、腹部ヘルニア)、および腸疾患 (例えば、盲端疾患 (虫垂炎、盲端新生物)) が挙げられる。

【0826】

(走化性)

本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチド、およびアゴニストまたはアンタゴニストは、走化性活性を有し得る。走化性分子は、細胞 (例えば、単球、線維芽細胞、好中球、T細胞、肥満細胞、好酸球、上皮細胞および/または内皮細胞) を、身体中の特定の部位 (例えば、炎症、感染、または過剰増殖の部位) に誘引または動員する。次いで、動員された細胞は、特定の外傷または異常を撃退および/または治癒し得る。

【0827】

10

20

30

40

50

本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチド、およびアゴニストまたはアンタゴニストは、特定の細胞の走化性活性を増大し得る。次いで、これらの走化性分子を使用して、身体中の特定の位置に標的化した細胞の数を増加させることによって、炎症、感染、過剰増殖性の障害または任意の免疫系障害を処置し得る。例えば、走化性分子を使用して、傷害を受けた位置に免疫細胞を誘引することによって、組織に対する創傷および他の外傷を処置し得る。本発明の走化性分子はまた、線維芽細胞を誘引し得、これは創傷を処置するために使用され得る。

【0828】

本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチド、およびアゴニストまたはアンタゴニストが走化性活性を阻害し得ることもまた意図される。これらの分子はまた、障害を処置するために使用され得る。従って、本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチド、およびアゴニストまたはアンタゴニストは、走化性のインヒビターとして使用され得る。

10

【0829】

(結合活性)

本発明のポリペプチドは、このポリペプチドに結合する分子、またはこのポリペプチドが結合する分子についてスクリーニングするために使用され得る。このポリペプチドとこの分子との結合は、結合したポリペプチドまたは分子の活性を活性化(アゴニスト)、増大、阻害(アンタゴニスト)、または減少させ得る。そのような分子の例としては、抗体、オリゴヌクレオチド、タンパク質(例えば、レセプター)、または低分子が挙げられる。

【0830】

好ましくは、この分子は、このポリペプチドの天然のリガンド(例えば、リガンドのフラグメント)、または天然の基質、リガンド、構造的模倣物、もしくは機能的模倣物に密接に関連する(Coliganら、Current Protocols in Immunology 1(2):第5章(1991)を参照のこと)。同様に、この分子は、このポリペプチドが結合する天然のレセプター、または少なくとも、このポリペプチドによって結合され得るレセプターのフラグメント(例えば、活性部位)に密接に関連し得る。いずれの場合においても、この分子は、公知の技術を用いて合理的に設計され得る。

20

【0831】

好ましくは、これらの分子についてのスクリーニングは、このポリペプチドを発現する適切な細胞を産生する工程を包含する。好ましい細胞としては、哺乳動物、酵母、Drosophila、またはE. coli由来の細胞が挙げられる。次いで、このポリペプチドを発現する細胞(または、発現されたポリペプチドを含む細胞膜)を、好ましくは、このポリペプチドまたはこの分子のいずれかの結合、活性の刺激、または活性の阻害を観察するための分子を潜在的に含む試験化合物と接触させる。

30

【0832】

このアッセイは、このポリペプチドへの候補化合物の結合を簡単に試験し得、ここで結合は、標識によって、または標識された競合物質との競合に関するアッセイにおいて検出される。さらに、アッセイは、候補化合物がこのポリペプチドへの結合によって生成されるシグナルを生じるか否かを試験し得る。

【0833】

あるいは、アッセイは、無細胞調製物、固体支持体に接着されたポリペプチド/分子、化学ライブラリー、または天然産物の混合物を用いて実施され得る。アッセイはまた、候補化合物を、ポリペプチドを含む溶液と混合する工程、ポリペプチド/分子の活性または結合を測定する工程、およびポリペプチド/分子の活性または結合を、標準と比較する工程を単に包含し得る。

40

【0834】

好ましくは、ELISAアッセイは、モノクローナル抗体またはポリクローナル抗体を用いて、サンプル(例えば、生物学的サンプル)におけるポリペプチドのレベルまたは活性を測定し得る。抗体は、ポリペプチドへの直接的もしくは間接的のいずれかの結合、または基質についてのポリペプチドとの競合によって、ポリペプチドのレベルまたは活性を測

50

定し得る。

【0835】

さらに、本発明のポリペプチドが結合するレセプターは、当業者に公知の多くの方法（例えば、リガンドパニングおよびFACSソーティング（Coliganら、Current Protocols in Immun., 1(2)、第5章(1991)）によって同定され得る。例えば、発現クローニングは、ポリアデニル化RNAがこのポリペプチドに应答する細胞から調製される場合に用いられ、例えば、NIH3T3細胞（これは、FGFファミリータンパク質に対する複数のレセプターを含むことが公知である）、およびSC-3細胞、およびこのRNAから作製されたcDNAライブラリーは、プールに分けられ、そしてこのポリペプチドに应答性でないCOS細胞または他の細胞をトランスフェクトするために使用される。ガラススライド上で増殖されるトランスフェクトされた細胞は、それらを標識化した後に、本発明のポリペプチドに曝露される。このポリペプチドは、種々の手段（部位特異的プロテインキナーゼに対する認識部位のヨウ素化または封入を含む）によって標識化され得る。

10

【0836】

固定化およびインキュベーション後、スライドは、オートラジオグラフィ分析に供される。陽性プールを同定し、そしてサブプールを、反復的なサブプール化および再スクリーニングプロセスを使用して調製および再トランスフェクトして、最終的に推定レセプターをコードする単一のクローンを生じる。

【0837】

レセプター同定のための代替のアプローチとして、標識ポリペプチドは、レセプター分子を発現する調製物を、細胞膜と光親和的に連結し得るか、または抽出し得る。架橋された材料は、PAGE分析によって分離され、そしてX線フィルムに曝露される。ポリペプチドのレセプターを含む標識複合体が切り出され得、ペプチドフラグメントへと分離され得、そしてタンパク質微量配列決定に供され得る。微量配列決定から得られるアミノ酸配列を使用して、1組の縮重オリゴヌクレオチドプローブを設計してcDNAライブラリーをスクリーニングし、推定レセプターをコードする遺伝子を同定する。

20

【0838】

さらに、遺伝子シャッフリング、モチーフシャッフリング、エキソンシャッフリング、および/またはコドンシャッフリングの技術（集合的に「DNAシャッフリング」という）を利用して、本発明のポリペプチドの活性を調節し得、それによって本発明のポリペプチドのアゴニストおよびアンタゴニストを効果的に生成する。一般に、米国特許第5,605,793号、同第5,811,238号、同第5,830,721号、同第5,834,252号、および同第5,837,458号、ならびにPatton, P. A.ら、Curr. Opin. Biotechnol. 8:724~33(1997); Harayama, S. Trends Biotechnol. 16(2):76~82(1998); Hansson, L. O.ら、J. Mol. Biol. 287:265~76(1999); ならびにLorenzo, M. M.およびBlasco, R. Biotechniques 24(2):308~13(1998)（これらの特許および刊行物の各々は、本明細書において参考として援用される）を参照のこと。1つの実施形態において、ポリヌクレオチドおよび対応するポリペプチドの変更は、DNAシャッフリングによって達成され得る。DNAシャッフリングは、相同組換えまたは部位特異的な組換えによる、2つ以上のDNAセグメントの、所望の分子への構築を含む。別の実施形態において、ポリヌクレオチドおよび対応するポリペプチドは、組換えの前に、エラープローン（error-prone）PCR、ランダムヌクレオチド挿入または他の方法によるランダム変異誘発に供することによって、変更され得る。別の実施形態において、本発明のポリペプチドの1つ以上の成分、モチーフ、切片、部分、ドメイン、フラグメントなどは、1つ以上の異種分子の1つ以上の成分、モチーフ、切片、部分、ドメイン、フラグメントなどと組換えられ得る。好ましい実施形態において、この異種分子は、ファミリーのメンバーである。さらに好ましい実施形態において、この異種分子は、例えば、血小板由来増

30

40

50

殖因子 (PDGF)、インスリン様増殖因子 (IGF-I)、トランスホーミング増殖因子 (TGF) - 、表皮増殖因子 (EGF)、線維芽細胞増殖因子 (FGF)、TGF - 、骨形成タンパク質 (BMP) - 2、BMP - 4、BMP - 5、BMP - 6、BMP - 7、アクチビンAおよびアクチビンB、デカペンタプレジック (decapentaplegic) (dpp)、60A、OP - 2、ドーサリン (dorsalin)、増殖分化因子 (GDF)、結節 (nodal)、MIS、インヒピン - 、TGF - 1、TGF - 2、TGF - 3、TGF - 5、および神経膠由来神経栄養因子 (GDNF) のような増殖因子である。

【0839】

他の好ましいフラグメントは、本発明のポリペプチドの生物学的に活性なフラグメントである。生物学的に活性なフラグメントは、本発明のポリペプチドの活性に類似の活性を示すが、必ずしも同一ではないフラグメントである。このフラグメントの生物学的活性は、改善された所望の活性、または減少した所望されない活性を含み得る。

10

【0840】

さらに、本発明は、本発明のポリペプチドの作用を調節する化合物を同定するために化合物をスクリーニングする方法を提供する。このようなアッセイの例は、哺乳動物線維芽細胞、本発明のポリペプチド、スクリーニングされるべき化合物および³[H]チミジンを、線維芽細胞が通常増殖する細胞培養条件下で合わせる工程を包含する。コントロールアッセイは、スクリーニングされるべき化合物の非存在下で実施され得、そしてこの化合物の存在下での線維芽細胞の増殖の量と比較して、各々の場合における³[H]チミジンの取り込みの決定によって、この化合物が増殖を刺激するか否かを決定し得る。線維芽細胞の増殖の量は、³[H]チミジンの取り込みを測定する液体シンチレーションクロマトグラフィーによって測定される。アゴニスト化合物およびアンタゴニスト化合物の両方が、この手順により同定され得る。

20

【0841】

別の方法において、本発明のポリペプチドに対するレセプターを発現する哺乳動物細胞または膜調製物は、この化合物の存在下において標識化した本発明のポリペプチドとともにインキュベートされる。次いで、この相互作用を増強またはブロックするこの化合物の能力が、測定され得る。あるいは、スクリーニングされるべき化合物とレセプターとの相互作用に従う既知のセカンドメッセンジャー系の応答が測定され、そしてこの化合物がこのレセプターに結合し、そしてセカンドメッセンジャー応答を誘発する能力を測定して、この化合物が潜在的なアゴニストまたはアンタゴニストであるか否かを決定する。このようなセカンドメッセンジャー系には、cAMPグアニル酸シクラーゼ、イオンチャネルまたはホスホイノシチド加水分解が挙げられるが、これらに限定されない。

30

【0842】

これらの上記のアッセイの全ては、診断マーカーまたは予後マーカーとして使用され得る。これらのアッセイを用いて発見される分子は、ポリペプチド/分子を活性化または阻害することによって、疾患を処置するか、あるいは患者に特定の結果 (例えば、血管増殖) をもたらしするために使用され得る。さらに、アッセイは、適切に操作された細胞または組織からの本発明のポリペプチドの産生を阻害または増強し得る因子を発見し得る。

40

【0843】

従って、本発明は、以下の工程を包含する本発明のポリペプチドに結合する化合物を同定する方法を包含する：(a) 候補結合化合物を本発明のポリペプチドとともにインキュベートする工程；および(b) 結合が生じたか否かを決定する工程。さらに、本発明は、以下の工程を包含するアゴニスト/アンタゴニストを同定する方法を包含する：(a) 候補化合物を本発明のポリペプチドとともにインキュベートする工程、(b) 生物学的活性をアッセイする工程、および(b) ポリペプチドの生物学的活性が改変されているか否かを決定する工程。

【0844】

(標的化された送達)

50

別の実施形態において、本発明は、本発明のポリペプチドについてのレセプターを発現する標的化細胞、または本発明のポリペプチドの細胞結合形態を発現する細胞に組成物を送達する方法を提供する。

【0845】

本明細書中で議論される場合、本発明のポリペプチドまたは抗体は、異種ポリペプチド、異種核酸、毒素またはプロドラッグと、疎水性、親水性、イオン性および/または共有結合性の相互作用を介して会合し得る。1つの実施形態において、本発明は、異種ポリペプチドまたは核酸と会合した本発明のポリペプチド（抗体を含む）を投与することによる、本発明の組成物の細胞への特異的な送達のための方法を提供する。1つの例において、本発明は、治療タンパク質を標的化細胞中へ送達するための方法を提供する。別の例において、本発明は、一本鎖核酸（例えば、アンチセンスまたはリボザイム）あるいは二本鎖核酸（例えば、細胞のゲノムに組み込まれ得るか、またはエピソームにて複製し得、そして転写され得る、DNA）を、標的化細胞に送達するための方法を提供する。

10

【0846】

別の実施形態において、本発明は、毒素または細胞障害性プロドラッグと会合した本発明のポリペプチド（例えば、本発明のポリペプチドまたは本発明の抗体）を投与することによる細胞の特異的破壊（例えば、腫瘍細胞の破壊）のための方法を提供する。

【0847】

「毒素」とは、内因性の細胞障害性エフェクター系、放射性同位体、ホロ毒素（holotoxin）、改変型毒素、毒素の触媒サブユニット、または規定の条件下で細胞死を引き起こす細胞中もしくは細胞表面に通常存在しない任意の分子もしくは酵素を、結合および活性化する化合物を意味する。本発明の方法に従って使用され得る毒素としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：当該分野で公知の放射性同位体、固有のまたは誘導された内因性の細胞障害性エフェクター系に結合する化合物（例えば、抗体（またはその一部を含む固定補体）、チミジンキナーゼ、エンドヌクレアーゼ、RNAse、毒素、リシン、アブリン、Pseudomonas内毒素A、ジフテリア毒素、サポリン、モモルジン（momordin）、ゲロニン（gelonin）、ヨウシュヤマゴボウ抗ウイルスタンパク質、 α -サルシン（sarcin）およびコレラ毒素。「細胞障害性プロドラッグ」とは、通常細胞内に存在する酵素によって、細胞傷害性化合物へと変換される非毒性の化合物を意味する。本発明の方法に従って使用され得る細胞傷害性プロドラッグとしては、安息香酸マスタードアルキル化剤のグルタミル誘導體、エトポシドまたはマイトマイシンCのリン酸誘導體、シトシンアラビノシド、ダウノルビシン、およびドキシルビシンのフェノキシアセトアミド誘導體が挙げられるが、これらに限定されない。

20

30

【0848】

（薬物スクリーニング）

本発明のポリペプチドの活性を改変する分子についてスクリーニングするための、本発明のポリペプチド、またはこれらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドの使用が、さらに意図される。このような方法は、本発明のポリペプチドを、アンタゴニスト活性またはアゴニスト活性を有することが疑われる選択された化合物と接触させる工程、および結合に続いてこれらのポリペプチドの活性をアッセイする工程を包含する。

40

【0849】

本発明は、種々の薬物スクリーニング技術のいずれかにおいて、本発明のポリペプチド、またはそれらの結合フラグメントを使用することによって治療用化合物をスクリーニングするために特に有用である。このような試験に用いられるポリペプチドまたはフラグメントは、固体支持体に固定化され得、細胞表面上に発現され得、溶液中で遊離であり得、または細胞内に局在化され得る。薬物スクリーニングの1つの方法は、ポリペプチドまたはフラグメントを発現する組換え核酸を用いて安定に形質転換される真核生物宿主細胞または原核生物宿主細胞を利用する。薬物は、競合結合アッセイにおいて、このような形質転換細胞に対してスクリーニングされる。例えば、試験される薬剤と本発明のポリペプチドとの間の複合体の形成（formulation）を測定し得る。

50

【0850】

従って、本発明は、本発明のポリペプチドによって媒介される活性に影響を及ぼす薬物または任意の他の薬剤についてのスクリーニング方法を提供する。これらの方法は、当該分野で周知の方法によって、このような薬剤を本発明のポリペプチドもしくはそのフラグメントと接触させる工程、およびこの薬剤とこのポリペプチドもしくはそのフラグメントとの間の複合体の存在についてアッセイする工程を包含する。このような競合結合アッセイにおいて、スクリーニングされる薬剤は、代表的に、標識化される。インキュベーション後に、遊離の薬剤は、結合形態中に存在する薬剤から分離され、そして遊離または複合体化されていない標識の量は、特定の薬剤が本発明のポリペプチドに結合する能力の尺度である。

10

【0851】

薬物スクリーニングについての別の技術は、本発明のポリペプチドに対する適切な結合親和性を有する化合物に対するハイスループットスクリーニングを提供し、そして欧州特許出願84/03564(1984年9月13日公開)(これは、本明細書中で参考として援用される)に非常に詳細に記載される。簡潔にいうと、大量の異なる小さなペプチド試験化合物は、固体基材(例えば、プラスチックピンまたはいくつかの他の表面)上で合成される。ペプチド試験化合物を、本発明のポリペプチドと反応させ、そして洗浄する。次いで、結合したポリペプチドは、当該分野で周知の方法によって検出される。精製されたポリペプチドは、前述の薬物スクリーニング技術での使用のためにプレート上に直接コーティングされる。さらに、非中和抗体を使用して、このペプチドを捕捉し得、そして固体支持体上にそれを固定し得る。

20

【0852】

本発明はまた、競合薬物スクリーニングアッセイの使用を意図し、ここで、本発明のポリペプチドを結合し得る中和抗体は、ポリペプチドまたはそのフラグメントに対する結合について試験化合物と特異的に競合する。この様式において、抗体を使用して、本発明のポリペプチドと1つ以上の抗原性エピトープを共有する任意のペプチドの存在を検出する。

【0853】

(アンチセンスおよびリボザイム(アンタゴニスト))

特定の実施形態において、本発明に従うアンタゴニストは、配列番号Xに含まれる配列またはその相補鎖に対応する核酸および/または、例えば表1で同定されるcDNAプラスミドZに含まれるcDNA配列に対応する核酸である。1つの実施形態において、アンチセンス配列は、生物体により内部で生成され、別の実施形態において、アンチセンス配列は別々に投与される(例えば、O'Connor, Neurochem. 56:560(1991); Oligodeoxynucleotides as Antisense Inhibitors of Gene Expression, CRC Press, Boca Raton, FL(1988)を参照のこと)。アンチセンス技術を使用して、アンチセンスDNAもしくはRNAを通してか、または3重ヘリックス形成を通して遺伝子発現を制御し得る。アンチセンス技術は、例えば、Okano, J, Neurochem. 56:560(1991); Oligodeoxynucleotides as Antisense Inhibitors of Gene Expression, CRC Press, Boca Raton, FL(1988)に考察される。3重ヘリックス形成は、例えば、Leeら、Nucleic Acids Research 6:3073(1979); Cooneyら、Science, 241:456(1988); およびDervanら、Science, 251:1300(1991)において考察される。これらの方法は、相補的なDNAまたはRNAへのポリヌクレオチドの結合に基づく。

30

40

【0854】

例えば、非リンパ性白血病細胞株HL-60および他の細胞株の増殖を阻害するためのc-mycおよびc-mybアンチセンスRNA構築物の使用は、以前に記載された(Wickstromら(1988); Anfossiら(1989))。これらの実験は、細

50

胞をオリゴリボヌクレオチドと共にインキュベーションすることによってインビトロで行われた。インビボ用途のための類似の手順は、WO 91/15580に記載される。簡単には、所定のアンチセンスRNAについてのオリゴヌクレオチドの対は、以下のように生成される：オープンリーディングフレームの最初の15塩基に相補的な配列を、5末端のEcoRI部位および3末端のHindIII部位に隣接させる。次に、オリゴヌクレオチドの対は、90℃で1分間加熱され、次いで2×連結緩衝液(20 mM TRIS HCl pH 7.5、10 mM MgCl₂、10 mM ジチオスレイトール(DTT)および0.2 mM ATP)中でアニーリングされ、次いで、レトロウイルスベクターPMV7のEcoRI/HindIII部位に連結される(WO 91/15580)。

【0855】

例えば、本発明のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドの5'コード部分を使用して、約10~40塩基対長のアンチセンスRNAオリゴヌクレオチドを設計し得る。DNAオリゴヌクレオチドは、転写に關与する遺伝子の領域に相補的であるように設計され、それにより転写およびレセプターの産生を阻害する。アンチセンスRNAオリゴヌクレオチドは、インビボでmRNAにハイブリダイズし、そしてmRNA分子のレセプターポリペプチドへの翻訳をブロックする。

【0856】

1つの実施形態において、本発明のアンチセンス核酸は、外来の配列からの転写により細胞内で産生される。例えば、ベクターまたはその一部が転写され、本発明のアンチセンス核酸(RNA)を産生する。このようなベクターは、このアンチセンス核酸をコードする配列を含む。このようなベクターは、それが転写されて所望のアンチセンスRNAを産生し得る限り、エピソームを保持し得るか、または染色体に組込まれ得る。このようなベクターは、当該分野において標準的な組換えDNA技術方法により構築され得る。ベクターは、脊椎動物細胞において複製および発現のために使用される、当該分野で公知のプラスミド、ウイルスなどであり得る。本発明のポリペプチドをコードする配列またはそのフラグメントの発現は、脊椎動物、好ましくはヒト細胞において作用する、当該分野で公知の任意のプロモーターにより得る。このようなプロモーターは、誘導性または構成性であり得る。このようなプロモーターは、SV40初期プロモーター領域(Bernois et al.およびChambon, Nature, 29:304-310(1981))、ラウス肉腫ウイルスの3'長末端反復に含まれるプロモーター(Yamamoto et al., Cell, 22:787-797(1980))、ヘルペスチミジンプロモーター(Wagner et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 78:1441-1445(1981))、メタロチオネイン遺伝子の調節配列(Brinster et al., Nature, 296:39-42(1982))などが挙げられるが、これらに限定されない。

【0857】

本発明のアンチセンス核酸は、本発明の遺伝子のRNA転写物の少なくとも一部に相補的な配列を含む。しかし、完全に相補的であることは好ましいが、この必要はない。本明細書中で言及される「少なくともRNAの一部に相補的な」配列は、RNAとハイブリダイズし得るに十分な相補性を有し、安定な二重鎖を形成する配列を意味し；従って、二本鎖アンチセンス核酸の場合において、二重鎖DNAの一本鎖が試験され得るか、または三重鎖形成がアッセイされ得る。ハイブリダイズする能力は、相補性の程度およびアンチセンス核酸の長さの両方に依存する。一般的に、ハイブリダイズする核酸が長いほど、RNAとのより多くの塩基ミスマッチを含み得、そして安定な二重鎖(または三重鎖の場合もあり得る)をなお形成し得る。当業者は、ハイブリダイズした複合体の融点を決定するために標準的な手順を使用することによりミスマッチの許容の程度を確認し得る。

【0858】

メッセージの5'末端に相補的であるオリゴヌクレオチド(例えば、AUG開始コドンまでかつAUG開始コドンを含む5'非翻訳配列)は、翻訳の阻害の際に最も効率的に作用するはずである。しかし、mRNAの3'非翻訳配列に相補的な配列は、同様にmRNAの翻訳を阻害する際に有効であることが示された。一般的に、Wagner, R., 1

10

20

30

40

50

994、Nature 372:333-335を参照のこと。従って、本明細書中に記載されるポリヌクレオチド配列の5'-または3'-の非翻訳非コード領域のいずれかに相補的なオリゴヌクレオチドは、内因性mRNAの翻訳を阻害するアンチセンスアプローチに使用され得る。mRNAの5'非翻訳領域に相補的なオリゴヌクレオチドは、AUG開始コドンの相補物を含むはずである。mRNAコード領域に相補的なアンチセンスオリゴヌクレオチドは、あまり効率的でない翻訳のインヒビターであるが、本発明に従って使用され得る。本発明のmRNAの5'領域、3'領域またはコード領域にハイブリダイズするように設計されるか否かにかかわらず、アンチセンス核酸は、少なくとも6ヌクレオチド長であるべきであり、そして好ましくは6~約50ヌクレオチド長にわたるオリゴヌクレオチドである。特定の局面において、このオリゴヌクレオチドは、少なくとも10ヌクレオチド、少なくとも17ヌクレオチド、少なくとも25ヌクレオチドまたは少なくとも50ヌクレオチドである。

10

【0859】

本発明のポリヌクレオチドは、DNA、もしくはRNA、またはキメラ混合物、あるいはそれらの誘導体もしくは改変バージョン、一本鎖、または二本鎖であり得る。このオリゴヌクレオチドは、塩基部分、糖部分、またはリン酸骨格で改変されて、例えば、分子の安定性、ハイブリダーゼーションなどを改善し得る。このオリゴヌクレオチドは、ペプチドのような他の付加基（例えば、インビボにおいて宿主細胞レセプターを標的化するために）、または細胞膜を通した輸送を促進する因子（例えば、Lettingerら、1989、Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 86:6553-6556; Lemaitreら、1987、Proc. Natl. Acad. Sci. 84:648-652; PCT公開番号WO88/09810（1988年12月15日公開）を参照のこと）、または血液-脳関門（例えば、PCT公開番号WO89/10134（1988年4月25日公開）を参照のこと）、ハイブリダイゼーション誘引切断剤（hybridization-triggered cleavage agent）（例えば、Krolら、1988、BioTechniques、6:958-976を参照のこと）、またはインターカレート剤（例えば、Zon、1988、Pharm. Res. 5:539-549を参照のこと）を含み得る。この目的のために、オリゴヌクレオチドは、別の分子（例えば、ペプチド、ハイブリダーゼーション誘引架橋剤、輸送剤、ハイブリダイゼーション誘引切断剤など）に結合体化され得る。

20

30

【0860】

アンチセンスオリゴヌクレオチドは、少なくとも1つの改変された塩基部分を含み得、この塩基部分は、以下を含むがそれらに限定されない群から選択される：5-フルオロウラシル、5-プロモウラシル、5-クロロウラシル、5-ヨードウラシル、ヒポキサンチン、キサンチン、4-アセチルシトシン、5-(カルボキシヒドロキシメチル)ウラシル、5-カルボキシメチルアミノメチル-2-チオウリジン、5-カルボキシメチルアミノメチルウラシル、ジヒドロウラシル、-D-ガラクトシルキユーオシン、イノシン、N6-イソペンテニルアデニン、1-メチルグアニン、1-メチルイノシン、2,2-ジメチルグアニン、2-メチルアデニン、2-メチルグアニン、3-メチルシトシン、5-メチルシトシン、N6-アデニン、7-メチルグアニン、5-メチルアミノメチルウラシル、5-メトキシアミノメチル-2-チオウラシル、-D-マンノシルキユーオシン、5'-メトキシカルボキシメチルウラシル、5-メトキシウラシル、2-メチルチオ-N6-イソペンテニルアデニン、ウラシル-5-オキシ酢酸(v)、ワイブトキソシン(wybutoxosine)、プソイドウラシル、キユーオシン、2-チオシトシン、5-メチル-2-チオウラシル、2-チオウラシル、4-チオウラシル、5-メチルウラシル、ウラシル-5-オキシ酢酸メチルエステル、ウラシル-5-オキシ酢酸(v)、5-メチル-2-チオウラシル、3-(3-アミノ-3-N-2-カルボキシプロピル)ウラシル、(acp3)w、および2,6-ジアミノプリン。

40

【0861】

アンチセンスオリゴヌクレオチドはまた、以下を含むがそれらに限定されない群から選択

50

される少なくとも1つの改変された糖部分を含み得る：アラビノース、2-フルオロアラビノース、キシロース、およびヘキソース。

【0862】

さらなる別の実施形態において、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、以下を含むがそれらに限定されない群から選択される少なくとも1つの改変されたリン酸骨格を含む：ホスホロチオエート、ホスホロジチオエート、ホスホルアミドチオエート (phosphoramidothioate)、ホスホルアミデート、ホスホルジアミデート、メチルホスホネート、アルキルホスホトリエステル、およびホルムアセタール (formacetal) またはそれらのアナログ。

【0863】

さらに別の実施形態において、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、a-アノマーオリゴヌクレオチドである。a-アノマーオリゴヌクレオチドは、相補的なRNAと特異的な二本鎖ハイブリッドを形成し、通常のb-ユニットとは反対に、その鎖は互いに平行にする (Gautierら、1987、Nucl. Acids Res.、15:6625-6641)。このオリゴヌクレオチドは、2'-O-メチルリボヌクレオチドであるか (Inoueら、1987、Nucl. Acids Res.、15:6131-6148)、またはキメラRNA-DNAアナログである (Inoueら、1987、FEBS Lett. 215:327-330)。

【0864】

本発明のポリヌクレオチドは当該分野で公知の標準的な方法 (例えば、自動DNA合成機により (このような装置はBiosearch, Applied Biosystemsなどから市販されている) の使用により) 合成され得る。例えば、ホスホロチオエートオリゴヌクレオチドは、Steinらの方法 (1988、Nucl. Acids Res.、16:3209) により合成され得、メチルホスホネートオリゴヌクレオチドは、コントロールドポアガラス (controlled pore glass) ポリマー支持体 (Sarinら、1988、Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.、85:7448-7451) などの使用により調製され得る。

【0865】

コード領域配列に相補的なアンチセンスヌクレオチドが使用され得る一方、転写された非翻訳領域に相補的なアンチセンスヌクレオチドが最も好ましい。

【0866】

本発明による潜在的なアンタゴニストはまた、触媒RNA、すなわちリボザイムを含む (例えば、PCT国際公開WO90/11364、1990年10月4日公開; Sarverら、Science、247:1222-1225 (1990) を参照のこと)。部位特異的認識配列でmRNAを切断するリボザイムを使用してmRNAを破壊し得る一方、ハンマーヘッド型リボザイムの使用が好ましい。ハンマーヘッド型リボザイムは、標的mRNAと相補的な塩基対を形成する隣接領域により決定される位置で、mRNAを切断する。唯一の必要条件は、標的mRNAが以下の2つの塩基配列: 5'-UG-3'を有することである。ハンマーヘッド型リボザイムの構築および生成は当該分野で周知であり、そしてHaseloffおよびGerlach、Nature、334:585-591 (1988) により十分に記載されている。配列番号Xのヌクレオチド配列内に多くの潜在的なハンマーヘッド型リボザイム切断部位が存在する。好ましくは、このリボザイムは、切断認識部位がmRNAの5'末端付近に位置するように; すなわち、効率を増大し、そして非機能的mRNA転写物の細胞内蓄積を最小化するように、操作される。

【0867】

アンチセンスアプローチの場合、本発明のリボザイムは、改変されたオリゴヌクレオチド (例えば、改変された安定性、標的化などのために) から構成され得、そしてインピボで発現する細胞に送達されるべきである。リボザイムをコードするDNA構築物は、DNAをコードするアンチセンスの導入のための上記と同じ様式において細胞中に導入され得る。送達の好ましい方法は、強力な構成性プロモーター (例えば、pol IIIまたはp

10

20

30

40

50

1 I Iプロモーターのような)の制御下で、リボザイムを「コードする」DNA構築物を使用することを含み、その結果トランスフェクトした細胞が内因性メッセージを破壊し、そして翻訳を阻害するに十分な量のリボザイムを生成する。リボザイムはアンチセンス分子と異なり触媒性であるので、より低い細胞内濃度が効率のために必要とされる。

【0868】

アンタゴニスト/アゴニスト化合物を利用して、腫瘍性の細胞および組織に対する本発明のポリペプチドの細胞成長(growth)および増殖(proliferation)効果を阻害し得る。すなわち、腫瘍の新脈管形成を刺激し、それにより異常な細胞成長および増殖を(例えば、腫瘍形成または増殖において)遅延または防止する。

【0869】

アンタゴニスト/アゴニストをまた利用して、血管過多の疾患を予防し得、そして水晶体囊外白内障(extracapsular cataract)手術後の上皮レンズ細胞の増殖を防止し得る。本発明のポリペプチドのミトジェン活性の防止はまた、例えば、バルーン血管形成術後の再狭窄のような場合に要求され得る。

【0870】

アンタゴニスト/アゴニストをまた利用して、創傷治癒の間の癒痕組織の増殖を防止し得る。

【0871】

アンタゴニスト/アゴニストをまた利用して、本明細書中に記載される疾患を処置し得る。

【0872】

従って、本発明は、障害または疾患(本発明のポリヌクレオチドの過剰発現に関連する、本願の全体に渡って列挙される障害または疾患が含まれるが、これらに限定されない)を処置する方法であって、(a)本発明のポリヌクレオチドに関するアンチセンス分子、および/または(b)本発明のポリヌクレオチドに関するリボザイムを、患者に投与することによって処置する方法を提供する。

【0873】

(結合ペプチドおよび他の分子)

本発明はまた、本発明のポリペプチドに結合するポリペプチドおよび非ポリペプチドを同定するためのスクリーニング方法、およびそれによって同定された結合分子を含む。これらの結合分子は、例えば、本発明のポリペプチドのアゴニストおよびアンタゴニストとして有用である。そのようなアゴニストおよびアンタゴニストは、本発明に従って、以下に詳細に記載される治療実施形態において使用され得る。

【0874】

この方法は、以下の工程を包含する：

1. 本発明のポリペプチドを複数の分子と接触させる工程；および
2. 本発明のポリペプチドに結合する分子を同定する工程。

【0875】

本発明のポリペプチドを複数の分子と接触させる工程は、多数の方法によってもたらされ得る。例えば、当業者は、ポリペプチドを固体支持体上に固定化させ、そして複数の分子の溶液を固定化ポリペプチドと接触させることを考え得る。このような手順は、本発明の固定化ポリペプチドから構成される親和性マトリックスを用いるアフィニティークロマトグラフィープロセスに類似している。次いで、ポリペプチドに対して選択的な親和性を有する分子が、親和性選択によって精製され得る。固体支持体の性質、ポリペプチドのこの固体支持体への付着に関するプロセス、溶媒、および親和性単離または親和性選択の条件は、大部分が慣用的であり、そして当業者に周知である。

【0876】

あるいは、当業者はまた、複数のポリペプチドを、ポリペプチドのサブセットまたは個々のポリペプチドを含む実質的に別々の分画へ分離し得る。例えば、複数のポリペプチドは、ゲル電気泳動、カラムクロマトグラフィーなどポリペプチドの分離に関して当業者に公

10

20

30

40

50

知の方法によって、分離され得る。個々のポリペプチドはまた、宿主細胞の外部表面上またはほぼ外部表面に発現されるような様式で、形質転換された宿主細胞（例えば、組換えファージ）によって産生され得る。次いで、個々の単離物は、本発明のポリペプチドによって「プローブ化」され得、必要に応じて発現に必要とされるであろうインデューサーの存在下で、ポリペプチドと個々のクローンとの間で任意の選択的親和性相互作用が起こったか否かが決定される。ポリペプチドを個々のポリペプチドを含む各分画と接触させる前に、これらのポリペプチドはまず、さらなる簡便性のために固体支持体に移され得る。そのような固体支持体は、単に、例えばニトロセルロースまたはナイロンでできたフィルター膜の断片であり得る。この様式において、陽性クローンは、形質転換宿主細胞の発現ライブラリーの集団（これらは、本発明のポリペプチドに対して選択的親和性を有するポリペプチドをコードするDNA構築物を持つ）から同定され得る。さらに、本発明のポリペプチドに対して選択的親和性を有するポリペプチドのアミノ酸配列が、従来的手段によって直接決定され得るか、またはこのポリペプチドをコードするDNAのコード配列が、頻繁により簡便に決定され得る。次いで、一次配列が、対応するDNA配列から推定され得る。アミノ酸配列がポリペプチド自体から決定されるものである場合、微小配列決定技術を使用し得る。この配列決定技術は、質量分析法を含み得る。

10

【0877】

特定の状況において、選択的親和性相互作用の存在を決定または検出しようと試みる前に、未結合ポリペプチドのいずれかを、本発明のポリペプチドおよび複数のポリペプチドの混合物から洗浄除去することが望ましくあり得る。このような洗浄工程は、本発明のポリペプチドまたは複数のポリペプチドが固体支持体に結合している場合に、特に望ましくあり得る。

20

【0878】

本方法に従って提供される複数の分子は、多様性ライブラリー（例えば、本発明のポリペプチドへ特異的に結合する分子をスクリーニングし得るランダムまたはコンビナトリアルな、ペプチドライブラリーまたは非ペプチドライブラリー）として提供され得る。使用され得る多くのライブラリー（例えば、化学合成ライブラリー、組換えライブラリー（例えば、ファージディスプレイライブラリー）、およびインビトロ翻訳ベースのライブラリー）が、当該分野で公知である。化学合成ライブラリーの例は、以下に記載される：Fodorら、1991、*Science* 251:767-773；Houghtenら、1991、*Nature* 354:84-86；Lamら、1991、*Nature* 354:82-84；Medyanski、1994、*Bio/Technology* 12:709-710；Galloppら、1994、*J. Medicinal Chemistry* 37(9):1233-1251；Ohlmeyerら、1993、*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:10922-10926；Erbら、1994、*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:11422-11426；Houghtenら、1992、*Biotechniques* 13:412；Jayawickremesら、1994、*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:1614-1618；Salmonら、1993、*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:11708-11712；PCT公開番号WO93/20242；

30

40

【0879】

ファージディスプレイライブラリーの例は、以下に記載される：ScottおよびSmith、1990、*Science* 249:386-390；Devlinら、1990、*Science*、249:404-406；Christian, R. B.ら、1992、*J. Mol. Biol.* 227:711-718；Lenstra、1992、*J. Immunol. Meth.* 152:149-157；Kayら、1993、*Gene* 128:59-65；ならびにPCT公開番号WO94/18318（1994年8月18日）。

50

【0880】

インビトロ翻訳ベースのライブラリーとしては、以下：PCT公開番号WO91/05058(1991年4月18日)；およびMattheakisら、1994, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:9022-9026に記載されるものが挙げられるが、これらに限定されない。

【0881】

非ペプチドライブラリーの例として、ベンゾジアゼピンライブラリー(例えば、Buninら、1994, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:4708-4712を参照のこと)が、使用のために適応され得る。ペプチドライブラリー(Simonら、1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:9367-9371)がまた使用され得る。使用され得るライブラリーの別の例は、Ostreshら(1994, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:11138-11142)によって記載され、ここでは、ペプチド中のアミド官能基が、過剰にメチル化(permethylation)されて、化学的に形質転換されたコンビナトリアルライブラリーを生成する。

10

【0882】

本発明において有用である種々の非ペプチドライブラリーは、大きい。例えば、EcklerおよびCrooke(1995, Bio/Technology 13:351-360)は、種々のライブラリーの基礎を形成する化学種の間として、ベンゾジアゼピン、ヒダントイン、ピペラジンジオン、ピフェニル、糖アナログ、 α -メルカプトケトン、アリアル酢酸、アシルピペリジン、ベンゾピラン、キューバン(cubane)、キサントン、アミンイミドおよびオキサゾロンを列挙している。

20

【0883】

非ペプチドライブラリーは、2つの型に大きく分類され得る：修飾されたモノマーおよびオリゴマー。修飾モノマーライブラリーは、比較的単純な骨格構造を使用し、この上に種々の官能基が付加される。しばしば、骨格は、既知の有用な薬理的活性を有する分子である。例えば、骨格は、ベンゾジアゼピン構造であり得る。

【0884】

非ペプチドオリゴマーライブラリーは、モノマーの順序に依存する新規な形状を作製する様式で共にアセンブルされる、多数のモノマーを使用する。使用されるモノマー単位の間には、カルバメート、ピロリノン(pyrrrolinone)およびモルホリノがある。ペプチド(側鎖が炭素よりもアミノ基に結合するペプチド様オリゴマー)は、非ペプチドオリゴマーライブラリーの別のバージョンの基礎を形成する。最初の非ペプチドオリゴマーライブラリーは、単一型のモノマーを使用し、従って、反復骨格を含む。近年のライブラリーは、1つより多くのモノマーを使用し、自由度が添加されたライブラリーを与える。

30

【0885】

ライブラリーをスクリーニングすることは、種々の一般的に公知の方法のいずれかによって達成され得る。例えば、ペプチドライブラリーのスクリーニングを開示する以下の参考文献：ParmleyおよびSmith、1989, Adv. Exp. Med. Biol 251:215-218；ScottおよびSmith、1990, Science 249:386-390；Fowlkesら、1992；BioTechniques 13:422-427；Oldenburgら、1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:5393-5397；Yuら、1994, Cell 76:933-945；Staudtら、1988, Science 241:577-580；Bockら、1992, Nature 355:564-566；Tuerkら、1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:6988-6992；Ellingtonら、1992, Nature 355:850-852；米国特許第5,096,815号、米国特許第5,223,409号、および米国特許第5,198,346号(全てLadnerらに対して)；RebarおよびPabo、1993, Sc

40

50

ience 263:671-673; ならびにPCT公開番号WO94/18318を参照のこと。

【0886】

特定の実施形態において、本発明のポリペプチドを結合する分子を同定するためのスクリーニングは、ライブラリーのメンバーを固相に固定化された本発明のポリペプチドと接触させ、そして本発明のポリペプチドに結合するこれらのライブラリーのメンバーを収集することによって実行され得る。そのようなスクリーニング方法の例の、「パニング」と呼ばれる技術は、例として、ParmleyおよびSmith, 1988, Gene 73:305-318; Fowlkesら、1992, BioTechniques 13:422-427; PCT公開番号WO94/18318; ならびにその中に引用される参考文献に記載される。

10

【0887】

別の実施形態において、酵母中の相互作用タンパク質を選択するためのツーハイブリッドシステム(FieldsおよびSong, 1989, Nature 340:245-246; Chienら、1991, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:9578-9582)が、本発明のポリペプチドに特異的に結合する分子を同定するために使用され得る。

【0888】

この結合分子がポリペプチドである場合、このポリペプチドは、任意のペプチドライブラリー(ランダムペプチドライブラリー、コンビナトリアルペプチドライブラリー、またはバイアスペプチドライブラリーを含む)から簡便に選択され得る。用語「バイアス(biased)」は、この場合のペプチドにおいて、ライブラリーを作製する方法が、生じる分子収集の多様性を支配する1つ以上のパラメーターを制限するように操作されることを意味するために本明細書中に使用される。

20

【0889】

従って、本当にランダムなペプチドライブラリーは、ペプチドの所定の位置に特定のアミノ酸を見出す可能性が全て20のアミノ酸に関して同じである、ペプチドの収集物を作製する。しかし、例えば、リジンが5番目のアミノ酸毎に生じることを特定するかまたはデカペプチドライブラリーの4位、8位および9位がアルギニンのみを含むように固定して特定することによって、バイアスがライブラリー中に導入され得る。明らかに、バイアスの多くの型は、意図され得、そして本発明は、任意の特定のバイアスに制限されない。さらに、本発明は、特定の型のペプチドライブラリー(例えば、ファージディスプレイペプチドライブラリーおよびDNA挿入物と共にファージベクターを含むDNA構築物を使用するライブラリー)を意図する。

30

【0890】

上記のように、ポリペプチドである結合分子の場合、このポリペプチドは、約6から約60より少ないアミノ酸残基、好ましくは約6~約10アミノ酸残基、そして最も好ましくは約6~約22アミノ酸を有し得る。別の実施形態において、この結合ポリペプチドは、15~100の範囲のアミノ酸、または20~50の範囲のアミノ酸を有する。

【0891】

選択された結合ポリペプチドは、化学合成または組換え発現によって得られ得る。

40

【0892】

(他の活性)

本発明のポリペプチド、ポリヌクレオチド、アゴニスト、またはアンタゴニストは、血管内皮細胞増殖を刺激する能力の結果として、種々の疾患状態(例えば、血栓症、動脈硬化、および他の心臓血管の状態)に起因する虚血組織の血管再生を刺激するための処置において利用され得る。本発明のポリペプチド、ポリヌクレオチド、アゴニスト、またはアンタゴニストをまた利用して、上記で議論されるように新脈管形成および肢の再形成を刺激し得る。

【0893】

50

本発明のポリペプチド、ポリヌクレオチド、アゴニスト、またはアンタゴニストを、傷害、火傷、手術後組織修復、および癬痕に起因する創傷の処置にもまた利用し得る。なぜなら、それらは異なる起源の種々の細胞（例えば、線維芽細胞および骨格筋細胞）に対してマイトジェン性であり、それゆえダメージを受けた組織または疾患組織の修復または置換を促進するからである。

【0894】

本発明のポリペプチド、ポリヌクレオチド、アゴニストまたはアンタゴニストはまた、ニューロンの成長を刺激し、そして特定のニューロンの障害または神経変性状態（例えば、アルツハイマー病、パーキンソン病、およびAIDS関連複合体）において生じるニューロンの損傷を処置および予防するために用いられ得る。本発明のポリペプチド、ポリヌクレオチド、アゴニストまたはアンタゴニストは、軟骨細胞増殖を刺激する能力を有し得、それゆえ、それらは、骨および歯周の再形成を増強し、そして組織移植片または骨の移植片における補助のために利用され得る。

10

【0895】

本発明のポリペプチド、ポリヌクレオチド、アゴニストまたはアンタゴニストをまた利用して、ケラチノサイト増殖を刺激することにより、日焼けに起因する皮膚の老化を予防し得る。

【0896】

本発明のポリペプチド、ポリヌクレオチド、アゴニストまたはアンタゴニストをまた、抜け毛を予防するために利用し得る。なぜなら、FGFファミリーのメンバーは、髪形成細胞を活性化し、そしてメラノサイト増殖を促進するからである。同じ方針で、本発明のポリペプチド、ポリヌクレオチド、アゴニストまたはアンタゴニストを利用して、他のサイトカインと組み合わせて使用した場合、造血細胞および骨髄細胞の増殖および分化を刺激し得る。

20

【0897】

本発明のポリペプチド、ポリヌクレオチド、アゴニストまたはアンタゴニストをまた、移植前の器官を維持するためか、または初代組織の細胞培養を支持するために使用し得る。本発明のポリペプチド、ポリヌクレオチド、アゴニストまたはアンタゴニストはまた、初期胚において分化するように中胚葉起源の組織を誘導するために利用され得る。

【0898】

本発明のポリペプチド、ポリヌクレオチド、アゴニストまたはアンタゴニストはまた、上記で議論されるような造血系統に加えて、胚性幹細胞の分化または増殖を増加または減少し得る。

30

【0899】

本発明のポリペプチド、ポリヌクレオチド、アゴニストまたはアンタゴニストはまた、哺乳動物の特徴（例えば、身長、体重、毛の色、眼の色、皮膚、脂肪組織の割合、色素沈着、大きさ、および形（例えば、美容外科））を調節するために使用され得る。同様に、本発明のポリペプチド、ポリヌクレオチド、アゴニストまたはアンタゴニストは、異化作用、同化作用、プロセッシング、利用、およびエネルギーの貯蔵に影響を及ぼす哺乳動物の代謝を調節するために使用され得る。

40

【0900】

本発明のポリペプチド、ポリヌクレオチド、アゴニストまたはアンタゴニストは、肥満症、悪液質、消耗病、食欲不振および過食症を含むがこれらに限定されない体重障害を処置するために使用され得る。

【0901】

本発明のポリペプチド、ポリヌクレオチド、アゴニストもしくはアンタゴニストは、バイオリズム、心臓（*cardiac*）リズム、うつ病（抑うつ性の障害を含む）、暴力の傾向、痛みへの耐性、生殖能力（好ましくは、アクチビンまたはインヒビン様活性によって）、ホルモンレベルもしくは内分泌レベル、食欲、性欲、記憶、ストレス、または他の認知の質に影響を及ぼすことによって、哺乳動物の精神状態または身体状態を変更する

50

ために使用され得る。

【0902】

本発明のポリペプチド、ポリヌクレオチド、アゴニストまたはアンタゴニストはまた、例えば、貯蔵能力、脂肪含有量、脂質、タンパク質、炭水化物、ビタミン、ミネラル、補因子、または他の栄養成分を増加または減少させるような食品添加物または保存剤として使用され得る。

【0903】

上記の適用は、広範な種類の宿主における用途を有する。このような宿主としては、ヒト、マウス (murine)、ウサギ、ヤギ、モルモット、ラクダ、ウマ、マウス (mouse)、ラット、ハムスター、ブタ、ミニブタ (micro-pig)、ニワトリ、ヤギ、ウシ、ヒツジ、イヌ、ネコ、非ヒト霊長類、およびヒトが挙げられるが、これらに限定されない。特定の実施形態において、この宿主は、マウス、ウサギ、ヤギ、モルモット、ニワトリ、ラット、ハムスター、ブタ、ヒツジ、イヌまたはネコである。好ましい実施形態において、この宿主は哺乳動物である。最も好ましい実施形態において、この宿主はヒトである。

10

【0904】

(他の好ましい実施形態)

本願発明の他の好ましい実施形態は、配列番号 X のヌクレオチド配列またはその相補鎖および/もしくは cDNA プラスミド V のヌクレオチド配列中の少なくとも約 50 個連続したヌクレオチドの配列と少なくとも 95% 同一であるヌクレオチド配列を含む、単離された核酸分子を含む。

20

【0905】

上記連続したヌクレオチドの配列が、表 1 中の配列番号 X について同定された位置の範囲で、配列番号 X のヌクレオチド配列に含まれる、核酸分子もまた好ましい。

【0906】

配列番号 X のヌクレオチド配列またはその相補鎖および/もしくは cDNA プラスミド V のヌクレオチド配列中の少なくとも約 150 個連続したヌクレオチドの配列と少なくとも 95% 同一であるヌクレオチド配列を含む、単離された核酸分子もまた好ましい。

【0907】

配列番号 X のヌクレオチド配列またはその相補鎖および/もしくは cDNA プラスミド V のヌクレオチド配列中の少なくとも約 500 個連続したヌクレオチドの配列と少なくとも 95% 同一であるヌクレオチド配列を含む、単離された核酸分子はさらに好ましい。

30

【0908】

さらに好ましい実施形態は、表 1 中の配列番号 X について同定された位置の範囲で配列番号 X のヌクレオチド配列と少なくとも 95% 同一であるヌクレオチド配列を含む核酸分子である。

【0909】

さらに好ましい実施形態は、配列番号 X の完全なヌクレオチド配列またはその相補鎖および/もしくは cDNA プラスミド V のヌクレオチド配列と少なくとも 95% 同一であるヌクレオチド配列を含む、単離された核酸分子である。

40

【0910】

ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で配列番号 X のヌクレオチド配列またはその相補鎖および/もしくは cDNA プラスミド V のヌクレオチド配列を含む核酸分子にハイブリダイズする単離された核酸分子もまた好ましく、ここで上記のハイブリダイズする核酸分子は、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で、A 残基のみまたは T 残基のみからなるヌクレオチド配列を有する核酸分子にハイブリダイズしない。

【0911】

cDNA プラスミド V を含む DNA 分子を含む物質の組成物もまた好ましい。

【0912】

cDNA プラスミド V のヌクレオチド配列中の少なくとも 50 個連続したヌクレオチドの

50

配列と少なくとも95%同一であるヌクレオチド配列を含む単離された核酸分子もまた好ましい。

【0913】

上記の少なくとも50個連続したヌクレオチドの配列が、cDNAプラスミドVによってコードされるオープンリーディングフレームの配列のヌクレオチド配列中に含まれる、単離された核酸分子もまた好ましい。

【0914】

cDNAプラスミドVによってコードされるヌクレオチド配列中の少なくとも150個連続したヌクレオチドの配列と少なくとも95%同一であるヌクレオチド配列を含む、単離された核酸分子もまた好ましい。

10

【0915】

さらに好ましい実施形態は、cDNAプラスミドVによってコードされるヌクレオチド配列中の少なくとも500個連続したヌクレオチドの配列と少なくとも95%同一であるヌクレオチド配列を含む、単離された核酸分子である。

【0916】

さらに好ましい実施形態は、cDNAプラスミドVによってコードされる完全なヌクレオチド配列と少なくとも95%同一であるヌクレオチド配列を含む、単離された核酸分子である。

【0917】

さらに好ましい実施形態は、以下：配列番号Xのヌクレオチド配列またはその相補鎖およびcDNAプラスミドVによりコードされるヌクレオチド配列からなる群から選択される配列中の少なくとも50個連続したヌクレオチドの配列と少なくとも95%同一であるヌクレオチド配列を含む核酸分子を、生物学的サンプル中で検出するための方法であって、上記の方法は、上記の群から選択される配列と、上記のサンプル中の少なくとも1つの核酸分子のヌクレオチド配列とを比較する工程、および上記サンプル中の上記核酸分子の配列が、上記の選択された配列に対して少なくとも95%同一であるか否かを決定する工程を包含する。

20

【0918】

上記の配列を比較する工程が、上記サンプル中の核酸分子と、上記の群から選択される上記の配列を含む核酸分子との間の核酸ハイブリダイゼーションの程度を決定する工程を包含する、上記方法もまた好ましい。同様に、上記の配列を比較する工程が、上記サンプル中の核酸分子から決定されるヌクレオチド配列と、上記の群から選択される配列とを比較する工程によって実施される、上記方法もまた好ましい。核酸分子は、DNA分子またはRNA分子を含み得る。

30

【0919】

さらに好ましい実施形態は、生物学的サンプルの種、組織、または細胞型を同定するための方法であって、この方法は、以下からなる群から選択される配列中の少なくとも50個連続したヌクレオチドの配列と少なくとも95%同一であるヌクレオチド配列を含む上記サンプル中の核酸分子を（もしあれば）検出する工程を包含する：配列番号Xのヌクレオチド配列またはその相補鎖およびcDNAプラスミドVによりコードされるヌクレオチド配列。

40

【0920】

生物学的サンプルの種、組織、または細胞型を同定するための方法は、少なくとも2つのヌクレオチド配列のパネル中のヌクレオチド配列を含む核酸分子を検出する工程を包含し得、ここで上記パネル中の少なくとも1つの配列は、上記の群から選択される配列中の少なくとも50個連続したヌクレオチドの配列と少なくとも95%同一である。

【0921】

タンパク質をコードする、配列番号Xのヌクレオチド配列もしくはその相補鎖またはcDNAプラスミドVのヌクレオチド配列の、異常な構造または発現と関連する病理学的状態を、被験体において診断するための方法もまた好ましく、この方法は、以下からなる群か

50

ら選択される配列中の少なくとも50個連続したヌクレオチドの配列と少なくとも95%同一であるヌクレオチド配列を含む、核酸分子を、(もしあれば)上記被験体から得られる生物学的サンプル中で検出する工程を包含する:配列番号Xのヌクレオチド配列またはその相補鎖およびcDNAプラスミドVのヌクレオチド配列。

【0922】

病理学的状態を診断するための方法は、少なくとも2つのヌクレオチド配列のパネル中のヌクレオチド配列を含む核酸分子を検出する工程を包含し得、ここで、上記パネル中の少なくとも1つの配列は、上記群から選択される配列中の少なくとも50個連続したヌクレオチドの配列と少なくとも95%同一である。

【0923】

上記の核酸分子のヌクレオチド配列が、少なくとも2つのヌクレオチド配列のパネルを含む、単離された核酸分子を含む物質の組成物もまた好ましく、ここで上記のパネル中の少なくとも1つの配列は、以下からなる群から選択される配列中の少なくとも50個連続したヌクレオチドの配列と少なくとも95%同一である:配列番号Xのヌクレオチド配列またはその相補鎖およびcDNAプラスミドVによりコードされるヌクレオチド配列。この核酸分子は、DNA分子またはRNA分子を含み得る。

10

【0924】

配列番号Yのポリペプチド配列;配列番号Xもしくはその相補鎖によりコードされるポリペプチドおよび/またはcDNAプラスミドVによりコードされるポリペプチド中の少なくとも約10個連続したアミノ酸の配列と少なくとも90%同一のアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドもまた好ましい。

20

【0925】

配列番号Yのアミノ酸配列;配列番号Xもしくはその相補鎖によりコードされるポリペプチドのアミノ酸配列および/またはcDNAプラスミドVによりコードされるポリペプチドのアミノ酸配列中の少なくとも約30個連続したアミノ酸の配列と少なくとも95%同一のアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドもまた好ましい。

【0926】

配列番号Yのアミノ酸配列;配列番号Xもしくはその相補鎖によりコードされるポリペプチドのアミノ酸配列および/またはcDNAプラスミドVによりコードされるポリペプチドのアミノ酸配列中の少なくとも約100個連続したアミノ酸の配列と少なくとも95%同一のアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドはさらに好ましい。

30

【0927】

配列番号Yの完全アミノ酸配列;配列番号Xもしくはその相補鎖によりコードされるポリペプチドの完全アミノ酸配列および/またはcDNAプラスミドVによりコードされるポリペプチドの完全アミノ酸配列と少なくとも95%同一のアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドはさらに好ましい。

【0928】

cDNAプラスミドVによりコードされるポリペプチドの完全アミノ酸配列中の少なくとも約10個連続したアミノ酸の配列と少なくとも90%同一のアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドはさらに好ましい。

40

【0929】

上記の連続したアミノ酸の配列が、cDNAプラスミドVによってコードされるポリペプチド;配列番号Xもしくはその相補鎖によりコードされるポリペプチドおよび/または配列番号Yのポリペプチド配列の一部のアミノ酸配列に含まれる、ポリペプチドもまた好ましい。

【0930】

cDNAプラスミドVによってコードされるポリペプチドのアミノ酸配列中の少なくとも約30個連続したアミノ酸の配列と少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドもまた、好ましい。

【0931】

50

cDNAプラスミドVによってコードされるポリペプチドのアミノ酸配列中の少なくとも約100個連続したアミノ酸の配列と少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドもまた、好ましい。

【0932】

cDNAプラスミドVによってコードされるポリペプチドのアミノ酸配列と少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドもまた、好ましい。

【0933】

以下からなる群から選択される配列中の、少なくとも10個連続したアミノ酸の配列と少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含むポリペプチドに対して特異的に結合する単離された抗体は、さらに好ましい：配列番号Yのポリペプチド配列；配列番号Xもしくはその相補鎖によりコードされるポリペプチド配列およびcDNAプラスミドVによりコードされるポリペプチド。

10

【0934】

以下：配列番号Yのポリペプチド配列；配列番号Xもしくはその相補鎖によりコードされるポリペプチドおよびcDNAプラスミドVによりコードされるポリペプチドからなる群から選択された配列中の、少なくとも10個連続したアミノ酸の配列と少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含むポリペプチドを、生物学的サンプル中で検出する方法はさらに好ましく；この方法は、このサンプル中における少なくとも1つのポリペプチド分子のアミノ酸配列をこの群から選択された配列と比較する工程およびこのサンプル中におけるこのポリペプチド分子の配列が、少なくとも10個連続したアミノ酸のこの配列と少なくとも90%同一であるかどうかを決定する工程を包含する。

20

【0935】

このサンプル中における少なくとも1つのポリペプチド分子のアミノ酸配列を、この群から選択された配列と比較するこの工程が、このサンプル中のポリペプチドの、以下：配列番号Yのポリペプチド配列；配列番号Xもしくはその相補鎖によりコードされるポリペプチドおよびcDNAプラスミドVによりコードされるポリペプチドからなる群から選択された配列中の少なくとも10個連続したアミノ酸の配列に対して、少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含むポリペプチドと特異的に結合する抗体に対する特異的な結合の程度を決定する工程を包含する、上記の方法もまた、好ましい。

【0936】

配列を比較する上記工程が、このサンプル中のポリペプチド分子から決定されたアミノ酸配列を、この群から選択されたこの配列と比較することによって行われる、上記の方法もまた好ましい。

30

【0937】

生物学的サンプルの種、組織または細胞型を同定する方法もまた好ましく、ここでこの方法は、もし存在するならば、以下からなる群から選択される配列中の少なくとも10個連続したアミノ酸の配列と少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含むポリペプチド分子をこのサンプル中で検出する工程を包含する：配列番号Yのポリペプチド配列；配列番号Xもしくはその相補鎖によりコードされるポリペプチドおよびcDNAプラスミドVによりコードされるポリペプチド。

40

【0938】

生物学的サンプルの種、組織または細胞型を同定する上記の方法もまた好ましく、ここでこの方法は、少なくとも2つのアミノ酸配列のパネル中のアミノ酸配列を含むポリペプチド分子を検出する工程を包含し、ここでこのパネル中の少なくとも1つの配列は、上記の群から選択された配列中の少なくとも10個連続したアミノ酸の配列と少なくとも90%同一である。

【0939】

被験体において、表1において同定された、ポリペプチドをコードする核酸配列の異常な構造または発現に関連する病的状態を診断する方法もまた、好ましく、ここで、この方法は、この被験体から得られた生物学的サンプル中で、少なくとも2つのアミノ酸配列のパ

50

ネル中のアミノ酸配列を含むポリペプチド分子を検出する工程を包含し、ここでこのパネル中の少なくとも1つの配列は、以下からなる群から選択される配列中の少なくとも10個連続したアミノ酸の配列と少なくとも90%同一である：配列番号Yのポリペプチド配列；配列番号Xもしくはその相補鎖によりコードされるポリペプチドおよびcDNAプラスミドVによりコードされるポリペプチド。

【0940】

これらの方法のいずれかにおいて、上記ポリペプチド分子を検出する工程は、抗体を使用することを包含する。

【0941】

以下からなる群から選択された配列中の、少なくとも10個連続したアミノ酸の配列と少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含むポリペプチドをコードするヌクレオチド配列と、少なくとも95%同一であるヌクレオチド配列を含む、単離された核酸分子もまた、好ましい：配列番号Yのポリペプチド配列；配列番号Xもしくはその相補鎖によりコードされるポリペプチドおよびcDNAプラスミドVによりコードされるポリペプチド。

10

【0942】

上記ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列が、原核生物宿主でのこのポリペプチドの発現について最適化されている、単離された核酸分子もまた、好ましい。

【0943】

上記ポリペプチドが以下からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、単離された核酸分子もまた、好ましい：配列番号Yのポリペプチド配列；配列番号Xもしくはその相補鎖によりコードされるポリペプチドおよびcDNAプラスミドVによりコードされるポリペプチド。

20

【0944】

上記の単離された核酸分子のいずれかをベクター中に挿入する工程を包含する、組換えベクターの作製方法はさらに好ましい。この方法によって生成された組換えベクターも、好ましい。宿主細胞中にベクターを導入する工程を包含する、組換え宿主細胞を作製する方法、ならびにこの方法によって生成された組換え宿主細胞もまた、好ましい。

【0945】

単離されたポリペプチドを作製する方法であって、このポリペプチドが発現されるような条件下でこの組換え宿主細胞を培養する工程、およびこのポリペプチドを回収する工程、を包含する方法もまた好ましい。この組換え宿主細胞が真核生物細胞であり、そしてこのポリペプチドが以下からなる群から選択されたアミノ酸配列を含むヒトタンパク質である、単離されたポリペプチドを作製するこの方法もまた好ましい：配列番号Yのポリペプチド配列；配列番号Xもしくはその相補鎖によりコードされるポリペプチドおよびcDNAプラスミドVによりコードされるポリペプチド。この方法によって生成された単離されたポリペプチドもまた、好ましい。

30

【0946】

増加したレベルのタンパク質活性を必要とする個体を処置する方法もまた、好ましく、ここで、この方法は、このような個体に、この個体においてこのタンパク質の活性のレベルを増加させるのに有効な量の、本願発明の単離されたポリペプチド、ポリヌクレオチド、その免疫原性フラグメントもしくはアナログ、結合因子、抗体、または抗原結合フラグメントを含む治療剤を投与する工程を包含する。

40

【0947】

減少したレベルのタンパク質活性を必要とする個体を処置する方法もまた、好ましく、ここで、この方法は、このような個体に、この個体においてこのタンパク質の活性のレベルを減少させるのに有効な量の、本願発明の単離されたポリペプチド、ポリヌクレオチド、その免疫原性フラグメントもしくはアナログ、結合因子、抗体、または抗原結合フラグメントを含む治療剤を投与する工程を包含する。

【0948】

本発明の特定の実施形態では、表2の4列目に列挙される各「コンティグID」について

50

、好ましくは、表 2 の 5 列目において参照されるヌクレオチド配列、および一般式 a - b により記載されるヌクレオチド配列（ここで a および b は、表 2 の 3 列目において参照される対応する配列番号 X について独自に決定される）を含むか、またはあるいはそのようなヌクレオチド配列からなる、1 つ以上のポリヌクレオチドが除外される。さらに特定の実施形態は、表 2 の 5 列目において参照される特定のポリヌクレオチド配列の 1、2、3、4 個、またはそれ以上を除外するポリヌクレオチド配列に関する。

【0949】

好ましくは、一般式 c - d によって記載されるヌクレオチド配列を含む 1 つ以上のポリヌクレオチドが本発明から除外され、ここで c および d の両方は、配列番号 X に示されるヌクレオチド残基の位置に対応し、そして d は、c + 14 以上である。

10

【0950】

この列挙は、この一般式により除外され得る配列の全てを含むことを決して意味せず、この表は、単に例示的な例である。これらの登録を通じて利用可能な全ての文献は、本明細書中でその全体が参考として援用される。

【0951】

【表 2】

表 2

遺伝子番号	CDNAクローンID	ヌクレオチド配列番号	コンテナーID	公開登録番号
1	HE8NC81	2	1096692	H51315, H51911, AA075579, AA075632, AA171844, AA172293, AA554431, AA291512, AA404609, AA404225, AA411046, AA434329, AA706376, AA953518, AI370413, AI638559, AI539668, AI539195, AI682137, AI683712, AI684143, AI686571, AI799522, AI858190, AI859795, AI828762, AI870700, AW073686, AW150534, AW470108, AW615203
1	HE8NC81	10	862015	
2	HDPPA04	3	904765	AUI35908, AI990290, AW961323, AI798762, AA044757, AW105205, AW197379, AU156359, AA039608, AA247117, AW889458, AA303575, AA036918, AA247128, AI214428, AW449368, AA044631, AI762460, AK001872, AF142780
2	HDPPA04	11	905419	AI990290, AW961323, AI798762, AA044757, AW105205, AW197379, AU135908, AU156359, AA039608, AW889458, AA303575, AA036918, AA247117, AI214428, AW449368, AA247128, AA044631, AI762460, AW972092, AW972091, AW968355, AW972093, AW968356, AW968729, AW972090, AW971740, AW969229, AI432644, AI431337, AI623302, AI432662, AI431248, AI431328, BF448552, AI432649, AI431254, AI431243, AI432665, AI431347, AI432653, AI431230, AI432654, AI431354, AI432655, AI431310, AI431312, AI431330, AW081103, AI432651, AI432647, AI432677, AI432661, AI432675, AI492519, AI431241, BF589777, BE672742, BE672792, AI432658, BE672719, AI431357, AI432676, BE672759, AI431351, BE672767, AI432673, AI431345, AI431353, AW128900, AI432672, AI432674, AI431346, AI431255, BE672774, BE672748, BE672743, BE672745, AI431340, BE672738, AW128846, AI432664, BE672732, AI432650, AI791349, AI431307, AI431316, AW128897, BE672749, BE672744, BE672773, AI492520, AI431751, AI492509, AI432643, AI432657, AI492510, AI432666, AW129223, AI431247, BE672626, BE672644, AI431308, BE672625, AW128884, AK001872, AX030435, AX030436, Y17793, AF064854, AWAR071207
2	HDPPA04	12	905418	AUI35908, AA247128, AA247117, AK001872
3	HTTDB46, HSIDS22	4	812763	
3	HTTDB46, HSIDS22	13	909573	AW629106, AI991125, AA884903, AI339669, AW000848, BF333492, AW966330, AW964468, AW949645, AW966389, AW975618, AV738340, AV724520, AW973541, D80045, AV744690, AV723097, AV742732, C14389, C14331, AW965158, AV702035, AW949642, AV744012, AW366296, D51799, AW973445, AV699550, AV718489, AW964438, AV718692, D59502, D80195, C14429, AV720791, AV741220, AW966050, AW960553, AW965185, AW965197, D80164, AW966053, AW959597, AV719468, AV718800, AW966013, AW949658, AW949643, AW975621, AW966054, AW966534, AV719783, AW960465, AV742048, AW962395, AV720464, AW949654, AV699927, AW966022, AW177440, AW966075, C15076, AW966065, AW966041, D80038, AI905856, AW978648, AV700229, AV719324, AV718440, AW975613, AV720028, D59467, AW966029, AW965196, AW965184, D59275, AW965175, AW966030, AV718770, AV719188, D80227, AW966062, AW964477, AW949641, AW959570, AW949646, AW973334, AW966531, AW978634, AW959062, D80269, D58283, AW956434, AW949630, D80022, AA305409, AW965163, D80166, AW959799, AW966059, D59859, D80193, AW960473,

10

20

30

(表2 続き ①)

				D59619, D80210, D80391, AW973474, D80240, AV719822, D59787, D81030, D51423, AW978661, AW973488, AV720211, AV718844, D80253, AV720203, AW964756, AW973307, D80043, AV723927, AV718938, AV718633, AW959628, AW965177, AW975605, AW949656, AW973485, AV718707, AV718931, AV720878, AV719557, AV720731, AW973482, AV699447, AW958992, AW958993, AV722801, AW959136, AW962082, AW959469, AW959202, D80212, AV720150, D80196, D80188, D59610, AW949657, D80366, D50979, D80219, AV705134, AV701004, AW949655, AW375405, D59927, D57483, D80378, D51022, AW962245, AW973330, D59889, D50995, AW960454, D80024, AV720812, AW949653, AW949631, AW949618, AW964737, AV718681, AW966032, AW959582, AW956397, AW949629, AW949633, AW949632, AV700889, AA305578, AW964532, AW973447, AW966043, AV720533, AW753053, AW966023, AV718530, AV721386, AV707024, D80241, AV727990, AV699746, D81026, AV727978, AW960364, AV699669, AV742001, AW960504, AW960332, D51060, AW965176, AV742022, AW973465, AV738928, AW752082, AW753067, AW964541, D80248, AV699866, AW975623, AV705869, AW966332, AV720654, T03269, AW960570, AW178893, AW179328, AA514188, AV701125, AV701166, AV701149, D80251, AV719913, AW960474, AJ557751, AV699652, C75259, AW973490, AV701443, AW378532, D80522, AV719049, AW966399, C14014, AW966333, AV742667, AW177501, AV701335, AW966331, AV742430, AK025267, AK025111, AB020625, AC016572, AX047063, A62298, AX047064, A62300, AR070327, AB4916, AX047062, A82595, Y17188, AR018138, AX033851, AX020191, AX035434, AR016808, AX020190, AJ302649, Y17187, AX027925, AJ132110, A94995, AF058696, AR087649, A30438, AX021518, AR008278, AB028859, X67155, D26022, A25909, AX028130, A67220, D89785, A78862, D34614, X82626, AR074545, AR016514, Y12724, D88547, AB002449, AR060385, A43190, AR077702, AR092424, X68127, AR025207, AR008443, AR038669, AJ294956, I50126, I50132, I50128, I50133, AR091537, Y08991, AF260572, AR066488, U79457, A44171, AR060138, A45456, A26615, AR052274, AX014811, AR008277, AR008281, AB012117, AR074139, Y09669, A43192, I14842, AR016691, AR016690, U46128, AX015396, AR066487, AR074136, AR054175, AR074141, AJ287395, AR066482, S68736, AR066490, A85396, AR088705, AX042372, D50010, A85477, I19525, I18367, A86792, A63261, X93549, A70867, AR008408, D88507, AR062872, AR093385, AF135125, D13509, A64136, A68321, AR060133, I79511, AR050070, AF217994, AF123263, AR032065, AR008382, AR008382.
4	HCBCR39	5	1113428	A1885174, A1744622, AA814734, AA729021, A1636514, A1401144, W58757, T17420, H29295, A1271692, A1817490, AA476679, R54385, AA877627, AW195601, AA701423, AA004377, Z40193, AA036722, AA046739, AA004376, R87400, W25867, AA766565, R84338, F06493, R90870, AA322984, A1743101, R68843, A1479057, R34643,

10

20

30

(表2続き②)

				AA341547, AA946714, R93883, R66774, R58428, AA700399, AA026328, N47479, AI536655, F06935, R94042, W78955, AA652599, U90550, AR036568, U90543, AR036564, U90142, AL021917, U97497, U97495, AI4AL050330.
4	HCECR39	14	812734	AJ885174, AI744622, AA814734, AA729021, AI636514, AI401144, W58757, AA476679, AI271692, TI17420, AI817490, H29295, R54385, AA877627, AA701423, AA036722, AA004377, Z40193, AW195601, R84338, AA004376, W25867, R87400, AA766565, F06493, R68843, R90870, AA322984, R34643, AA046739, AI479057, AA341547, R93883, R66774, AI743101, R58428, AA946714, AA700399, AA026328, N47479, AI536655, F06935, R94042, W78955, AA652599, U90550, AR036568, U90543, AR036564, U90142, AL021917, U97497, U97495, AI4AL050330.
5	HCE2X64	6	1111069	AW157772, AI768325, AW072067, AW163204, D52151, D52158, C14535, D52025, AW090592, D52014, AA916782, C14534, AI268693, AI589300, D51740, D51951, R54483, D59739, H19000, AI341953, AA627910, C14295, T15574, R52319, H49512, H49742, AA907297, AA363868, H41615, E40838, D59792, Z45247, Z41478, D52130, H19101, F08485, D51823, F04956, D51574, AA333764, D59715, T31138, H06704, F04609, C14365, T33909, T34829, AW163729, AW163813, AI681322, AW132034, AI282903, AI121328, AI682743, AI633419, AI569616, AI537677, AI491852, AW129202, AI249257, AI811344, AI828731, AI539771, AI273048, AI591316, AI284020, AW088793, AI590999, AI572676, AI857296, AI799199, AI554427, AI636445, AL043326, AI868831, AW087445, AI922901, AW169671, AL045500, AI539153, AI610645, AI866608, AI612913, AL036396, AI680165, AI119791, AI433157, AI349772, AL036146, AI554484, AI873704, AI610756, AI912866, AI498579, AI121270, AI590021, AL047042, AI687465, AI702406, AI273843, AI811863, AI475451, AW078929, AI499463, AI520785, AI801322, AI682720, AI433976, AI802542, AI224992, AI678302, AI568870, AI612759, AI952360, AW118512, AW131954, AI679321, AI612920, AW196141, AI690312, AI571551, AW168795, AW238730, AI844469, AW002342, AI702433, AW082040, AI269862, AI344817, AI475817, AA427700, AI866002, AI863014, AI680280, AW262563, AI689571, AI859402, AI860537, AI619749, AI636719, AW082060, AI538716, AA225339, AL047763, AW071349, AL036361, AI568296, AI250293, AL036802, AI679916, AI678762, AI570384, AI859511, AI824557, AI673256, AW103893, AI561299, AW150478, AI269696, AI475371, AI135661, AI567360, AI590120, AI690751, AI282504, AI654750, AI474107, AI648684, AI500039, AI567993, AI872711, AI598061, AI888501, AW117882, AI620868, AI571909, AI801608, AW268253, AI434281, AW162071, AW129170, AL045997, AI566507, AI580190, AI801766, AI567351, AW301409, AA640779, AI500077, AI281779, AI701074, AI862144, AI097248, AL045266, AI648663, AI349645, AI580240, AI570909, AI686597, AI573032, AI273142, AW102785, AA470491, AW403717, AI349933, AI445165, AL040243, AI540832, AI446606, AI439087, AW274192, AL040169.

10

20

30

(表2 続き ③)

				AI679504, AI613017, AI919345, AI453322, AI684279, AI640379, AL079963, AI920968, AI537075, AI687728, AI492528, AI469532, AI654276, AI274013, AI500146, AW195957, AL036759, AI436456, AI815855, AI624668, AI264741, AW103371, AI521012, AW160386, AI860674, AL048871, AI670782, AI432229, AI064830, AI469811, AI628292, AI745713, AI536638, AI801544, AW151485, AW090013, AI269205, AI800453, AL050342, I48979, I89947, AL122050, AB019565, AF090903, AL050146, AF090934, AF113677, AF104032, AF090900, I48978, AL133016, AL050393, I89931, AF090901, Y11537, E03348, S78214, AF113691, AF113013, AJ242859, AF078844, AL080137, AL133640, S68736, AL137527, AF113019, AL110221, AL050149, A08916, AF118070, A08913, L31396, L31397, AF090943, AF118064, AL110196, AL117457, AF125949, AL122093, AF106862, AF113689, A93016, AL137459, AR059958, X84990, AF017152, AL080060, AL050277, AL049938, AF158248, AL133093, AL133606, AL122121, AL133075, AL096744, AL137557, AF113676, AL080124, AL117460, AL050138, AL050108, AL133557, AF090896, AL133565, AL050116, AF113694, AF111851, AL049452, AL137283, AL122123, Y11254, AF113690, AL133080, AF113699, AL049314, AF091084, U42766, X63574, E07361, AF146568, AJ000937, X82434, Y16645, AF079763, AF125948, AL049300, AL049466, A63341, AR011880, AL117394, U91329, I49625, AL110225, AF017437, E07108, AL049382, AF177401, AL137550, AL117585, AF097996, AL133560, AJ238278, A08910, AL049464, U00763, AL050024, E02349, A08912, AL049430, AL122098, AL117435, AL117583, AF067728, AF118094, AF183393, A77033, A77035, AF087943, I33392, X65873, X72889, A58324, A58523, AL049283, A08909, Z82022, AI2297, AL137648, I03321, AL137463, AL122110, AL137538, X70685, U35846, X96540, AL137271, U80742, AL133113, AL080127, U72620, A03736, I09360, AL080159, X93495, U67958, I26207, X98834, AC006336, A93350, I66342, I42402, AF061943, E15569, AJ012755, AL110197, AF000145, AL137521, AC004690, S61953, AF119337, AL133072, E08263, E08264, AF095901, AL050172, AR013797, I17767, U96683, Y09972, AL133568, AL110280, AC004093, AL133014, AF057300, AF057299, AR000496, U39656, AF026124, AL133104, AF111112, AL137523, I00734, AF008439, AL137526, AL122111, E00617, E00717, E00778, AL133098, AL137560, AL133077, AL122049, A08911, U68387, AL137556, A07647, AC006371, AF026816, AC004987, Y14314, E05822, AF109906, AF106827, M30514, Z37987, AC004686, AF003737, AJ006417, AL137476, AL122118, AR038969, U88966, AF079763, AC005940, AL133067, AR054984, AF091512, Z72491, AF162270, AF153205, U58996, AL117440, AF081197, AL137429, A90832, AF210052, A45787, AF185576, AF100931, AR038854, AC007390, AF111849, E04233, X62580, L30117, X83508, X37582, AL080074, AL117432, U49908, U62317, L13297, AL137533, AAAC005992.
6	HEMFH17	7	1111071	AW300475, AA476679, AI202379, R84338, R93883, AA322984, AA766565, AL021917, AL050330, U90543, AR036564, U90142, U97495, U90550, AAAR036568.
7	HSIDS22	8	1111073	AI991125, AA834903, AI339669, AW000848, AAAB020625.

10

20

30

【 0 9 5 2 】

【 表 3 】

表 3

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Met 1	A	-0.70	0.47	.	.	.	-0.40	0.41
Ala 2	A	-0.31	0.47	.	.	.	-0.40	0.32
Ser 3	A	-0.81	0.44	*	.	.	-0.40	0.43
Leu 4	A	.	.	B	.	.	.	-1.23	0.70	*	.	.	-0.60	0.31
Gly 5	A	.	.	B	.	.	.	-1.54	0.77	*	.	.	-0.60	0.15
Gln 6	.	.	B	B	.	.	.	-1.23	1.06	*	.	.	-0.60	0.16
Ile 7	.	.	B	B	.	.	.	-0.94	1.59	*	.	.	-0.60	0.21
Leu 8	.	.	B	B	.	.	.	-1.53	1.29	*	.	.	-0.60	0.28
Phe 9	.	.	B	B	.	.	.	-1.61	1.54	*	.	.	-0.60	0.11
Trp 10	.	.	B	B	.	.	.	-1.57	1.83	*	.	.	-0.60	0.11
Ser 11	.	.	B	B	.	.	.	-2.46	1.53	*	.	.	-0.60	0.18
Ile 12	.	.	B	B	.	.	.	-2.46	1.53	*	.	.	-0.60	0.15
Ile 13	.	.	B	B	.	.	.	-2.53	1.43	*	.	.	-0.60	0.10
Ser 14	.	.	B	B	.	.	.	-2.72	1.20	*	.	.	-0.60	0.05
Ile 15	.	.	B	B	.	.	.	-3.24	1.50	*	.	.	-0.60	0.05
Ile 16	.	.	B	B	.	.	.	-3.32	1.60	*	.	.	-0.60	0.06
Ile 17	.	.	B	B	.	.	.	-2.99	1.31	*	.	.	-0.60	0.05
Ile 18	.	.	B	B	.	.	.	-2.69	1.16	*	.	.	-0.60	0.07
Leu 19	.	.	B	B	.	.	.	-3.28	1.17	*	.	.	-0.60	0.09
Ala 20	A	.	B	B	.	.	.	-2.98	1.17	*	.	.	-0.60	0.05
Gly 21	A	.	B	B	.	.	.	-2.90	0.99	*	.	.	-0.60	0.14
Ala 22	A	.	B	B	.	.	.	-2.90	0.99	*	.	.	-0.60	0.14
Ile 23	A	.	B	B	.	.	.	-2.90	0.99	*	.	.	-0.60	0.09
Ala 24	.	.	B	B	.	.	.	-2.43	1.17	*	.	.	-0.60	0.07
Leu 25	.	.	B	B	.	.	.	-2.94	1.17	*	.	.	-0.60	0.07
Ile 26	.	.	B	B	.	.	.	-2.54	1.46	*	.	.	-0.60	0.08
Ile 27	.	.	B	B	.	.	.	-2.84	1.20	*	.	.	-0.60	0.08
Gly 28	.	.	B	B	.	.	.	-2.26	1.39	*	.	.	-0.60	0.07
Phe 29	.	.	B	B	.	.	.	-2.01	1.09	*	.	.	-0.60	0.13
Gly 30	.	.	B	B	.	.	.	-1.09	0.83	*	.	.	-0.60	0.13
Ile 31	.	.	B	B	.	C	.	-0.23	0.14	*	F	.	0.26	0.36
Ser 32	.	.	B	B	.	C	.	0.36	0.21	*	F	.	0.67	0.56
Gly 33	.	.	B	B	.	T	C	-0.19	-0.19	*	F	.	1.68	0.76
Arg 34	.	.	B	B	.	T	C	0.20	0.07	*	F	.	1.49	0.76
His 35	.	.	B	B	.	T	C	-0.31	-0.13	*	F	.	2.10	0.82
Ser 36	.	.	B	B	.	T	C	0.27	0.13	*	.	.	1.14	-0.61
Ile 37	.	.	B	B	.	.	.	0.26	0.19	*	.	.	0.33	0.45
Thr 38	.	.	B	B	.	.	.	-0.26	0.67	*	.	.	-0.18	0.48
Val 39	.	.	B	B	.	.	.	-0.96	0.81	*	.	.	-0.39	0.27
Thr 40	.	.	B	B	.	.	.	-1.22	0.93	*	.	.	-0.60	0.38
Thr 41	.	.	B	B	.	.	.	-1.51	0.63	*	.	.	-0.60	0.36
Val 42	.	.	B	B	.	.	.	-0.97	0.64	*	.	.	-0.60	0.48
Ala 43	.	.	B	B	.	.	.	-0.66	0.43	*	.	.	-0.60	0.33
Ser 44	.	.	B	B	.	T	C	-0.69	0.34	*	.	.	0.30	0.37
Ala 45	.	.	B	B	.	T	C	-0.72	0.54	*	.	.	0.00	0.35
Gly 46	.	.	B	B	.	T	C	-0.41	0.33	*	F	.	0.45	0.34
Asn 47	.	.	B	B	.	T	C	0.44	-0.17	*	F	.	1.30	0.44
Ile 48	.	.	B	B	.	.	.	0.69	-0.56	*	F	.	1.45	0.73
Gly 49	.	.	B	B	.	T	.	0.10	-0.63	*	F	.	1.90	0.73
Glu 50	.	.	B	B	.	T	.	-0.12	-0.37	*	F	.	1.85	0.32
Asp 51	.	.	B	B	.	T	.	-0.08	-0.09	*	F	.	2.50	0.38
Gly 52	.	.	B	B	.	T	.	-0.74	-0.19	*	F	.	1.85	0.51
Ile 53	.	.	B	B	.	.	.	-0.17	-0.24	*	.	.	1.25	0.16
Leu 54	.	.	B	B	.	.	.	-0.52	0.24	*	.	.	0.40	0.14
Ser 55	.	.	B	B	.	.	.	-0.52	1.03	*	.	.	-0.15	0.12
Cys 56	.	.	B	B	.	.	.	-0.73	0.60	*	.	.	-0.40	0.29
Thr 57	.	.	B	B	.	.	.	-0.39	0.34	*	.	.	-0.10	0.55
Phe 58	.	.	B	B	.	.	.	-0.39	-0.34	*	.	.	0.50	0.69
Glu 59	A	.	B	B	.	T	.	0.47	-0.04	*	F	.	0.85	0.90
Pro 60	A	.	B	B	.	T	.	-0.04	-0.61	*	F	.	1.30	1.24
Asp 61	A	.	B	B	.	T	.	0.32	-0.41	*	F	.	1.00	1.19
Ile 62	A	.	B	B	.	T	.	0.63	-0.61	*	F	.	1.13	0.92
Lys 63	A	.	B	B	.	.	.	0.44	-0.81	*	F	.	0.95	0.99
Leu 64	A	.	B	B	.	.	.	-0.41	-0.56	*	F	.	0.75	0.42
Ser 65	A	.	B	B	.	.	.	-1.09	0.09	*	F	.	-0.15	0.44
Asp 66	A	.	B	B	.	.	.	-1.09	0.09	*	F	.	-0.30	0.15
Ile 67	.	.	B	B	.	.	.	-0.49	0.49	*	.	.	-0.60	0.32
Val 68	.	.	B	B	.	.	.	-1.34	0.71	*	.	.	-0.60	0.25

10

20

(表3 表3(1))

Ile 69	.	.	B	B	.	.	.	-0.49 1.01 *	.	.	-0.60 0.13
Gln 70	.	.	B	B	.	.	.	-0.19 1.01 *	.	.	-0.60 0.36
Trp 71	.	.	B	B	.	.	.	-0.53 0.33 *	.	.	-0.30 0.84
Leu 72	A	.	B	B	.	.	.	-0.50 0.11 *	.	.	-0.15 1.18
Lys 73	A	.	B	B	.	.	.	-0.46 0.07 *	F	.	-0.15 0.51
Glu 74	A	.	B	B	.	.	.	0.09 0.36 *	F	.	-0.15 0.40
Gly 75	A	.	B	B	.	.	.	-0.72 -0.13 *	F	.	0.85 0.48
Val 76	A	.	B	B	T	.	.	-1.29 -0.13 *	F	.	0.30 0.20
Leu 77	A	.	B	B	.	.	.	-0.51 0.51 *	.	.	-0.60 0.08
Gly 78	A	.	B	B	.	.	.	-0.56 1.01 *	.	.	-0.60 0.12
Leu 79	A	.	B	B	.	.	.	-1.26 0.59 *	.	.	-0.60 0.27
Val 80	A	.	B	B	.	.	.	-0.87 0.73 *	.	.	-0.60 0.28
His 81	A	.	B	B	.	.	.	-0.01 0.04 *	.	.	-0.30 0.57
Glu 82	A	A	0.46 -0.39 *	.	.	0.45 1.20
Phe 83	A	A	0.84 -0.64 *	.	.	0.75 1.60
Lys 84	A	A	1.66 -1.29 *	F	.	0.90 2.36
Glu 85	A	A	2.51 -1.79 *	F	.	0.90 2.27
Gly 86	A	.	.	.	T	.	.	1.73 -1.79 *	F	.	1.30 4.54
Lys 87	A	.	.	.	T	.	.	1.43 -1.89 *	F	.	1.30 1.87
Asp 88	A	.	.	.	T	.	.	2.13 -1.50 *	F	.	1.30 1.45
Glu 89	A	.	.	.	T	.	.	2.09 -1.50 *	F	.	1.30 2.54
Leu 90	A	A	2.09 -1.53 *	F	.	0.90 2.20
Ser 91	A	A	2.43 -1.53 *	F	.	0.90 2.64
Glu 92	A	A	1.79 -1.53 *	F	.	0.90 1.70
Gln 93	A	A	1.09 -0.91 *	F	.	0.90 1.93
Asp 94	A	A	1.20 -0.81 *	F	.	0.75 1.10
Glu 95	A	A	1.67 -1.20 *	F	.	1.15 1.29
Met 96	A	A	2.08 -0.77 *	.	.	1.30 1.08
Phe 97	A	.	.	.	T	.	.	1.77 -1.17 *	.	.	1.00 1.10
Arg 98	A	.	.	.	T	.	.	1.18 -0.69 *	F	.	0.85 0.94
Gly 99	A	.	.	.	T	.	.	0.32 -0.19 *	F	.	0.45 0.42
Arg 100	A	.	.	.	T	.	.	-0.38 -0.16 *	F	.	-0.30 0.43
Thr 101	A	-0.37 -0.16 *	.	.	0.30 0.36
Ala 102	A	.	B	B	.	.	.	0.33 0.34 *	.	.	-0.30 0.43
Val 103	A	.	B	B	.	.	.	0.33 -0.09 *	.	.	-0.30 0.43
Phe 104	.	.	B	B	.	.	.	-0.39 0.21 *	.	.	-0.60 0.32
Ala 105	.	.	B	B	.	.	.	-1.29 0.47 *	.	.	-0.60 0.30
Asp 106	.	.	B	B	.	.	.	-1.83 0.66 *	.	.	-0.60 0.26
Gln 107	.	.	B	B	.	.	.	-1.59 0.66 *	.	.	-0.30 0.25
Val 108	.	.	B	B	.	.	.	-0.73 0.30 *	.	.	-0.30 0.24
Ile 109	.	.	B	B	.	.	.	-0.62 0.20 *	.	.	-0.60 0.14
Val 110	.	.	B	B	.	.	.	-0.33 0.70 *	.	.	-0.60 0.26
Gly 111	.	.	B	B	.	.	.	-1.14 0.69 *	.	.	-0.20 0.30
Asn 112	.	.	B	B	.	.	.	-1.03 0.73 *	.	.	0.10 0.80
Ala 113	A	.	.	.	T	.	.	-0.99 0.04 *	.	.	0.10 0.66
Ser 114	A	.	.	.	T	.	.	-0.06 0.09 *	.	.	0.70 0.43
Leu 115	A	.	.	.	T	.	.	0.80 -0.34 *	.	.	0.45 1.32
Arg 116	A	A	0.29 -0.34 *	.	.	0.30 0.73
Leu 117	A	A	B	0.29 -0.20 *	.	.	0.45 1.53
Lys 118	.	A	B	0.07 -0.19 *	.	.	0.30 0.64
Asn 119	.	A	B	0.06 -0.19 *	.	.	-0.15 1.13
Val 120	.	A	B	0.87 0.30 *	.	.	0.30 0.94
Gln 121	.	A	B	0.17 -0.39 *	.	.	-0.30 0.59
Leu 122	.	A	B	0.63 0.11 *	.	.	0.10 0.79
Thr 123	.	A	B	0.28 0.14 *	F	.	1.35 0.66
Asp 124	.	.	B	.	.	T	.	0.03 -0.01 *	F	.	1.55 1.25
Ala 125	.	.	B	.	.	T	.	0.33 0.34 *	F	.	2.40 1.73
Gly 126	.	.	B	.	.	T	.	-0.27 -0.34 *	F	.	2.50 0.56
Thr 127	.	.	B	.	.	T	.	0.83 -0.26 *	F	.	0.80 0.86
Tyr 128	.	.	B	.	.	T	.	0.26 0.50 *	.	.	0.85 0.61
Lys 129	.	.	B	.	.	T	.	-0.63 0.63 *	.	.	0.30 0.30
Cys 130	.	.	B	.	.	T	.	-0.36 0.94 *	.	.	0.05 0.27
Tyr 131	.	.	B	.	.	T	.	-0.31 0.94 *	.	.	-0.26 0.18
Ile 132	.	.	B	B	.	.	.	0.04 0.57 *	.	.	0.06 0.68
Ile 133	.	.	B	B	.	.	.	-0.06 0.57 *	.	.	0.57 0.43
Thr 134	.	.	B	B	.	.	.	-0.06 0.43 *	F	.	2.36 1.23
Ser 135	.	.	B	.	.	T	.	0.27 -0.33 *	F	.	3.40 1.74
Lys 136	.	.	B	.	.	T	.	0.51 -0.59 *	F	.	3.06 1.94
Gly 137	.	.	B	.	.	T	.	0.81 -0.87 *	F	.	2.52 1.46
Lys 138	.	.	B	.	.	T	.	1.70 -0.86 *	F	.	1.96 1.17
Gly 139	.	.	B	.	.	T	C	1.20 -0.84 *	F	.	1.39 0.98
Asn 140	.	.	B	.	.	T	C	1.80 -0.16 *	F	.	1.25 0.85
Ala 141	.	.	B	.	.	T	.	1.21 -0.59 *	F	.	

10

20

30

(表子続き②)

Asn 142	.	.	B	.	.	T	1.60	0.17	.	*	.	0.25	1.34
Leu 143	.	.	B	.	.	T	1.24	-0.26	.	*	.	0.85	1.67
Glu 144	.	.	B	.	.	T	1.24	-0.17	.	*	.	0.65	2.38
Tyr 145	A	T	0.66	-0.24	.	*	.	0.85	1.47
Lys 146	A	T	0.54	-0.14	.	*	.	1.00	1.79
Thr 147	A	T	0.24	-0.04	.	*	F	0.85	0.90
Gly 148	A	T	0.46	0.34	.	*	F	0.25	0.77
Ala 149	A	0.24	0.20	.	.	.	-0.10	0.38
Phe 150	.	.	B	.	.	.	0.49	0.63	*	.	.	-0.40	0.41
Ser 151	.	.	B	.	.	.	-0.42	0.14	.	.	.	-0.10	0.71
Met 152	.	.	B	.	.	.	-0.10	0.36	.	.	.	-0.10	0.82
Pro 153	.	.	B	.	.	.	-0.61	0.26	.	*	.	-0.10	0.97
Glu 154	.	.	B	.	.	.	-0.02	0.11	.	*	F	0.03	0.54
Val 155	A	0.43	-0.27	.	*	.	0.50	0.91
Asn 156	A	T	0.73	-0.13	.	*	.	0.70	0.92
Val 157	A	T	0.74	-0.16	.	*	.	0.70	0.85
Asp 158	A	T	0.68	0.34	.	*	.	0.23	1.16
Tyr 159	A	T	0.36	0.09	.	*	.	0.10	0.97
Asn 160	T	1.21	0.07	.	*	.	0.45	1.75
Ala 161	T	0.30	-0.37	.	*	F	1.50	1.81
Ser 162	A	T	0.94	-0.09	*	.	F	1.00	1.67
Ser 163	A	T	1.06	-0.16	*	.	F	0.85	0.86
Glu 164	A	A	0.63	-0.56	*	.	F	0.50	1.66
Thr 165	A	A	0.63	-0.49	*	.	F	0.45	0.85
Leu 166	.	A	B	.	.	.	0.63	-0.87	*	.	.	0.50	0.85
Arg 167	.	A	B	.	.	.	0.72	-0.76	*	.	.	0.76	0.50
Cys 168	.	A	B	.	.	.	1.13	-0.33	*	.	.	0.62	0.54
Glu 169	.	A	B	.	.	.	0.84	-0.61	*	.	.	1.23	1.28
Ala 170	T	0.46	-0.39	*	.	F	1.39	0.68
Pro 171	T	1.06	0.20	*	.	F	1.60	1.11
Arg 172	T	0.94	0.06	*	.	F	1.29	0.99
Trp 173	T	1.40	0.46	*	.	F	0.98	1.69
Phe 174	T	1.09	0.39	*	.	F	0.72	1.69
Pro 175	T	0.82	0.44	*	.	F	0.26	1.25
Gln 176	.	.	B	.	.	T	0.18	1.03	*	.	F	-0.23	0.88
Pro 177	.	.	B	.	.	T	-0.22	0.81	*	.	F	-0.23	0.75
Thr 178	.	.	B	.	.	T	-0.52	0.94	*	.	F	-0.25	0.51
Val 179	.	.	B	B	.	.	-0.12	1.01	.	.	.	-0.60	0.30
Val 180	.	.	B	B	.	.	0.09	1.00	.	.	.	-0.60	0.26
Trp 181	.	.	B	B	.	.	-0.77	0.97	.	.	.	-0.60	0.31
Ala 182	.	.	B	B	.	.	-0.56	1.13	.	.	.	-0.60	0.31
Ser 183	.	.	B	B	.	.	-0.24	0.49	.	.	.	-0.29	0.70
Gln 184	.	.	B	B	.	.	0.27	0.24	*	.	F	0.42	1.15
Val 185	.	.	B	B	.	.	0.53	-0.24	*	.	F	1.23	1.13
Asp 186	T	0.82	-0.24	*	.	F	2.09	0.85
Gln 187	T	0.71	-0.23	*	.	F	2.10	0.79
Gly 188	T	0.71	0.16	*	.	F	1.29	0.92
Ala 189	T	0.71	-0.10	*	.	F	1.68	0.74
Asn 190	T	0.71	-0.10	*	.	F	1.27	0.74
Phe 191	.	.	B	.	.	.	0.41	0.14	*	.	.	0.11	0.56
Ser 192	.	.	B	.	.	.	0.41	0.10	*	.	F	0.05	0.74
Glu 193	.	.	B	.	.	.	0.44	0.00	*	.	F	0.65	0.74
Val 194	.	.	B	.	.	.	0.73	0.09	*	.	F	0.20	1.23
Ser 195	T	0.03	-0.31	*	.	F	1.00	1.23
Asn 196	T	0.73	0.09	*	.	F	0.45	0.61
Thr 197	T	0.22	0.09	*	.	F	0.60	1.43
Ser 198	A	T	0.22	0.13	*	.	F	0.25	0.88
Phe 199	A	T	0.78	0.14	.	.	.	0.10	0.88
Glu 200	A	T	1.08	0.13	.	.	.	-0.10	0.82
Leu 201	A	T	1.08	-0.16	*	.	F	0.80	1.06
Asn 202	A	T	0.53	-0.34	*	.	F	1.08	1.37
Ser 203	A	T	0.52	-0.49	*	.	F	0.85	0.84
Glu 204	A	T	0.62	0.00	*	.	F	1.00	1.47
Asn 205	A	T	0.67	-0.07	*	.	F	0.85	0.91
Val 206	A	.	.	B	.	.	0.62	-0.47	*	.	F	0.60	1.35
Thr 207	A	.	.	B	.	.	-0.23	-0.21	*	.	.	0.30	0.58
Met 208	A	.	.	B	.	.	-0.23	0.43	*	.	.	-0.60	0.27
Lys 209	.	.	B	B	.	.	-1.09	0.41	*	.	.	-0.60	0.48
Val 210	.	.	B	B	.	.	-1.96	0.41	*	.	.	-0.60	0.25
Val 211	.	.	B	B	.	.	-1.29	0.61	*	.	.	-0.60	0.21
Ser 212	.	.	B	B	.	.	-0.98	0.76	*	.	.	-0.60	0.16
Val 213	.	.	B	B	.	.	-1.23	1.16	*	.	.	-0.60	0.35
Leu 214	.	.	B	B	.	.	-1.59	1.16	*	.	.	-0.60	0.35

10

20

30

(表3続表③)

Tyr 215	.	.	B	B	.	.	-1.62	1.00	*	*	.	-0.60	0.38
Asn 216	.	.	B	B	.	.	-0.77	1.30	*	*	.	-0.60	0.36
Val 217	.	.	B	B	.	.	-0.47	1.06	*	*	.	-0.60	0.70
Thr 218	.	.	B	B	.	.	0.08	0.77	.	.	.	-0.60	0.72
Ile 219	.	.	B	B	.	.	0.64	0.50	.	.	F	-0.45	0.64
Asn 220	.	.	.	B	T	.	0.59	0.86	.	.	F	0.10	1.36
Asn 221	T	T	-0.08	0.60	*	*	F	0.50	1.26
Thr 222	T	T	0.18	0.69	*	*	F	0.35	0.96
Tyr 223	.	.	B	.	T	.	-0.40	0.61	*	*	.	-0.20	0.59
Ser 224	.	.	B	.	T	.	0.49	0.90	*	*	.	-0.20	0.26
Cys 225	.	A	B	.	.	.	0.49	0.50	.	.	.	-0.60	0.31
Met 226	.	A	B	.	.	.	0.49	0.41	*	*	.	-0.60	0.32
Ile 227	.	A	B	.	.	.	-0.09	-0.34	.	.	.	0.30	0.40
Gln 228	A	A	-0.43	-0.04	*	.	.	0.30	0.52
Asn 229	A	A	-0.09	-0.11	*	.	F	0.45	0.53
Asp 230	A	A	-0.01	-0.73	*	.	F	0.90	1.51
Ile 231	A	A	0.28	-0.31	*	.	F	0.75	0.88
Ala 232	A	A	0.82	-0.43	*	.	F	0.45	0.79
Lys 233	A	A	0.82	-0.40	*	.	F	0.45	0.47
Ala 234	A	.	.	.	T	.	-0.07	-0.40	*	.	F	1.00	1.12
Thr 235	A	.	.	.	T	.	-0.02	-0.40	*	.	F	0.85	0.77
Gly 236	A	.	.	.	T	.	0.01	-0.90	*	.	F	1.15	0.77
Asp 237	A	.	.	.	T	.	0.29	-0.16	*	.	F	0.85	0.57
Ile 238	A	.	B	.	.	.	0.24	-0.27	.	.	F	0.45	0.57
Lys 239	A	.	B	.	.	.	0.53	-0.76	*	.	F	0.75	1.00
Val 240	A	.	B	.	.	.	0.44	-0.80	*	.	F	0.75	0.80
Thr 241	A	A	B	.	.	.	0.30	-0.80	*	.	F	0.90	1.97
Gln 242	A	A	B	.	.	.	0.34	-0.80	*	.	F	0.75	0.69
Ser 243	A	A	1.34	-0.80	*	.	F	0.90	1.86
Glu 244	A	A	1.43	-1.44	*	.	F	0.90	2.53
Ile 245	A	A	1.97	-1.93	*	.	F	0.90	2.86
Lys 246	A	A	2.24	-1.54	*	.	F	0.90	2.86
Arg 247	A	A	1.43	-1.43	*	.	F	0.90	2.23
Arg 248	A	A	1.73	-0.74	*	.	F	0.90	2.64
Ser 249	A	A	0.92	-1.03	*	.	F	0.90	2.29
His 250	A	A	1.00	-0.34	*	.	.	0.30	0.96
Leu 251	A	A	0.96	0.34	*	.	.	-0.30	0.41
Gln 252	.	A	B	.	.	.	0.54	0.74	*	.	.	-0.60	0.49
Leu 253	.	A	B	.	.	.	0.48	0.74	*	.	.	-0.60	0.48
Leu 254	.	A	B	.	.	.	0.19	0.24	.	.	.	-0.15	1.16
Asn 255	.	.	.	T	T	.	-0.08	0.06	*	.	F	0.65	0.68
Ser 256	.	.	.	T	T	.	-0.08	0.04	*	.	F	0.90	1.10
Lys 257	A	.	.	T	T	.	-0.74	0.04	*	.	F	0.40	1.10
Ala 258	.	.	B	.	T	.	-0.79	-0.07	*	.	F	0.85	0.37
Ser 259	.	.	B	B	.	.	-0.26	0.17	.	.	.	-0.30	0.20
Leu 260	.	.	B	B	.	.	-0.58	0.17	*	.	.	-0.30	0.14
Cys 261	.	.	B	B	.	.	-0.98	0.56	*	*	.	-0.60	0.18
Val 262	.	.	B	B	.	.	-1.72	0.84	*	.	.	-0.60	0.12
Ser 263	.	.	B	B	.	.	-1.72	1.24	.	.	.	-0.60	0.12
Ser 264	.	.	B	B	.	.	-2.31	1.06	.	.	.	-0.60	0.23
Phe 265	.	.	B	B	.	.	-1.80	1.17	.	.	.	-0.60	0.22
Phe 266	.	.	B	B	.	.	-1.42	0.91	.	.	.	-0.60	0.17
Ala 267	A	.	B	.	.	.	-1.16	1.44	.	.	.	-0.60	0.10
Ile 268	A	.	B	.	.	.	-1.47	1.56	.	.	.	-0.60	0.19
Ser 269	A	.	B	.	.	.	-2.18	1.46	.	.	.	-0.60	0.16
Trp 270	A	.	B	.	.	.	-1.69	1.36	.	.	.	-0.60	0.34
Ala 271	A	.	B	.	.	.	-1.80	1.29	.	.	.	-0.60	0.21
Leu 272	.	.	B	.	C	.	-1.51	1.29	.	.	.	-0.40	0.27
Leu 273	.	.	B	.	C	.	-0.83	1.29	.	.	.	-0.40	0.41
Pro 274	.	.	B	.	C	.	-0.78	0.80	.	.	.	-0.20	0.78
Leu 275	C	.	-1.30	1.06	.	.	.	0.00	0.78
Ser 276	T	C	-1.31	1.86	.	.	.	-0.20	0.50
Pro 277	A	.	.	.	T	.	-1.31	0.99	*	.	.	-0.20	0.50
Tyr 278	A	.	.	.	T	.	-0.46	1.24	*	.	.	-0.20	0.50
Leu 279	A	.	.	.	T	.	-0.63	0.56	*	.	.	-0.20	0.75
Met 280	A	-0.21	0.60	.	.	.	-0.40	0.62
Leu 281	.	.	B	.	.	.	-0.30	0.60	.	.	.	-0.40	0.50
Lys 282	.	.	B	.	.	.	-0.48	0.27	.	.	.	-0.10	0.78

10

20

30

【 0 9 5 3 】

【 表 4 】

表4

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Met 1	A	A	-1.87	1.06	.	.	.	-0.60	0.19
Ile 2	A	A	-2.29	1.31	.	.	.	-0.60	0.12
Phe 3	A	A	-2.50	1.57	.	.	.	-0.60	0.08
Leu 4	A	A	-2.92	1.76	.	.	.	-0.60	0.08
Leu 5	A	A	-2.83	1.83	.	.	.	-0.60	0.09
Leu 6	A	A	-3.04	1.53	.	.	.	-0.60	0.14
Met 7	A	A	-2.16	1.43	.	*	.	-0.60	0.14
Leu 8	A	A	-2.27	0.74	.	*	.	-0.60	0.30
Ser 9	A	A	-1.46	0.46	.	*	.	-0.60	0.52
Leu 10	A	A	-0.48	0.33	.	*	.	-0.60	0.52
Glu 11	A	A	-0.98	0.34	.	*	.	-0.60	0.52
Gln 12	A	A	-0.16	0.36	.	*	.	-0.15	1.10
Leu 14	A	A	-0.44	0.36	.	*	.	-0.30	0.45
His 15	A	A	-0.22	0.86	.	*	.	-0.60	0.55
Gln 16	A	A	-1.03	0.67	.	.	.	-0.60	0.32
Ile 17	A	A	-0.92	0.96	.	.	.	-0.60	0.32
Ala 18	A	A	-1.22	1.06	*	.	.	-0.60	0.20
Ala 19	A	A	-1.28	1.04	*	.	.	-0.60	0.17
Leu 20	.	A	B	-1.56	1.29	*	*	.	-0.60	0.18
Phe 21	.	A	B	-2.41	1.09	.	*	.	-0.60	0.26
Thr 22	.	A	B	-1.73	1.23	.	.	.	-0.60	0.19
Val 23	.	A	B	-1.20	1.16	.	.	.	-0.60	0.35
Thr 24	.	A	B	-0.53	0.47	.	.	.	-0.60	0.81
Val 25	.	A	C	-0.81	-0.31	.	F	.	0.65	0.98
Pro 26	A	-0.06	-0.11	.	*	F	0.80	1.08
Lys 27	A	-0.62	0.00	.	.	F	0.80	1.16
Glu 28	A	.	.	B	.	.	.	-0.67	0.20	.	.	F	0.00	1.11
Leu 29	A	.	.	B	.	.	.	-0.36	0.24	.	.	.	-0.30	0.50
Tyr 30	.	.	B	B	.	.	.	0.47	-0.19	*	.	.	0.30	0.44
Ile 31	.	.	B	B	.	.	.	0.32	0.31	*	.	.	-0.30	0.34
Ile 32	.	.	B	B	.	.	.	-0.01	0.74	*	.	.	-0.60	0.41
Glu 33	A	.	.	B	.	.	.	-0.03	0.44	*	.	.	-0.60	0.35
His 34	T	.	.	-0.06	0.09	*	.	F	0.30	0.81
Gly 35	T	T	.	-0.12	0.04	*	.	F	0.65	0.86
Ser 36	T	C	.	-0.04	-0.16	*	*	F	1.05	0.71
Asp 37	T	C	.	0.84	0.83	*	*	F	0.25	0.43
Val 38	T	C	.	0.18	0.01	.	*	.	0.30	0.76
Thr 39	.	.	B	0.21	0.17	.	*	.	0.08	0.30
Leu 40	.	.	B	-0.14	0.19	.	*	.	0.26	0.30
Glu 41	.	.	B	0.16	0.57	.	*	.	0.14	0.35
Cys 42	.	.	B	-0.16	-0.07	.	*	.	1.22	0.41
Asn 43	.	.	B	.	T	.	.	0.36	-0.07	.	*	.	1.80	0.71
Phe 44	T	.	.	0.37	-0.23	*	*	.	1.62	0.41
Asp 45	T	T	.	1.14	0.06	*	*	F	1.26	1.02
Thr 46	T	.	.	0.29	-0.01	.	*	F	1.45	0.86
Gly 47	T	.	.	0.96	0.21	.	*	F	0.59	0.74
Ser 48	T	C	.	0.14	-0.16	.	*	F	0.73	0.71
His 49	.	.	B	0.50	0.53	.	*	.	-0.80	0.41
Val 50	.	.	B	-0.09	0.47	.	.	.	-0.72	0.41
Asn 51	.	.	B	-0.67	0.54	.	.	.	-0.64	0.31
Leu 52	.	.	B	-0.63	0.84	.	.	.	-0.56	0.16
Gly 53	.	.	B	-0.92	0.83	.	.	.	-0.48	0.31
Ala 54	.	.	B	-1.19	0.69	.	*	.	-0.40	0.19
Ile 55	A	-1.14	0.67	.	*	.	-0.40	0.31
Thr 56	A	A	-1.14	0.67	*	.	.	-0.60	0.26
Ala 57	A	A	-0.29	0.64	*	.	.	-0.60	0.45
Ser 58	A	A	-0.80	0.14	*	.	.	-0.15	1.28
Leu 59	A	A	-0.21	0.19	*	.	.	-0.30	0.64
Gln 60	.	A	B	0.68	-0.39	*	.	F	0.60	1.13
Cys 61	.	A	B	0.99	-0.49	*	.	F	0.90	1.25
Val 62	.	A	B	1.27	-0.87	*	.	F	1.50	2.74
Glu 63	.	A	B	1.27	-1.07	*	.	F	1.80	2.26
Asn 64	.	A	.	.	T	.	.	1.87	-1.09	*	.	P	2.50	1.53
Asp 65	T	.	.	1.83	-0.66	.	.	F	3.00	3.19
Thr 66	C	.	1.90	-0.80	*	*	F	2.50	2.51
Ser 67	T	C	.	2.76	-0.80	*	*	F	2.40	3.05
Pro 68	T	C	.	2.87	-1.20	*	*	F	2.10	3.16
His 69	A	.	.	.	T	.	.	2.28	-1.20	*	*	F	1.60	4.29
Arg 70	A	.	.	.	T	.	.	1.97	-1.19	*	*	F	1.30	3.24

10

20

30

(表4系表①)

Glu 71	A	A	1.47	-1.09	*	F	0.90	3.02
Asp 72	A	A	0.98	-0.83	*	F	0.90	1.83
Ala 73	A	A	1.17	-0.64	*	F	0.75	0.77
Thr 74	A	A	1.20	-0.64	*	.	0.60	0.77
Leu 75	A	A	1.09	-0.64	*	.	0.60	0.68
Leu 76	A	A	0.28	-0.24	*	.	0.45	1.17
Glu 77	A	A	-0.04	-0.06	*	F	0.45	0.67
Glu 78	A	A	-0.27	-0.11	.	F	0.60	1.25
Gln 79	A	A	-0.30	-0.11	*	F	0.60	1.25
Leu 80	A	T	.	0.56	-0.27	*	.	0.70	0.72
Pro 81	A	T	.	0.78	-0.37	.	.	0.70	0.83
Leu 82	A	T	.	0.48	0.13	.	.	0.10	0.48
Gly 83	A	T	.	-0.22	0.11	.	F	0.25	0.78
Lys 84	A	-0.26	0.21	*	F	0.05	0.44
Ala 85	A	-0.33	0.29	*	.	-0.10	0.72
Ser 86	.	.	B	B	.	.	.	-0.33	0.29	*	.	-0.30	0.51
Phe 87	.	.	B	B	.	.	.	0.48	0.29	*	.	-0.30	0.40
His 88	.	.	B	B	.	.	.	-0.03	0.49	*	.	-0.60	0.68
Ile 89	.	.	B	B	.	.	.	-0.08	0.83	*	.	-0.60	0.38
Pro 90	.	.	B	B	.	.	.	-0.34	0.84	*	.	-0.60	0.78
Glu 91	.	.	B	B	.	.	.	0.07	0.70	*	.	-0.60	0.41
Val 92	.	.	B	B	.	.	.	0.77	0.20	*	.	-0.15	1.15
Gln 93	.	.	B	B	.	.	.	0.60	-0.49	*	.	0.79	1.24
Val 94	.	.	B	B	.	.	.	1.34	-0.91	*	.	1.43	1.24
Arg 95	.	.	B	B	.	.	.	1.56	-0.88	*	F	1.92	1.68
Asp 96	T	T	.	1.11	-1.13	*	F	3.06	1.65
Glu 97	T	T	.	2.17	-0.77	*	F	3.40	3.49
Gly 98	T	T	.	1.50	-1.01	*	F	3.06	3.08
Gln 99	T	T	.	1.47	-0.44	*	F	2.27	0.99
Tyr 100	.	.	B	B	.	.	.	0.47	0.24	*	.	0.38	0.40
Gln 101	.	.	B	B	.	.	.	-0.42	0.33	*	.	-0.26	0.28
Cys 102	.	.	B	B	.	.	.	-0.67	1.19	*	.	-0.60	1.11
Ile 103	.	.	B	B	.	.	.	-0.67	1.54	*	.	-0.60	0.11
Ile 104	.	.	B	B	.	.	.	-1.52	1.21	*	.	-0.60	0.07
Ile 105	.	.	B	B	.	.	.	-1.87	1.46	*	.	-0.60	0.09
Tyr 106	.	.	B	B	.	.	.	-2.16	1.39	*	.	-0.60	0.13
Gly 107	.	.	B	B	.	.	.	-1.49	1.61	*	.	-0.60	0.20
Val 108	.	.	B	B	.	.	.	-0.84	0.93	*	.	-0.60	0.47
Ala 109	.	.	B	B	.	.	.	0.09	1.00	*	.	-0.60	0.47
Trp 110	T	T	.	0.73	0.24	.	.	0.50	0.95
Asp 111	A	.	.	.	T	T	.	0.17	0.37	.	.	-0.05	2.00
Tyr 112	A	.	.	.	T	T	.	0.20	0.61	.	.	-0.05	1.62
Lys 113	A	.	.	.	T	T	.	0.24	0.60	*	.	-0.05	2.24
Tyr 114	A	0.88	0.37	*	.	-0.15	1.10
Leu 115	A	0.31	0.37	*	.	-0.15	1.41
Thr 116	A	0.16	0.24	*	.	-0.30	0.52
Leu 117	A	0.01	0.26	*	.	-0.30	0.67
Lys 118	A	-0.33	0.00	*	F	0.45	0.82
Val 119	A	-0.33	-0.30	*	F	0.45	0.76
Lys 120	A	0.59	-0.03	*	F	0.60	1.44
Ala 121	A	T	.	0.94	-0.71	*	F	1.30	1.41
Ser 122	A	T	.	0.87	-0.71	*	.	1.15	3.81
Tyr 123	A	T	.	0.82	-0.67	*	F	1.30	1.34
Arg 124	A	T	.	1.37	-0.27	*	F	1.00	2.13
Lys 125	A	1.28	-0.29	*	F	0.40	2.29
Ile 126	.	.	B	B	.	.	.	0.99	-0.17	*	F	0.60	1.99
Asn 127	.	.	B	B	.	.	.	0.48	-0.24	*	F	0.45	0.71
Thr 128	.	.	B	B	.	.	.	0.77	0.44	*	.	-0.60	0.29
His 129	.	.	B	B	.	.	.	-0.20	0.44	*	.	-0.60	0.84
Ile 130	.	.	B	B	.	.	.	-0.46	0.40	*	.	-0.30	0.39
Leu 131	.	.	B	B	.	.	.	0.43	0.43	*	.	-0.60	0.41
Lys 132	.	.	B	B	.	.	.	0.12	-0.06	*	F	0.45	0.53
Val 133	.	.	B	B	.	.	.	0.43	-0.07	*	F	0.60	1.08
Pro 134	C	.	0.47	-0.76	.	F	1.30	2.20
Glu 135	A	A	0.50	-1.44	*	F	0.90	1.90
Thr 136	A	A	1.31	-0.88	*	F	0.90	1.90
Asp 137	A	A	0.46	-1.44	*	F	0.90	2.13
Glu 138	A	A	1.00	-1.19	*	F	0.90	1.01
Val 139	A	A	0.54	-0.70	*	.	0.78	1.01
Glu 140	A	A	0.54	-0.61	*	.	0.60	0.33
Leu 141	A	A	0.27	-0.21	*	.	0.30	0.33
Thr 142	A	A	-0.04	0.29	*	.	-0.30	0.44
Cys 143	A	A	-0.39	0.13	*	.	-0.30	0.37

10

20

30

(表4 続表②)

Gln 144	A	A	0.22	0.56	.	*	.	-0.60	0.44
Ala 145	T	T	0.01	0.42	.	*	.	0.20	0.48
Thr 146	T	T	0.01	0.37	.	.	F	0.30	1.39
Gly 147	C	-0.27	0.69	.	.	.	0.00	0.66
Tyr 148	.	.	B	.	.	T	0.40	0.79	*	.	.	-0.20	0.66
Pro 149	.	A	B	.	.	.	-0.46	0.29	.	.	.	-0.30	0.79
Leu 150	.	A	B	.	.	.	-0.17	0.44	.	.	.	-0.60	0.59
Ala 151	.	A	B	.	.	.	-0.14	0.40	.	.	.	-0.30	0.51
Gln 152	.	A	B	.	.	.	-0.01	0.56	.	.	.	-0.60	0.35
Val 153	.	A	B	.	.	.	0.23	0.36	.	.	.	-0.40	0.65
Ser 154	.	A	B	.	.	.	-0.41	0.27	.	.	.	-0.35	1.03
Trp 155	T	C	0.10	0.41	.	.	.	0.00	0.44
Pro 156	T	C	-0.17	0.80	.	.	.	0.00	0.80
Asn 157	T	T	-0.38	0.80	.	.	.	0.20	0.44
Val 158	.	B	.	.	T	.	-0.11	0.84	*	.	.	-0.20	0.65
Ser 159	.	B	0.19	0.43	.	*	.	-0.40	0.43
Val 160	.	B	0.17	0.40	.	*	.	-0.10	0.43
Pro 161	.	B	.	.	T	.	0.08	0.49	.	*	.	-0.20	0.83
Ala 162	.	.	.	T	T	.	0.04	0.23	.	*	F	0.65	0.83
Asn 163	T	C	0.60	0.34	.	*	F	0.60	1.52
Thr 164	.	B	.	.	T	.	1.01	0.09	.	.	F	0.40	1.31
Ser 165	C	1.56	-0.34	.	.	F	1.00	2.85
His 166	C	1.56	-0.35	*	.	F	1.34	2.29
Ser 167	C	2.14	-0.33	*	.	F	1.88	2.45
Arg 168	C	1.80	-0.81	*	.	F	2.32	3.16
Thr 169	T	C	1.30	-0.77	*	.	F	2.86	2.30
Pro 170	.	.	.	T	T	.	1.36	-0.55	*	.	F	3.40	1.42
Gln 171	.	.	.	T	T	.	1.39	-0.21	*	.	F	2.78	1.13
Gly 172	.	B	.	.	T	.	0.83	0.19	*	.	F	1.42	1.36
Leu 173	.	B	B	.	.	.	0.41	0.34	*	.	.	0.38	0.69
Tyr 174	.	B	B	.	.	.	0.42	0.40	*	.	.	0.04	0.54
Gln 175	.	B	B	.	.	.	-0.22	0.79	*	.	.	-0.60	0.74
Val 176	.	B	B	.	.	.	-1.03	1.00	*	*	.	-0.60	0.66
Thr 177	.	B	B	.	.	.	-0.88	1.00	*	*	.	-0.60	0.35
Ser 178	.	B	B	.	.	.	-0.88	0.24	*	*	.	-0.30	0.39
Val 179	.	B	B	.	.	.	-0.29	0.53	*	*	.	-0.60	0.44
Leu 180	.	B	B	.	.	.	-0.50	-0.31	*	*	.	0.30	0.63
Arg 181	.	B	B	.	.	.	0.24	-0.17	*	*	.	0.30	0.70
Leu 182	.	B	B	.	.	.	0.24	-0.33	*	*	.	0.79	1.46
Lys 183	.	B	B	.	.	.	0.20	-0.34	*	*	F	1.28	1.74
Pro 184	C	1.17	-0.60	*	*	F	2.32	1.38
Pro 185	.	.	.	T	T	.	1.98	-0.60	*	*	F	2.86	3.29
Pro 186	.	.	.	T	T	.	1.17	-0.89	*	*	F	3.40	2.64
Gly 187	.	.	.	T	T	.	1.68	-0.10	*	*	F	2.76	1.48
Arg 188	.	.	.	T	T	.	0.97	-0.24	*	*	F	2.42	1.28
Asn 189	.	B	.	.	T	.	0.32	0.00	*	.	.	1.38	0.44
Phe 190	.	B	.	.	T	.	-0.17	0.21	*	.	.	0.44	0.33
Ser 191	.	B	.	.	T	.	-0.24	0.57	*	.	.	-0.20	0.15
Cys 192	.	B	.	.	T	.	0.10	1.49	*	.	.	-0.20	0.10
Val 193	.	B	-0.32	1.49	*	.	.	-0.60	0.18
Phe 194	.	B	T	.	.	.	-0.36	1.19	*	.	.	-0.20	0.19
Trp 195	.	B	T	.	.	.	-0.31	1.30	*	*	.	-0.20	0.49
Asn 196	.	B	.	.	C	.	-0.10	1.37	*	*	.	-0.40	0.49
Thr 197	.	B	.	.	C	.	0.57	0.73	*	*	.	-0.25	1.11
His 198	.	A	.	.	C	.	0.61	-0.06	*	*	.	0.65	1.82
Val 199	A	A	1.00	-0.29	*	*	.	0.30	0.93
Arg 200	A	A	0.48	-0.20	*	*	.	0.30	0.93
Glu 201	A	A	-0.11	0.00	*	.	.	0.30	0.57
Leu 202	A	A	-0.10	0.00	*	.	.	0.30	0.77
Thr 203	A	A	-0.96	-0.26	*	.	.	0.30	0.53
Leu 204	A	A	-0.10	0.43	*	.	.	-0.60	0.21
Ala 205	A	A	-1.02	0.43	*	*	.	-0.60	0.43
Ser 206	A	A	-1.02	0.43	*	.	.	-0.60	0.25
Ile 207	A	A	-0.51	0.34	*	.	.	-0.30	0.52
Asp 208	A	A	-0.20	0.04	*	.	.	-0.30	0.69
Leu 209	A	A	0.01	-0.06	*	F	.	0.45	0.89
Gln 210	A	A	0.60	0.17	*	F	.	0.00	1.26
Ser 211	A	A	.	.	C	.	0.69	-0.51	*	F	.	1.44	1.30
Gln 212	A	B	1.69	-0.09	*	F	.	1.28	2.44
Met 213	A	.	.	.	C	.	1.38	-0.77	*	F	.	2.12	2.76
Glu 214	.	B	.	.	T	.	2.16	-0.69	*	F	.	2.66	2.97
Pro 215	.	.	.	T	T	.	1.94	-0.57	*	F	.	3.40	2.34
Arg 216	.	.	.	T	T	.	1.93	-0.54	*	F	.	3.06	3.65

10

20

30

(表 5 系表 ③)

Thr 217	T	C	1.64	-0.67 *	*	F	2.52	3.04
His 218	T	C	1.43	0.24	.	F	1.28	1.07
Pro 219	T	C	0.62	0.50	*	F	0.49	0.87
Thr 220	T	T	0.80	1.19 *	*	.	0.20	0.50
Trp 221	A	.	.	.	T	T	-0.20	1.20 *	*	.	-0.20	0.50
Leu 222	.	B	B	.	.	.	-0.59	1.39	.	.	-0.60	0.23
Leu 223	.	B	B	.	.	.	-1.44	1.74	.	.	-0.60	0.14
His 224	.	B	B	.	.	.	-1.44	1.94	.	.	-0.60	0.09
Ile 225	.	B	B	.	.	.	-1.43	1.46	.	.	-0.60	0.17
Phe 226	.	B	B	.	.	.	-1.81	1.16	.	.	-0.60	0.28
Ile 227	.	B	.	.	T	T	-1.89	1.04	.	.	-0.20	0.11
Pro 228	.	.	.	T	T	.	-1.97	1.23	.	.	0.20	0.11
Ser 229	.	.	.	T	T	.	-2.52	1.23	.	.	0.20	0.09
Cys 230	.	B	B	.	T	T	-2.33	0.94	.	.	-0.20	0.13
Ile 231	.	B	B	.	.	.	-1.52	1.04	.	.	-0.60	0.07
Ile 232	.	B	B	.	.	.	-2.23	1.30	.	.	-0.60	0.04
Ala 233	.	S	B	.	.	.	-3.01	1.70	.	.	-0.60	0.06
Phe 234	.	S	B	.	.	.	-3.30	1.81	.	.	-0.60	0.06
Ile 235	.	B	B	.	.	.	-2.94	1.63	.	.	-0.60	0.09
Phe 236	.	B	B	.	.	.	-2.91	1.43	.	.	-0.60	0.12
Ile 237	A	-2.91	1.97	.	.	-0.60	0.11
Ala 238	A	-2.91	1.47	.	.	-0.60	0.11
Thr 239	A	-3.03	1.29	*	.	-0.60	0.12
Val 240	A	-2.02	1.19	*	.	-0.60	0.14
Ile 241	A	-1.28	0.50	*	.	-0.60	0.28
Ala 242	A	-0.39	0.00	*	.	0.30	0.39
Leu 243	A	-0.61	-0.09	*	.	0.30	0.91
Arg 244	A	-0.97	-0.04 *	*	.	0.45	1.07
Lys 245	A	-0.11	-0.16	*	F	0.45	0.57
Gln 246	A	A	0.82	-0.26	*	F	0.60	1.19
Leu 247	A	A	0.60	-0.94	*	.	0.75	1.22
Cys 248	.	A	B	.	.	.	1.17	-0.26 *	*	.	0.30	0.50
Gln 249	.	A	B	.	.	.	0.76	0.50	*	.	-0.60	0.45
Lys 250	.	A	B	.	.	.	0.61	0.49 *	.	.	-0.60	0.74
Leu 251	.	A	B	.	.	.	0.46	0.19 *	F	.	0.34	1.84
Tyr 252	.	A	B	.	.	.	1.27	-0.19 *	F	.	1.28	2.13
Ser 253	T	T	1.62	-0.79	.	F	2.52	1.78
Ser 254	T	T	1.31	-0.30	.	F	2.76	3.11
Lys 255	T	T	1.31	-0.50 *	.	F	1.40	1.66
Asp 256	T	T	2.23	-1.24 *	.	F	3.06	4.27
Thr 257	T	T	2.27	-1.64 *	.	F	2.72	6.25
Thr 258	.	B	1.71	-1.60 *	.	F	1.78	4.83
Lys 259	.	B	1.70	-0.96 *	.	F	1.44	2.15
Arg 260	.	B	B	.	.	.	1.34	-0.47 *	.	F	0.60	2.15
Pro 261	.	B	B	.	.	.	1.03	-0.47 *	.	F	0.60	2.15
Val 262	.	B	B	.	.	.	1.39	-0.49 *	.	F	0.60	1.95
Thr 263	.	B	B	.	.	.	1.81	-0.47 *	.	F	0.60	1.58
Thr 264	.	B	B	.	.	.	1.77	-0.47 *	.	F	0.82	2.00
Thr 265	.	B	B	.	.	.	0.80	-0.90 *	.	F	1.34	4.67
Lys 266	.	B	B	.	.	.	1.01	-0.90 *	.	F	1.56	2.40
Arg 267	.	B	1.57	-0.99 *	.	F	1.98	2.68
Glu 268	.	B	1.29	-1.09 *	.	F	2.20	2.49
Val 269	.	B	0.74	-1.07 *	.	F	1.98	1.26
Asn 270	.	B	1.06	-0.43 *	*	F	1.31	0.48
Ser 271	.	B	0.20	-0.03 *	*	.	0.94	0.44
Ala 272	.	B	0.09	0.66 *	*	.	-0.18	0.49
Val 273	.	B	-0.72	0.41	*	.	-0.40	0.49
Asn 274	.	B	-0.16	0.70	*	.	-0.40	0.30
Leu 275	.	B	-0.46	1.23	*	.	-0.40	0.31
Asn 276	.	B	-0.44	1.11	.	.	-0.40	0.57
Leu 277	C	0.14	1.39	.	.	-0.20	0.37
Trp 278	C	0.79	0.99	*	.	-0.20	0.78
Ser 279	C	0.44	0.73	.	.	-0.20	0.75
Trp 280	C	0.87	0.76	.	.	-0.20	0.90
Glu 281	C	0.48	0.50	.	.	-0.05	1.09
Pro 282	T	.	0.90	0.01	.	.	0.45	1.04
Gly 283	T	.	0.80	0.06	.	.	0.45	1.27

10

20

【 0 9 5 4 】

【 表 5 】

30

表 5

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Met 1	A	A	-1.47	0.70	-0.60 0.31
Ala 2	A	A	-1.38	0.96	-0.60 0.20
Leu 3	A	A	-1.80	0.91	-0.60 0.21
Met 4	A	A	-2.27	1.17	-0.60 0.17
Leu 5	A	A	-2.69	1.20	-0.60 0.13
Ser 6	A	A	-2.39	1.39	-0.60 0.13
Leu 7	A	A	-2.81	1.09	-0.60 0.17
Val 8	A	A	-2.61	1.16	*	.	.	.	-0.60 0.17
Leu 9	A	A	-1.97	1.16	*	.	.	.	-0.60 0.11
Ser 10	A	A	-1.97	0.77	*	.	.	.	-0.60 0.26
Leu 11	.	A	B	-2.01	0.77	*	.	.	.	-0.60 0.28
Leu 12	.	A	B	-1.50	0.56	*	.	.	.	-0.60 0.34
Lys 13	.	A	B	-0.99	0.26	*	.	F	.	-0.15 0.34
Leu 14	.	A	C	-0.18	0.30	.	.	F	.	0.05 0.41
Gly 15	T	T	.	-0.17	0.01	*	.	F	.	0.65 0.86
Ser 16	T	C	0.64	0.24	*	.	F	.	0.45 0.45
Gly 17	T	C	0.60	0.64	*	.	F	.	0.15 0.95
Gln 18	.	.	B	.	.	T	.	-0.14	0.60	*	.	F	.	-0.05 0.71
Trp 19	.	.	B	B	.	.	.	0.32	0.36	-0.60 0.46
Gln 20	.	.	B	B	.	.	.	0.46	1.00	-0.60 0.46
Val 21	.	.	B	B	.	.	.	0.76	1.00	-0.60 0.41
Phe 22	.	.	B	B	.	.	.	1.14	0.60	*	.	.	.	-0.20 0.65
Gly 23	T	C	0.93	-0.31	1.50 0.75
Pro 24	T	T	.	0.37	-0.29	.	.	F	.	2.30 1.57
Asp 25	T	C	0.37	-0.29	.	.	F	.	2.40 1.34
Lys 26	T	C	0.63	-0.67	*	.	F	.	3.00 2.35
Pro 27	.	.	.	B	.	.	C	0.52	-0.60	*	.	F	.	2.30 1.54
Val 28	.	.	B	B	.	.	.	0.01	-0.34	*	.	.	.	1.20 0.78
Gln 29	.	.	B	B	.	.	.	-0.12	0.30	*	.	.	.	0.30 0.28
Ala 30	.	.	B	B	.	.	.	-0.12	0.73	-0.30 0.16
Leu 31	.	.	B	B	.	.	.	-0.17	0.30	-0.30 0.42
Val 32	.	.	B	B	.	.	.	-0.36	-0.34	0.30 0.41
Gly 33	A	.	.	B	.	.	.	-0.28	-0.24	.	.	F	.	0.45 0.41
Glu 34	A	-0.98	-0.24	.	.	F	.	0.45 0.50
Asp 35	A	-0.69	-0.14	.	.	F	.	0.45 0.58
Ala 36	A	A	-0.54	-0.40	0.30 0.79
Ala 37	A	A	.	B	.	.	.	-0.39	-0.26	0.30 0.24
Phe 38	A	A	.	B	.	.	.	-0.86	0.53	-0.60 0.13
Ser 39	A	A	.	B	.	.	.	-1.16	1.21	-0.60 0.10
Cys 40	A	A	.	B	.	.	.	-1.37	1.10	-0.60 0.14
Phe 41	A	A	.	B	.	.	.	-0.73	1.03	-0.60 0.24
Leu 42	.	A	.	B	.	.	C	-0.46	0.34	-0.10 0.36
Ser 43	T	C	0.26	0.34	.	.	F	.	0.45 0.98
Pro 44	T	C	-0.04	0.17	0.60 1.82
Lys 45	T	C	0.62	-0.11	.	.	F	.	2.20 2.23
Thr 46	A	T	.	0.73	-0.80	*	.	F	.	1.30 2.88
Amn 47	A	A	0.54	-0.69	*	.	F	.	0.90 1.88
Ala 48	A	A	1.24	-0.50	*	.	.	.	0.30 0.93
Glu 49	A	A	0.60	-0.50	*	.	.	.	0.45 1.12
Ala 50	A	A	0.67	-0.34	*	.	.	.	0.30 0.52
Met 51	A	A	0.28	-0.74	*	.	.	.	0.60 1.00
Glu 52	A	A	-0.42	-0.46	*	.	.	.	0.30 0.50
Val 53	A	A	0.28	0.33	*	.	.	.	-0.30 0.43
Arg 54	A	A	-0.07	-0.17	*	.	.	.	0.30 0.85
Phe 55	A	A	0.52	-0.36	*	.	.	.	0.30 0.48
Phe 56	A	T	.	0.42	0.04	*	.	.	.	0.35 1.13
Arg 57	A	T	.	0.12	0.19	*	.	.	.	0.10 0.50
Gly 58	T	T	0.68	0.57	*	.	F	.	0.35 0.77
Gln 59	T	T	.	-0.29	0.17	*	.	F	.	0.80 1.20
Phe 60	.	.	B	.	.	.	C	-0.44	0.03	*	.	F	.	0.05 0.45
Ser 61	.	.	B	B	.	.	C	0.22	0.67	*	.	F	.	-0.25 0.34
Ser 62	.	.	B	B	.	.	.	-0.70	0.74	*	.	.	.	-0.60 0.27
Val 63	.	.	B	B	.	.	.	-0.60	1.03	*	.	.	.	-0.60 0.25
Val 64	.	.	B	B	.	.	.	-0.49	1.00	*	.	.	.	-0.60 0.30
Hls 65	.	.	B	B	.	.	.	0.21	0.61	*	.	.	.	-0.26 0.43
Leu 66	.	.	B	B	.	.	.	0.17	0.23	*	.	.	.	0.38 0.98
Tyr 67	.	.	B	.	.	T	.	0.51	0.01	*	.	.	.	1.27 1.30
Arg 68	T	T	.	1.37	-0.63	*	.	F	.	3.06 1.92
Asp 69	T	T	.	2.22	-1.13	*	.	F	.	3.40 3.88
Gly 70	T	T	.	2.04	-1.41	*	.	F	.	3.06 4.29
Lys 71	T	.	.	2.16	-1.74	*	.	F	.	2.52 3.39
Asp 72	C	.	1.80	-0.96	.	.	F	.	1.98 1.76

10

20

30

(表5 続き①)

Gln 73	C	1.69	-0.24	.	F	1.34	1.76
Pro 74	.	.	B	.	.	.	1.09	-0.37	.	F	0.80	1.52
Phe 75	.	.	B	.	.	.	1.22	0.24	.	.	-0.10	0.90
Met 76	.	.	B	.	.	.	1.18	0.67	.	.	-0.40	0.80
Gln 77	.	.	B	.	.	.	0.93	0.67	.	.	-0.40	0.90
Met 78	.	.	B	.	.	.	0.93	1.00	*	.	-0.25	1.63
Pro 79	.	.	B	.	.	.	0.80	0.61	*	.	0.09	2.85
Gln 80	T	T	1.61	0.43	*	F	0.98	1.63
Tyr 81	T	T	1.99	-0.03	*	F	1.82	3.23
Gln 82	A	.	.	.	T	T	1.94	-0.10	*	F	2.36	3.01
Gly 83	T	T	1.71	-0.53	*	F	1.40	1.48
Arg 84	.	.	B	.	.	T	1.09	-0.24	*	F	2.36	1.82
Thr 85	.	.	B	.	.	.	1.13	-0.36	*	F	1.90	0.78
Lys 86	.	.	B	.	.	.	1.38	-0.76	*	F	2.24	1.59
Leu 87	.	.	B	.	.	.	1.08	-1.19	*	F	2.13	1.38
Val 88	.	.	B	.	.	T	0.53	-0.80	*	F	2.22	1.26
Lys 89	.	.	B	.	.	T	-0.17	-0.60	*	F	2.30	0.44
Asp 90	.	.	B	.	.	T	0.14	-0.10	*	F	1.77	0.54
Ser 91	.	.	B	.	.	T	-0.24	-0.79	*	.	1.84	1.26
Ile 92	A	A	0.68	-1.00	*	.	1.06	0.62
Ala 93	A	A	0.64	-1.00	*	F	0.98	0.73
Glu 94	A	A	0.30	-0.31	*	F	0.45	0.38
Gly 95	A	A	-0.51	-0.31	*	F	0.45	0.75
Arg 96	A	A	-0.10	-0.31	*	F	0.45	0.60
Ile 97	A	A	-0.62	-0.81	*	F	0.75	0.67
Ser 98	A	A	0.57	-0.13	*	.	0.30	0.56
Leu 99	A	A	0.57	-0.56	*	.	0.60	0.50
Arg 100	A	A	0.02	-0.16	*	.	0.45	1.14
Leu 101	A	A	-0.40	-0.16	*	.	0.30	0.60
Gln 102	.	A	B	.	.	.	-0.17	-0.06	*	.	0.45	1.04
Asn 103	.	A	B	.	.	.	-0.88	-0.10	*	.	0.30	0.40
Ile 104	.	A	B	.	.	.	-0.07	0.59	*	.	-0.60	0.40
Thr 105	.	A	B	.	.	.	-0.77	-0.10	*	.	0.30	0.38
Val 106	.	A	B	.	.	.	-0.10	0.40	*	.	-0.60	0.24
Leu 107	.	A	B	.	.	.	-1.11	0.43	*	.	-0.60	0.34
Asp 108	.	A	B	.	.	.	-1.16	0.43	*	.	-0.60	0.19
Ala 109	.	A	B	.	.	.	-0.41	0.70	*	.	-0.60	0.41
Gly 110	.	.	.	T	.	.	-1.17	0.49	*	.	0.00	0.49
Leu 111	.	.	B	.	T	T	-0.20	0.17	*	.	0.10	0.16
Tyr 112	.	.	B	.	T	T	-0.28	0.37	*	.	0.10	0.30
Gly 113	.	.	B	.	T	T	-0.58	0.56	*	.	-0.20	0.22
Cys 114	.	.	B	.	T	T	-0.29	0.51	*	.	-0.20	0.35
Arg 115	.	.	B	B	.	.	0.06	0.21	*	.	-0.30	0.30
Ile 116	.	.	B	B	.	.	0.57	-0.14	*	F	0.45	0.52
Ser 117	.	.	B	B	.	.	0.57	-0.19	*	F	0.76	1.31
Ser 118	.	.	B	.	T	T	0.67	0.00	*	F	1.32	1.05
Gln 119	.	.	B	.	T	T	1.33	0.76	*	F	0.58	2.35
Ser 120	T	T	1.27	0.47	*	F	1.14	1.03
Tyr 121	T	T	1.57	0.09	*	F	1.60	4.52
Tyr 122	.	A	.	T	.	.	0.98	0.20	.	.	0.89	2.64
Gln 123	.	A	B	.	.	.	0.99	0.49	.	.	0.03	1.38
Lys 124	.	A	B	.	.	.	0.99	1.01	*	.	-0.28	0.93
Ala 125	.	A	B	.	.	.	0.48	0.26	*	.	0.01	1.03
Ile 126	.	A	B	.	.	.	0.72	0.19	*	.	-0.30	0.49
Trp 127	.	A	B	.	.	.	0.11	0.19	*	.	-0.30	0.42
Glu 128	A	A	-0.19	0.83	*	.	-0.60	0.31
Leu 129	A	A	-0.82	0.71	*	.	-0.60	0.59
Gln 130	.	A	B	.	.	.	-1.04	0.52	*	.	-0.60	0.57
Val 131	.	.	B	.	.	.	-0.50	0.30	*	.	-0.30	1.27
Ser 132	.	.	B	.	.	C	-0.51	0.73	*	.	-0.40	0.33
Ala 133	.	.	B	.	.	C	-1.37	0.43	*	.	-0.40	0.25
Leu 134	.	.	B	.	.	.	-0.77	0.67	*	.	-0.60	0.25
Gly 135	.	.	B	.	T	T	-1.58	0.46	*	.	-0.20	0.19
Ser 136	.	.	B	B	.	.	-1.61	0.76	*	.	-0.60	0.24
Val 137	.	.	B	B	.	.	-1.61	0.94	*	.	-0.60	0.20
Pro 138	.	.	B	B	.	.	-1.91	0.64	*	.	-0.60	0.27
Leu 139	.	.	B	B	.	.	-1.69	0.90	*	.	-0.60	0.14
Ile 140	.	.	B	B	.	.	-1.69	1.01	*	.	-0.60	0.19
Ser 141	.	.	B	B	.	.	-1.63	0.80	*	.	-0.60	0.12
Ile 142	.	.	B	B	.	.	-1.63	1.13	*	.	-0.60	0.24
Ala 143	.	.	B	B	.	.	-1.42	1.09	*	.	-0.40	0.25
Gly 144	.	.	B	B	.	.	-0.50	0.40	*	.	-0.34	0.31
Tyr 145	.	.	B	B	.	.	0.39	0.01	*	.	0.22	0.97

10

20

30

(表5 系統②)

Val 146	.	.	B	B	.	.	.	-0.20	-0.67	*	.	.	1.53	1.44
Asp 147	.	.	B	.	.	T	.	0.69	-0.49	*	*	F	2.04	1.02
Arg 148	.	.	B	.	.	T	.	0.47	-0.51	*	.	F	2.60	1.13
Asp 149	.	.	B	.	.	T	.	0.00	-0.59	*	.	F	2.34	1.25
Ile 150	.	.	B	.	.	T	.	-0.42	-0.54	*	.	.	1.78	0.62
Glu 151	.	A	B	0.43	0.03	.	.	.	0.22	0.17
Leu 152	.	A	B	0.13	0.43	*	.	.	-0.34	0.19
Leu 153	.	A	B	-0.28	0.81	*	.	.	-0.60	0.34
Cys 154	.	A	B	-0.63	0.51	*	*	.	-0.60	0.26
Gln 155	.	A	.	.	T	T	.	-0.02	0.54	*	*	F	-0.05	0.31
Ser 156	T	T	.	-0.72	0.77	*	.	F	0.35	0.40
Ser 157	T	T	.	-0.12	0.87	*	.	F	0.35	0.64
Gly 158	T	T	.	0.80	0.73	*	.	F	0.25	0.57
Trp 159	T	T	.	1.26	0.33	*	.	F	0.65	0.84
Phe 160	T	T	C	0.34	0.37	*	.	F	0.43	0.97
Pro 161	T	T	C	0.66	0.47	*	*	F	0.30	1.41
Arg 162	T	T	C	1.00	0.54	*	*	F	0.30	1.36
Pro 163	T	T	.	1.06	-0.37	*	*	F	1.40	3.13
Thr 164	T	T	.	1.39	-0.34	*	*	F	1.20	2.13
Ala 165	T	T	.	1.74	-0.67	*	*	F	1.50	2.17
Lys 166	T	T	.	1.74	-0.24	*	.	F	1.20	1.39
Trp 167	T	T	.	1.63	-0.24	*	*	F	1.54	1.49
Lys 168	C	1.50	-0.33	*	*	F	1.68	1.55
Gly 169	C	1.81	-0.40	*	*	F	2.02	1.26
Pro 170	T	T	C	2.40	0.00	*	*	F	1.96	2.08
Gln 171	T	T	.	1.84	-0.51	*	*	F	1.40	1.74
Gly 172	T	T	C	1.83	-0.23	.	.	F	2.56	1.45
Gln 173	.	.	B	.	.	T	.	1.18	-0.27	.	.	F	2.02	1.26
Asp 174	.	.	B	1.52	-0.21	.	.	F	1.82	1.05
Leu 175	.	.	B	1.43	-0.61	*	*	F	2.12	1.77
Ser 176	.	.	B	.	.	T	.	1.84	-0.66	*	*	F	2.32	1.37
Thr 177	.	.	B	.	.	T	.	1.58	-1.06	*	*	F	2.66	1.60
Asp 178	T	T	.	1.58	-0.57	*	*	F	1.40	2.80
Ser 179	T	T	C	1.49	-0.46	*	*	F	2.86	1.37
Arg 180	T	T	.	1.50	-1.24	*	*	F	1.06	4.57
Thr 181	T	T	.	2.20	-1.75	*	.	F	3.06	4.57
Asn 182	T	T	.	2.48	-1.11	*	.	F	3.06	3.37
Arg 183	.	.	B	.	.	T	.	2.13	-1.00	*	.	F	2.66	2.34
Asp 184	T	T	.	1.62	-0.57	*	.	F	1.40	1.62
Met 185	.	.	B	.	.	T	.	0.81	-0.37	*	.	.	2.06	0.82
His 186	.	.	B	.	.	T	.	1.12	0.01	*	.	.	1.12	0.36
Gly 187	.	.	B	.	.	T	.	0.27	0.01	*	*	.	0.78	0.36
Leu 188	.	.	B	B	.	.	.	0.16	0.66	*	*	.	-0.26	0.27
Phe 189	A	.	B	-0.71	0.04	*	*	.	-0.30	0.35
Asp 190	A	.	B	-0.43	0.23	*	*	.	-0.30	0.25
Val 191	A	.	B	-1.21	0.19	*	*	.	-0.30	0.40
Glu 192	A	.	B	-1.18	0.39	*	*	.	-0.30	0.38
Ile 193	A	.	B	-1.22	-0.11	*	*	.	0.30	0.33
Ser 194	A	A	B	-0.52	0.53	*	*	.	-0.60	0.33
Leu 195	A	A	B	-0.52	0.29	*	*	.	-0.30	0.33
Thr 196	A	A	B	0.33	0.29	*	*	.	-0.30	0.81
Val 197	A	A	B	-0.26	0.00	*	*	.	0.53	0.98
Gln 198	A	A	B	0.29	0.11	*	*	F	0.50	1.20
Glu 199	A	A	B	0.29	-0.14	*	*	F	1.20	0.82
Asn 200	T	T	.	0.21	-0.24	.	.	F	2.40	1.48
Ala 201	T	T	.	0.22	-0.20	.	.	F	2.50	0.60
Gly 202	T	T	.	0.41	-0.21	.	.	F	2.25	0.46
Ser 203	T	T	.	0.11	0.36	.	.	F	2.40	0.15
Ile 204	A	-0.49	0.34	*	*	.	0.40	0.21
Ser 205	A	0.18	0.03	*	*	.	-0.15	0.21
Cys 206	.	.	B	-0.07	0.14	*	*	.	-0.10	0.30
Ser 207	.	A	B	-0.07	0.14	*	*	.	-0.30	0.58
Met 208	A	A	0.10	-0.04	*	*	.	0.30	0.44
Arg 209	A	A	0.28	0.07	*	*	.	-0.15	1.11
His 210	A	A	0.28	0.19	*	*	.	-0.30	0.69
Ala 211	A	A	1.06	0.19	*	*	.	-0.30	0.93
His 212	A	A	1.16	-0.43	*	*	.	0.30	0.93
Leu 213	A	A	1.10	-0.43	*	*	.	0.45	1.18
Ser 214	A	A	0.99	-0.23	*	*	.	0.30	0.87
Arg 215	A	A	0.72	-0.79	*	*	F	0.90	1.10
Glu 216	A	A	1.42	-0.90	*	*	F	3.90	1.79
Val 217	A	.	B	0.60	-1.59	*	*	F	0.90	2.62
Glu 218	A	.	B	B	.	.	.	1.41	-1.33	*	*	F	0.75	0.99

10

20

30

(表5続き③)

Ser 219	A	.	.	B	.	.	.	0.82	-0.91 *	*	F	0.75	0.99
Arg 220	.	.	B	B	.	.	.	0.37	-0.24 *	*	F	0.45	0.94
Val 221	.	.	B	B	.	.	.	0.37	-0.46 *	*	F	0.45	0.54
Gln 222	A	.	.	B	.	.	.	0.93	-0.46 *	*	.	0.54	0.57
Ile 223	A	T	.	1.04	0.07 *	*	.	0.78	0.36
Gly 224	A	T	.	1.46	0.07 *	*	F	1.27	0.95
Asp 225	T	T	1.39	-0.57 *	*	F	1.06	1.07
Trp 226	T	T	2.21	-0.97 *	*	F	3.40	3.06
Arg 227	.	.	B	1.87	-1.16 *	*	F	2.46	4.20
Arg 228	T	T	2.76	-1.16 *	*	F	2.72	2.49
Lys 229	T	T	2.51	-0.76 *	*	F	2.38	4.10
His 230	T	T	2.17	-1.17 *	*	F	2.38	2.12
Gly 231	T	T	2.50	-0.74 *	*	F	2.18	1.07
Gln 232	T	.	2.50	-0.74 *	*	F	2.52	1.07
Ala 233	C	2.42	-0.74 *	*	F	2.46	1.54
Gly 234	T	T	2.14	-1.24 *	*	F	3.40	3.11
Lys 235	.	.	B	.	.	T	T	1.88	-0.91 *	*	F	2.66	2.81
Arg 236	T	T	1.92	-0.83 *	*	F	1.77	3.73
Lys 237	T	T	1.62	-1.04 *	*	F	2.48	5.05
Tyr 238	.	.	B	.	.	T	T	2.18	-1.05 *	*	F	1.79	3.39
Ser 239	.	.	B	.	.	T	.	1.63	-0.59 *	*	F	1.50	2.35
Ser 240	.	.	B	.	.	T	.	1.34	0.10	.	F	0.50	0.82
Ser 241	.	.	B	.	.	T	.	1.23	0.86	.	F	0.15	0.82
His 242	.	.	B	0.89	0.10 *	*	.	0.20	1.03
Ile 243	.	.	B	0.43	0.10 *	*	.	0.25	1.03
Tyr 244	.	.	B	0.52	0.50 *	*	.	-0.35	0.66
Asp 245	.	.	B	0.52	0.54 *	*	.	-0.40	0.75
Ser 246	.	.	B	0.93	0.43 *	*	F	-0.10	1.44
Phe 247	.	.	B	.	.	T	.	-0.26	0.43 *	*	F	-0.05	0.76
Pro 248	T	C	-0.07	0.06 *	*	F	0.45	0.61
Ser 249	T	C	-0.42	0.84	.	F	0.15	0.39
Leu 250	T	C	-0.42	1.07	.	.	0.00	0.45
Ser 251	.	.	B	-0.82	0.29	.	.	-0.10	0.49
Phe 252	.	.	B	B	.	.	.	-0.37	0.64	.	.	-0.60	0.31
Met 253	.	.	B	B	.	.	.	-1.04	1.01	.	.	-0.60	0.60
Asp 254	.	.	B	B	.	.	.	-1.56	1.01	.	.	-0.60	0.31
Phe 255	.	.	B	B	.	.	.	-0.63	1.31	.	.	-0.60	0.30
Tyr 256	.	.	B	B	.	.	.	-0.54	0.53	.	.	-0.60	0.59
Ile 257	.	.	B	B	.	.	.	-0.70	0.34	.	.	-0.30	0.54
Leu 258	.	.	B	B	.	.	.	-0.44	0.99 *	*	.	-0.60	0.47
Arg 259	.	.	B	B	.	.	.	-0.66	0.63 *	*	.	-0.35	0.29
Pro 260	.	.	B	B	T	.	.	-0.62	0.30	*	F	0.75	0.65
Val 261	.	.	B	T	.	.	.	-0.27	0.19 *	*	F	1.00	0.42
Gly 262	T	C	.	0.03	-0.50 *	*	F	1.35	0.42
Pro 263	T	T	.	0.89	0.00 *	*	F	2.50	0.28
Cys 264	.	.	B	.	T	.	.	-0.03	-0.43 *	*	F	1.85	0.74
Arg 265	.	.	B	.	T	.	.	-0.68	-0.39 *	*	.	1.45	0.62
Ala 266	.	.	A	B	.	.	.	-0.42	-0.17 *	*	.	0.80	0.30
Lys 267	.	.	A	B	.	.	.	-0.42	0.01	*	.	-0.05	0.55
Leu 268	.	.	A	B	.	.	.	-0.52	-0.13	*	.	0.30	0.28
Val 269	.	.	A	B	.	.	.	-0.67	0.36	*	.	-0.30	0.40
Met 270	A	A	-0.73	0.54	*	.	-0.60	0.16
Gly 271	A	A	-0.96	0.54 *	*	.	-0.60	0.40
Thr 272	A	A	-1.00	0.54	*	.	-0.60	0.44
Leu 273	A	A	-1.08	0.30	*	.	-0.30	0.77
Lys 274	A	A	-1.03	0.37	*	.	-0.30	0.55
Leu 275	A	A	-0.76	0.63	*	.	-0.60	0.31
Gln 276	A	A	-0.43	0.57	*	.	-0.60	0.37
Ile 277	.	.	A	B	.	.	.	-0.98	-0.11	*	.	0.30	0.32
Leu 278	A	A	-0.20	0.53	*	.	-0.60	0.29
Gly 279	A	A	-0.94	0.34	*	.	-0.30	0.23
Gln 280	A	A	-0.99	0.73	*	.	-0.60	0.28
Val 281	A	A	-0.99	0.69	*	.	-0.60	0.26
His 282	A	A	-0.06	0.00 *	*	.	0.30	0.45
Phe 283	A	A	0.54	-0.43	*	.	0.30	0.52
Val 284	A	A	0.86	0.00	*	.	0.45	1.07
Glu 285	A	A	0.56	-0.14	*	F	0.50	1.07
Lys 286	A	.	.	.	T	.	.	0.60	-0.26 *	*	F	1.00	1.66
Pro 287	A	.	.	.	T	.	.	-0.18	-0.36 *	*	F	1.00	1.85
His 288	A	.	.	.	T	.	.	0.52	-0.31 *	*	F	0.85	0.88
Ser 289	A	.	.	.	T	.	.	0.49	0.09 *	*	.	0.10	0.76
Leu 290	A	.	.	B	.	.	.	0.19	0.77	*	.	-0.60	0.35
Leu 291	.	.	B	B	.	.	.	-0.20	0.73	*	.	-0.60	0.34

10

20

30

(表5続き④)

Gln 292	.	.	B	B	.	.	.	-0.33	0.66	.	.	-0.60	0.25
Ile 293	.	.	B	B	.	.	.	-0.60	0.70	.	F	-0.45	0.30
Ser 294	.	.	B	B	.	T	.	-0.61	0.40	.	F	0.35	0.49
Gly 295	T	T	.	-0.11	0.20	.	F	0.65	0.41
Gly 296	T	T	.	-0.11	0.29 *	*	F	0.65	0.84
Ser 297	T	C	.	-0.07	0.29 *	*	F	0.45	0.52
Thr 298	.	.	B	B	.	.	.	0.87	-0.10 *	*	F	0.90	1.04
Thr 299	.	.	B	B	.	.	.	0.82	-0.53 *	*	F	1.50	2.11
Leu 300	.	.	B	B	.	.	.	0.96	-0.53 *	*	F	1.80	1.56
Lys 301	.	.	B	1.30	-0.49 *	*	F	2.20	1.67
Lys 302	T	.	.	1.39	-0.57 *	*	F	3.00	1.86
Gly 303	T	C	.	1.41	-0.63 *	*	F	2.70	3.49
Pro 304	T	C	.	1.42	-0.40 *	*	F	2.10	1.83
Asn 305	T	C	.	1.53	-0.01 *	*	F	1.80	1.23
Pro 306	T	.	.	1.28	0.77 *	*	F	0.80	1.08
Trp 307	T	.	.	0.93	0.77 *	*	.	0.15	1.08
Ser 308	C	.	1.07	0.73	.	.	0.15	1.08
Phe 309	.	.	B	0.61	0.76	.	.	-0.20	0.90
Pro 310	.	.	B	0.02	0.90	.	F	-0.25	0.90
Ser 311	T	C	.	-0.88	0.49	.	F	0.15	0.34
Pro 312	T	T	.	-0.99	0.79	.	F	0.35	0.33
Cys 313	T	T	.	-0.90	0.79	.	.	0.20	0.18
Ala 314	.	.	B	.	T	T	.	-0.51	0.79	.	.	0.20	0.21
Leu 315	.	.	B	-0.69	0.89	.	.	-0.40	0.20
Phe 316	.	.	B	-0.78	0.89	.	.	-0.40	0.47
Pro 317	.	.	B	-0.96	0.74	.	.	-0.40	0.60
Thr 318	.	.	B	-0.68	0.67	.	.	-0.40	0.93

40

【 0 9 5 5 】

【 表 6 】

表 6

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Met 1	A	A	-0.04	-0.17	.	.	.	0.45	1.00
Glu 2	A	A	-0.24	-0.10	.	.	.	0.30	0.79
Pro 3	A	A	-0.67	-0.03	.	.	.	0.30	0.83
Ala 4	A	A	-0.31	0.23	*	.	.	-0.30	0.82
Ala 5	A	A	-0.62	0.11	.	*	.	-0.30	0.41
Leu 7	A	A	-0.32	0.90	.	.	.	-0.60	0.23
His 8	A	A	-0.21	0.86	.	.	.	-0.60	0.30
Phe 9	A	A	-0.21	0.36	*	.	.	-0.30	0.59
Ser 10	A	A	-0.21	0.29	*	.	.	-0.30	0.90
Arg 11	A	0.08	0.29	*	.	.	-0.15	1.11
Pro 12	A	T	.	-0.14	-0.01	*	.	F	1.00	1.09
Ala 13	A	T	.	-0.14	0.17	*	.	F	0.40	1.04
Ser 14	A	T	.	-0.92	0.07	*	.	F	0.25	0.64
Leu 15	A	-1.03	0.37	*	.	.	0.10	0.27
Leu 16	A	.	.	B	.	.	.	-1.54	1.06	.	.	.	-0.60	0.12
Leu 17	A	.	.	B	.	.	.	-1.96	1.31	*	.	.	-0.60	0.12
Leu 18	A	.	.	B	.	.	.	-2.56	1.20	.	.	.	-0.60	0.12
Leu 19	A	.	.	B	.	.	.	-1.63	1.50	*	.	.	-0.60	0.12
Ser 20	A	.	.	B	.	.	.	-2.92	1.39	.	.	.	-0.60	0.08
Leu 21	A	.	.	B	.	.	.	-2.92	1.20	.	.	.	-0.60	0.09
Cys 22	A	.	.	B	.	.	.	-2.97	1.20	.	.	.	-0.60	0.09
Ala 23	A	.	.	B	.	.	.	-2.46	1.16	.	.	.	-0.60	0.08
Leu 24	A	.	.	B	.	.	.	-2.23	0.86	.	.	.	-0.60	0.08
Val 25	A	.	.	B	.	.	.	-1.42	0.97	.	.	.	-0.60	0.10
Ser 26	A	.	.	B	.	.	.	-1.82	0.69	.	.	.	-0.60	0.33
Ala 27	A	.	.	B	.	.	.	-1.32	0.90	.	.	.	-0.60	0.28
Gln 28	A	.	.	B	.	.	.	-1.81	0.89	.	.	.	-0.60	0.50
Phe 29	.	.	B	B	.	.	.	-1.78	0.84	.	.	.	-0.60	0.50
Thr 30	.	.	B	B	.	.	.	-1.31	0.84	.	.	.	-0.60	0.28
Val 31	.	.	B	B	.	.	.	-0.67	0.89	.	.	.	-0.60	0.27
Val 32	.	.	B	B	.	.	.	-0.96	0.81	*	.	.	-0.60	0.24
Gly 33	C	.	-0.37	0.91	*	.	.	-0.40	0.28
Pro 34	C	.	-0.58	0.53	.	.	F	-0.25	0.31
Ala 35	T	C	.	-0.77	0.47	.	.	F	0.15	0.65
Asn 36	T	C	.	-1.27	0.51	.	.	F	0.15	0.62
Pro 37	A	.	.	.	T	C	.	-1.00	0.56	.	.	F	0.15	0.51
Ile 38	A	A	-0.74	0.63	.	.	.	-0.20	0.34
Leu 39	.	A	B	-1.26	0.81	.	.	.	-0.60	0.33
	-1.39	0.96	*	.	.	-0.60	0.15

10

(表6 続き ①)

Ala 40	A	A	-0.80	0.99	*	.	.	-0.60	0.10
Met 41	A	A	-0.80	0.56	.	.	.	-0.60	0.24
Val 42	A	A	-0.90	0.27	.	.	.	-0.30	0.47
Gly 43	A	T	.	-0.32	0.07	.	F	.	0.25	0.67
Glu 44	A	T	.	-0.32	0.06	*	F	.	0.25	0.98
Asn 45	A	T	.	0.38	0.13	.	F	.	0.40	1.09
Thr 46	A	T	.	0.31	-0.51	*	F	.	1.30	2.15
Leu 48	A	A	1.13	-0.37	*	F	.	0.45	0.66
Arg 49	A	A	0.67	0.13	.	.	.	-0.30	0.56
Cys 50	A	A	0.37	0.41	.	*	.	-0.60	0.32
His 51	.	A	0.14	0.31	.	.	.	0.00	0.30
Leu 52	.	A	.	.	T	.	.	0.47	0.36	*	.	.	0.70	0.56
Ser 53	C	.	0.82	-0.43	*	.	.	1.40	0.49
Pro 54	T	C	.	1.63	-0.60	*	.	F	1.40	1.95
Glu 55	A	.	.	.	T	C	.	0.93	-0.60	*	.	F	1.00	2.18
Lys 56	A	.	.	.	T	.	.	1.60	-0.60	.	.	F	2.50	2.67
Asn 57	A	A	1.63	-1.29	.	.	F	2.20	3.46
Ala 58	A	A	1.84	-1.67	.	.	F	1.50	3.71
Glu 59	A	A	2.14	-1.49	.	.	F	1.20	2.13
Asp 60	A	A	1.50	-1.49	*	.	F	0.90	1.45
Met 61	A	A	1.61	-0.84	*	.	F	0.75	0.85
Glu 62	A	A	1.28	-1.24	*	.	.	0.75	1.63
Val 63	A	A	0.58	-0.83	*	.	.	0.75	1.00
Arg 64	A	A	1.58	-0.04	*	.	.	0.30	0.52
Trp 65	A	A	0.98	-0.04	*	.	.	0.45	1.03
Phe 66	A	A	0.98	-0.27	*	.	.	0.30	0.80
Arg 67	.	A	.	.	T	.	.	0.88	0.13	*	.	F	-0.15	1.86
Ser 68	T	.	.	0.58	0.27	*	.	F	0.25	0.82
Gln 69	T	T	.	1.22	0.66	*	.	F	0.50	1.05
Phe 70	T	C	.	0.52	0.17	*	.	F	0.80	1.87
Ser 71	T	C	.	-0.04	-0.11	.	.	F	1.05	0.96
Pro 72	.	.	.	B	.	C	.	-0.04	0.53	*	.	F	0.15	0.51
Ala 73	.	.	.	B	T	.	.	-1.01	0.93	.	.	.	-0.40	0.27
Val 74	.	.	B	B	.	.	.	-0.96	1.17	.	.	.	-0.20	0.21
Phe 75	.	.	B	B	.	.	.	-0.91	1.14	.	.	.	-0.44	0.27
Val 76	.	.	B	B	.	.	.	-0.56	0.76	.	.	.	-0.28	0.35
Tyr 77	.	.	B	B	.	.	.	-0.80	0.76	.	.	.	-0.12	0.34
Lys 78	T	T	.	-0.28	0.69	*	.	.	0.84	0.45
Gly 79	T	C	.	0.31	0.04	.	.	F	1.60	1.02
Gly 80	T	C	.	1.28	-0.74	.	.	F	2.14	2.39
Arg 81	.	A	.	.	T	C	.	1.47	-1.35	*	.	F	1.98	2.98
Glu 82	.	A	.	.	T	C	.	2.52	-1.66	*	.	F	1.42	2.15
Arg 83	A	A	2.77	-1.66	.	.	F	1.26	3.77
Thr 84	A	A	2.72	-2.09	.	.	F	0.90	6.59
Glu 85	A	A	2.47	-2.11	*	.	F	0.90	5.83
Glu 86	A	A	2.81	-1.80	.	.	F	0.90	1.33
Gln 87	A	A	2.70	-1.50	.	.	F	0.90	2.95
Met 88	A	A	2.46	-1.50	.	.	F	0.90	1.93
Glu 89	A	A	2.46	-1.23	.	.	F	0.90	3.20
Glu 90	A	A	2.42	-1.23	.	.	F	0.90	3.62
Tyr 91	A	A	2.53	-0.80	.	.	F	0.90	2.07
Arg 92	A	.	.	.	T	.	.	1.64	-1.20	.	.	F	1.30	4.09
Gly 93	A	.	.	.	T	.	.	1.33	-1.13	.	.	F	1.30	1.66
Arg 94	A	.	.	.	T	.	.	1.33	-0.84	.	.	F	1.30	1.38
Ile 95	A	.	.	B	.	.	.	0.38	0.14	.	.	F	0.25	0.76
Thr 96	A	.	.	B	.	.	.	0.08	0.03	.	.	.	-0.30	0.29
Phe 97	.	.	B	B	.	.	.	0.37	0.41	.	.	.	-0.60	0.39
Val 98	.	.	B	B	.	.	.	0.26	-0.01	*	.	.	0.64	0.40
Ser 99	.	.	B	B	.	.	.	-0.29	-0.01	*	.	.	0.98	0.95
Lys 100	T	.	.	-0.40	-0.01	*	.	F	1.87	0.46
Asp 101	T	.	.	0.60	-0.10	*	.	F	2.61	0.86
Ile 102	T	.	.	0.57	-0.89	*	.	F	3.40	2.27
Asn 103	T	C	.	0.97	-1.10	*	.	F	2.85	1.67
Arg 104	T	T	.	0.97	-1.10	*	.	F	2.72	1.12
Gly 105	T	T	.	0.68	-0.46	*	.	F	1.93	0.50
Ser 106	A	.	.	.	T	.	.	-0.18	0.04	.	.	F	0.99	0.72
Val 107	A	.	.	B	.	.	.	-1.01	0.04	*	.	F	0.25	0.37
Ala 108	A	.	.	B	.	.	.	-1.01	0.29	.	.	.	-0.30	0.14
Leu 109	.	.	B	B	.	.	.	-1.07	0.97	.	.	.	-0.60	0.10
Val 110	.	.	B	B	.	.	.	-1.18	1.04	.	.	.	-0.60	0.10
Ile 111	.	.	B	B	.	.	.	-1.69	1.06	.	.	.	-0.60	0.22
Ile 112	A	.	B	B	.	.	.	-1.70	1.06	.	.	.	-0.60	0.16
	.	.	.	B	.	.	.	-1.43	1.04	.	.	.	-0.60	0.28

20

30

40

(表6 糸表②)

Asn	113	A	.	.	B	.	.	-0.84	0.86	.	.	-0.60	0.38
Val	114	A	.	.	B	.	.	-0.03	0.61	.	.	-0.60	0.94
Thr	115	A	.	.	B	.	.	0.82	-0.07	*	.	0.45	1.20
Ala	116	A	.	.	B	.	.	1.17	-0.17	.	F	0.98	1.20
Gln	117	A	0.51	-0.14	.	F	1.56	1.60
Glu	118	.	.	.	T	T	.	0.27	-0.10	*	F	2.09	0.77
Asn	119	.	.	.	T	T	.	1.23	0.17	*	F	1.92	1.20
Gly	120	.	.	.	T	T	.	0.89	-0.33	*	F	2.80	1.36
Ile	121	.	.	.	T	T	.	1.22	-0.16	*	.	2.02	0.42
Tyr	122	.	.	.	T	.	.	0.52	0.60	*	.	0.84	0.41
Arg	123	.	.	.	T	.	.	0.52	0.99	*	.	0.56	0.36
Cys	124	.	.	B	.	.	.	0.52	0.96	*	.	-0.12	0.89
Tyr	125	.	.	B	.	.	.	0.32	0.27	*	.	-0.10	0.98
Phe	126	.	.	B	.	.	.	1.52	-0.06	*	.	0.84	0.49
Gln	127	.	.	.	T	.	.	1.47	-0.06	*	F	1.88	1.81
Glu	128	.	.	.	T	T	.	1.11	-0.24	*	F	2.22	1.55
Gly	129	.	.	.	T	T	.	1.78	-0.24	*	F	2.76	2.80
Arg	130	.	.	.	T	T	.	2.02	-1.03	*	F	3.40	2.70
Ser	131	.	.	.	T	T	.	2.13	-1.43	*	F	2.86	2.70
Tyr	132	A	.	.	.	C	.	1.24	-0.93	*	F	2.32	2.75
Asp	133	A	A	0.43	-0.67	*	F	1.43	0.99
Glu	134	A	A	0.89	0.01	*	.	0.04	0.61
Ala	135	A	A	-0.03	-0.37	*	.	0.30	0.76
Ile	136	A	A	-0.59	-0.44	*	.	0.30	0.37
Leu	137	A	A	-1.20	0.20	*	.	-0.30	0.16
Arg	138	A	A	-1.79	0.84	*	.	-0.60	0.12
Leu	139	A	A	-2.13	0.84	*	.	-0.60	0.17
Val	140	A	A	-2.36	0.59	*	.	-0.60	0.20
Val	141	A	A	-1.81	0.59	*	.	-0.60	0.09
Ala	142	A	A	-1.30	1.01	*	.	-0.60	0.10
Gly	143	.	A	.	T	.	.	-1.37	0.71	*	.	-0.20	0.19
Leu	144	C	.	-0.77	0.07	.	.	0.10	0.50
Gly	145	C	.	-0.72	-0.14	.	F	0.85	0.77
Ser	146	C	.	-0.76	0.04	*	F	0.25	0.64
Lys	147	.	A	.	.	C	.	-0.17	0.30	*	F	0.05	0.54
Pro	148	A	A	-0.72	-0.39	*	F	0.45	0.95
Leu	149	A	A	0.14	-0.11	*	.	0.30	0.80
Ile	150	A	A	-0.10	-0.51	*	.	0.68	0.50
Glu	151	A	A	0.20	-0.01	*	.	0.30	0.13
Ile	152	A	A	0.16	-0.04	*	.	0.30	0.68
Lys	153	A	A	0.37	-0.73	*	F	1.24	1.69
Ala	154	A	A	0.83	-1.41	*	F	1.58	1.63
Gln	155	A	A	1.42	-0.99	*	F	1.92	2.30
Glu	156	A	.	.	T	.	.	0.53	-1.29	*	F	2.66	1.84
Asp	157	.	.	.	T	T	.	1.13	-0.60	*	F	3.40	1.07
Gly	158	.	.	.	T	T	.	0.28	-0.19	*	F	2.61	0.65
Ser	159	.	.	.	T	T	.	0.87	0.10	*	F	1.67	0.31
Ile	160	A	A	0.20	0.10	*	.	0.38	0.32
Trp	161	A	A	-0.69	0.67	*	.	-0.26	0.17
Leu	162	A	A	-0.99	0.53	*	.	-0.60	0.09
Glu	163	.	A	B	.	.	.	-0.99	0.93	*	.	-0.60	0.17
Cys	164	.	A	.	T	.	.	-1.03	0.67	*	.	-0.20	0.16
Ile	165	.	.	.	T	.	.	-0.43	0.19	.	.	0.30	0.20
Ser	166	.	.	.	T	T	.	-0.39	0.41	*	.	0.20	0.12
Gly	167	.	.	.	T	T	.	0.21	1.17	.	F	0.35	0.35
Gly	168	.	.	.	T	T	.	0.21	1.03	.	F	0.35	0.77
Trp	169	.	.	.	T	T	.	0.67	0.34	.	F	0.45	0.99
Tyr	170	.	.	.	T	C	.	0.74	0.39	.	F	0.60	1.55
Pro	171	.	.	.	T	C	.	0.73	0.64	.	F	0.30	1.29
Glu	172	.	.	.	T	C	.	0.12	0.70	.	F	0.30	1.77
Pro	173	.	.	.	T	T	.	0.28	0.41	*	F	0.35	0.84
Leu	174	.	.	B	T	.	.	0.68	0.59	*	.	-0.20	0.57
Thr	175	.	.	B	T	.	.	0.92	0.16	*	.	0.10	0.64
Val	176	.	.	B	T	.	.	0.92	0.16	*	.	0.10	0.70
Trp	177	.	.	B	T	.	.	0.68	0.16	*	.	0.59	1.31
Arg	178	.	.	B	.	C	.	0.54	0.23	*	.	0.73	1.42
Asp	179	.	.	.	T	C	.	1.16	0.17	*	F	1.62	1.89
Pro	180	.	.	.	T	T	.	0.81	-0.47	*	F	2.76	3.11
Tyr	181	.	.	.	T	T	.	0.81	-0.74	*	F	3.40	1.18
Gly	182	.	.	.	T	T	.	0.89	-0.10	*	F	2.61	0.52
Glu	183	.	.	B	T	.	.	0.19	0.33	*	.	1.12	0.52
Val	184	A	.	B	.	.	.	-0.62	0.40	*	.	0.08	0.34
Val	185	A	.	B	.	.	.	-0.37	0.33	*	.	0.04	0.38

10

20

30

(表6 続き③)

Pro 186	A	A	-0.12	-0.10	*	.	.	.	0.30	0.33
Ala 187	A	A	-0.63	-0.19	*	.	.	.	0.30	0.76
Leu 188	A	A	-0.93	-0.19	*	.	.	.	0.30	0.76
Lys 189	A	A	-0.97	-0.36	*	.	F	.	0.45	0.66
Glu 190	A	A	-0.70	-0.10	0.30	0.46
Val 191	A	A	-0.49	-0.10	0.30	0.56
Ser 192	A	A	-0.49	-0.79	0.60	0.47
Ile 193	A	A	0.32	-0.29	0.30	0.27
Ala 194	A	A	-0.07	-0.29	0.30	0.61
Asp 195	A	T	.	.	-0.88	-0.50	0.70	0.45
Ala 196	A	T	.	.	-0.72	-0.20	.	.	F	.	0.85	0.53
Asp 197	A	T	.	.	-1.02	-0.10	.	.	F	.	0.85	0.46
Gly 198	A	T	.	.	-0.99	0.01	0.10	0.27
Leu 199	A	.	.	B	-0.71	0.66	*	.	.	.	-0.60	0.20
Phe 200	A	.	.	B	-1.02	0.64	*	.	.	.	-0.60	0.17
Met 201	A	.	.	B	-1.02	1.13	*	.	.	.	-0.60	0.25
Val 202	A	.	.	B	-1.88	1.20	-0.60	0.31
Thr 203	A	.	.	B	-2.42	1.16	-0.60	0.26
Thr 204	A	.	.	B	-2.50	1.06	*	.	.	.	-0.60	0.19
Ala 205	A	.	.	B	-1.69	1.13	*	.	.	.	-0.60	0.18
Val 206	A	.	.	B	-1.09	0.49	-0.60	0.24
Ile 207	A	.	.	B	-0.19	0.00	.	.	*	.	-0.30	0.28
Ile 208	A	.	.	B	-0.12	-0.49	*	.	.	.	0.53	0.55
Asp 209	A	.	.	B	-0.67	-0.23	0.91	1.15
Asp 210	.	.	.	B	.	T	.	.	.	0.03	-0.23	1.94	1.22
Lys 211	.	.	.	B	.	T	.	.	.	0.89	-0.91	.	.	F	.	2.22	3.42
Tyr 212	.	.	.	B	.	T	.	.	.	0.92	-1.20	*	.	.	.	2.30	2.80
Val 213	.	.	.	B	.	T	.	.	.	1.51	-0.36	*	.	.	.	2.07	1.25
Arg 214	.	.	.	B	.	T	.	.	.	0.73	-0.17	*	.	.	.	1.39	0.84
Amn 215	T	T	.	.	0.43	0.40	*	.	.	.	0.66	0.29
Val 216	.	.	B	.	.	T	.	.	.	-0.47	0.03	*	.	.	.	0.33	0.52
Ser 217	T	T	.	.	-0.22	0.03	*	.	.	.	0.50	0.20
Cys 218	T	T	.	.	0.63	0.43	*	.	.	.	0.20	0.20
Ser 219	T	T	.	.	0.21	0.43	*	.	.	.	0.20	0.42
Val 220	T	T	.	.	-0.60	0.27	*	.	.	.	0.50	0.46
Amn 221	T	T	.	.	-0.86	0.57	*	.	F	.	0.35	0.70
Amn 222	T	T	C	.	-0.80	0.59	.	.	F	.	0.15	0.43
Thr 223	.	A	.	B	.	.	.	C	.	0.07	0.73	.	.	F	.	-0.25	0.58
Leu 224	.	A	.	B	.	.	.	C	.	0.37	0.49	.	.	F	.	-0.25	0.62
Leu 225	A	A	.	B	1.27	0.09	.	.	F	.	-0.15	0.67
Gly 226	A	A	.	B	1.27	-0.31	.	.	F	.	0.45	0.91
Gln 227	A	A	0.96	-0.80	.	.	F	.	0.90	1.94
Glu 228	A	A	0.41	-1.00	.	.	F	.	0.90	3.40
Lys 229	A	A	.	B	0.33	-1.04	.	.	F	.	0.90	2.55
Glu 230	A	A	.	B	0.44	-0.79	.	.	F	.	0.90	1.03
Thr 231	A	A	.	B	-0.10	-0.40	.	.	F	.	0.45	0.52
Val 232	A	A	.	B	-0.31	0.29	-0.30	0.18
Ile 233	A	A	.	B	-0.31	0.71	-0.60	0.16
Phe 234	A	.	.	B	-0.66	0.71	*	.	.	.	-0.60	0.19
Ile 235	A	T	.	.	.	-1.36	0.61	*	.	.	.	-0.20	0.35
Pro 236	A	T	.	.	.	-1.64	0.74	*	.	F	.	-0.05	0.43
Glu 237	T	T	.	.	-1.00	0.69	.	.	F	.	0.35	0.49
Ser 238	T	T	.	.	-0.41	0.33	.	.	F	.	0.80	1.09
Phe 239	C	.	-0.30	0.03	0.10	0.94
Met 240	T	C	.	0.29	0.10	*	.	.	.	0.30	0.55
Pro 241	T	C	.	0.29	0.49	*	.	F	.	0.15	0.55
Ser 242	T	C	.	0.00	0.53	*	.	F	.	0.35	0.98
Ala 243	T	C	.	-0.30	0.66	.	.	F	.	0.30	1.05
Ser 244	T	C	.	-0.46	0.66	.	.	F	.	0.15	0.67
Pro 245	A	T	.	.	-0.44	0.87	-0.20	0.37
Trp 246	A	T	.	.	-1.04	0.99	-0.20	0.37
Met 247	A	T	.	.	-1.33	1.17	-0.20	0.23
Val 248	A	.	.	B	-1.60	1.29	-0.60	0.15
Ala 249	A	.	.	B	-2.19	1.50	-0.60	0.11
Leu 250	A	.	.	B	-2.79	1.27	-0.60	0.07
Ala 251	A	.	.	B	-2.81	1.34	-0.60	0.08
Val 252	A	.	.	B	-2.80	1.19	-0.60	0.12
Ile 253	A	.	.	B	-2.24	1.19	-0.60	0.14
Leu 254	A	.	.	B	-1.87	0.89	-0.60	0.19
Thr 255	A	.	.	B	-1.34	0.81	-0.60	0.40
Ala 256	A	.	.	B	-1.36	1.09	-0.60	0.60
Ser 257	T	C	.	.	-1.16	1.01	.	.	F	.	0.15	0.72
Pro 258	T	T	.	.	-0.77	0.97	0.20	0.37

10

20

30

(表6 続表④)

Trp	259	T	T	-0.56	0.87	.	.	0.20	0.49
Met	260	A	-0.56	0.59	.	.	-0.20	0.36
Val	261	A	.	.	B	.	.	-0.82	1.09	.	.	-0.60	0.34
Ser	262	A	.	.	B	.	.	-1.43	1.30	.	.	-0.60	0.24
Met	263	A	.	.	B	.	.	-2.02	1.07	.	.	-0.60	0.24
Thr	264	A	.	.	B	.	.	-2.31	1.14	.	.	-0.60	0.17
Val	265	A	.	.	B	.	.	-2.57	1.00	.	.	-0.60	0.19
Ile	266	A	.	.	B	.	.	-2.41	1.26	.	.	-0.60	0.14
Leu	267	A	.	.	B	.	.	-3.00	1.43	.	.	-0.60	0.11
Ala	268	A	.	.	B	.	.	-2.29	1.63	.	.	-0.60	0.06
Val	269	A	.	.	B	.	.	-3.68	1.67	.	.	-0.60	0.06
Phe	270	A	.	.	B	.	.	-3.42	1.77	.	.	-0.60	0.06
Ile	271	A	.	.	B	.	.	-3.12	1.70	.	.	-0.60	0.06
Ile	272	A	.	.	B	.	.	-3.17	1.70	.	.	-0.60	0.08
Phe	273	A	.	.	B	.	.	-2.88	1.70	.	.	-0.60	0.07
Met	274	A	.	.	B	.	.	-2.91	1.30	.	.	-0.60	0.14
Ala	275	A	.	.	B	.	.	-2.88	1.30	.	.	-0.60	0.14
Val	276	A	.	.	B	.	.	-2.66	1.19	.	.	-0.60	0.09
Ser	277	A	.	.	B	.	.	-2.66	0.97	.	.	-0.60	0.06
Ile	278	A	.	.	B	.	.	-1.91	1.04	.	.	-0.60	0.05
Cys	279	A	.	.	B	.	.	-1.27	0.84	*	.	-0.60	0.03
Cys	280	A	.	.	B	.	.	-1.48	-0.10	.	.	-0.60	0.09
Ile	281	A	.	.	B	.	.	-0.62	0.20	.	.	-0.30	0.13
Lys	282	A	.	.	B	.	.	-0.22	-0.09	.	.	0.30	0.49
Lys	283	A	A	0.67	-0.66	.	F	0.90	1.80
Leu	284	A	A	1.38	-1.23	.	F	0.90	4.44
Gln	285	A	A	2.09	-1.91	.	F	0.90	4.44
Arg	286	A	A	2.09	-1.91	.	F	0.90	4.44
Glu	287	A	A	1.23	-1.23	.	F	0.90	3.78
Lys	288	A	A	0.89	-1.23	.	F	0.90	1.80
Lys	289	A	A	1.36	-1.24	.	F	0.90	1.23
Ile	290	A	A	1.36	-0.81	.	F	0.75	0.70
Leu	291	A	1.28	-0.81	.	F	1.15	0.61
Ser	292	A	.	.	.	T	.	1.33	-0.81	.	F	1.15	0.62
Gly	293	A	.	.	.	T	.	0.43	-0.81	*	F	1.30	1.74
Glu	294	A	.	.	.	T	.	0.39	-0.86	.	F	1.30	1.56
Lys	295	A	A	1.28	-1.54	*	F	0.90	2.02
Lys	296	A	A	2.09	-1.53	*	F	0.90	3.53
Val	297	A	A	2.39	-1.96	*	F	0.90	3.53
Glu	298	A	A	2.78	-1.96	*	F	0.90	3.06
Gln	299	A	A	2.78	-1.96	*	F	0.90	3.06
Glu	300	A	A	1.84	-1.96	*	F	0.90	7.14
Glu	301	A	A	1.23	-1.92	*	F	0.90	3.89
Lys	302	A	A	2.07	-1.41	.	F	0.90	1.69
Glu	303	A	A	2.07	-1.43	.	F	0.75	1.69
Ile	304	A	A	1.26	-1.01	.	.	0.75	1.69
Ala	305	A	A	1.26	-0.33	.	.	0.30	0.70
Gln	306	A	A	1.26	0.07	.	.	-0.30	0.70
Gln	307	A	A	1.23	0.07	*	F	0.00	1.72
Leu	308	A	A	0.40	-0.61	*	F	0.90	2.95
Gln	309	A	A	1.40	-0.43	*	F	0.60	1.40
Glu	310	A	A	1.70	-0.83	*	F	0.90	1.59
Glu	311	A	A	1.81	-0.31	*	F	0.60	2.02
Leu	312	A	A	1.92	-1.00	*	.	0.75	2.29
Arg	313	A	A	2.42	-1.40	*	.	0.75	2.59
Trp	314	A	A	1.72	-0.91	*	.	0.75	2.16
Arg	315	A	A	0.91	-0.13	*	.	0.45	2.26
Arg	316	A	A	0.88	-0.13	*	.	0.30	0.95
Thr	317	A	A	1.10	0.37	*	.	-0.15	1.23
Phe	318	A	A	0.40	-0.04	*	.	0.30	0.64
Leu	319	A	A	0.69	0.46	.	.	-0.60	0.33
His	320	C	-0.28	0.46	.	.	-0.40	0.38
Ala	321	A	A	-1.24	0.61	*	.	-0.60	0.33
Ala	322	A	A	-1.74	0.47	.	.	-0.60	0.29
Asp	323	A	A	-1.04	0.47	.	.	-0.60	0.18
Val	324	A	A	-0.44	-0.03	*	.	0.30	0.29
Val	325	A	A	-0.41	-0.10	*	.	0.58	0.45
Leu	326	A	A	-0.13	-0.60	*	.	1.16	0.45
Asp	327	A	.	.	.	T	.	-0.13	-0.11	*	F	1.69	0.87
Pro	328	A	.	.	.	T	.	-0.17	-0.26	*	F	2.13	1.19
Asp	329	T	.	0.48	-0.40	*	F	2.80	1.96
Thr	330	A	.	.	.	T	.	1.33	-0.66	*	F	2.42	1.82
Ala	331	A	A	1.33	-0.66	*	F	1.74	2.03

10

20

30

(表6続キ⑤)

His 332	A	A	0.63	-0.40	.	F	1.16	1.00
Pro 333	A	A	0.03	0.39	.	F	0.13	0.60
Glu 334	A	A	-0.27	0.59	.	F	-0.60	0.49
Leu 335	A	A	0.94	0.47	*	.	-0.50	0.48
Phe 336	A	A	0.63	-0.03	*	.	0.30	0.54
Leu 337	A	A	0.78	-0.46	*	.	0.30	0.52
Ser 338	A	A	1.10	-0.46	*	F	0.94	1.24
Glu 339	A	A	0.80	-1.14	*	F	1.58	2.81
Asp 340	A	0.76	-1.54	*	F	1.32	4.57
Arg 341	A	T	.	1.37	-1.39	*	F	2.66	2.53
Arg 342	T	.	2.49	-1.97	*	F	3.40	2.86
Ser 343	T	.	2.44	-1.97	*	F	3.06	3.36
Val 344	T	.	1.33	-1.34	*	F	2.86	1.70
Arg 345	T	.	1.99	-1.11	*	F	2.86	1.34
Arg 346	T	.	1.99	-0.36	*	F	2.56	1.57
Gly 347	T	C	1.88	-0.74	*	F	2.86	4.23
Pro 348	T	T	2.29	-0.99	*	F	3.40	3.65
Tyr 349	T	T	2.29	-0.99	*	F	3.06	3.65
Arg 350	T	T	1.97	-0.34	*	F	1.42	2.74
Gln 351	.	B	B	1.86	-0.34	*	F	1.28	1.74
Arg 352	.	B	B	2.20	-0.77	*	F	1.24	2.92
Val 353	.	.	B	B	.	.	.	2.20	-1.13	*	F	1.10	2.40
Pro 354	.	.	B	B	.	C	.	2.44	-0.70	*	F	1.44	2.14
Asp 355	C	C	2.44	-1.10	*	F	1.98	1.89
Asn 356	T	C	1.74	-1.10	*	F	2.52	4.99
Pro 357	T	C	1.63	-0.96	*	F	2.86	2.80
Glu 358	T	T	2.19	-1.39	*	F	3.40	2.80
Arg 359	T	T	2.40	-1.00	*	F	3.06	2.33
Phe 360	T	T	2.19	-1.00	*	F	2.72	2.61
Asp 361	T	T	0.88	-0.43	*	F	2.38	2.33
Ser 362	T	T	0.07	0.21	*	F	1.59	0.64
Gln 363	T	C	-0.29	0.11	*	F	0.45	0.58
Pro 364	.	B	T	0.02	0.54	*	.	-0.20	0.20
Cys 365	.	B	T	0.02	1.07	*	.	-0.40	0.12
Val 366	.	B	.	.	.	C	.	0.02	0.67	*	.	-0.40	0.14
Leu 367	.	B	.	.	.	C	.	-0.68	0.63	*	.	-0.20	0.34
Gly 368	.	B	T	-1.06	0.84	*	.	-0.40	0.40
Trp 369	A	-0.49	0.70	*	.	-0.40	0.48
Glu 370	A	-0.18	0.40	*	.	-0.40	0.66
Ser 371	A	0.68	0.60	*	.	-0.12	0.62
Phe 372	A	0.99	-0.51	*	F	1.71	0.71
Ala 373	A	T	.	1.03	-0.01	*	F	2.09	0.72
Ser 374	T	T	1.14	0.36	*	F	1.92	1.31
Gly 375	T	T	1.10	-0.42	*	F	2.80	2.54
Lys 376	T	T	1.80	-0.50	*	F	2.12	1.87
His 377	T	C	1.69	-0.49	*	F	2.04	3.05
Tyr 378	T	C	1.68	-0.13	*	F	1.96	1.32
Arg 379	T	T	2.02	0.36	*	F	1.08	1.40
Gly 380	T	T	1.69	-0.14	*	F	1.40	1.55
Asn 381	T	T	1.38	0.01	*	F	0.49	0.83
Phe 382	T	C	1.41	0.46	*	F	0.43	0.83
Thr 383	T	C	0.99	0.44	*	F	0.87	0.80
Glu 384	T	C	1.44	0.33	*	F	1.26	1.33
Trp 385	T	C	0.86	-0.26	*	F	2.40	1.81
Gly 386	T	C	1.31	-0.24	*	F	2.16	1.05
Pro 387	T	C	1.73	0.51	*	F	1.02	1.57
Thr 388	T	C	0.84	-0.40	*	F	1.68	3.12
Arg 389	T	C	1.13	-0.14	*	.	1.09	1.41
Ala 390	.	B	T	1.18	-0.17	*	.	0.85	1.57
Tyr 391	.	B	T	0.58	-0.27	*	.	0.85	1.07
Arg 392	.	B	T	0.89	0.41	.	.	-0.20	0.88
Ile 393	.	B	T	0.48	-0.09	.	.	0.70	0.93
Asn 394	.	B	T	1.07	-0.46	*	F	1.05	0.64
Ser 395	T	.	1.10	-0.96	*	F	1.54	1.58
Ser 396	T	.	0.32	-0.31	*	F	1.88	1.52
Leu 396	T	.	1.32	-0.14	*	F	2.07	0.61
Asp 397	T	.	1.37	-0.53	*	F	2.86	1.44
Ser 398	T	.	1.46	-1.21	*	F	3.40	1.73
Gln 399	T	C	1.98	-0.79	*	F	1.06	1.99
Pro 400	T	T	1.77	-0.26	*	F	2.42	1.21
Cys 401	T	T	1.77	-0.23	*	F	1.88	1.21
Arg 402	T	T	1.77	-0.27	*	F	1.54	3.03
Lys 403	T
Pro 404	T

10

20

30

(表6系完⑥)

Trp 405	T	C	1.98	-0.44	.	.	F	1.20	2.67
Pro 406	T	C	2.43	-0.04	.	.	F	1.20	2.32
Ser 407	T	T	2.11	0.39	.	.	F	1.08	2.32
Gln 408	T	T	2.03	0.39	.	.	F	1.36	3.41
Gln 409	C	2.24	-0.03	.	.	F	1.84	3.00
Pro 410	C	2.32	-0.06	.	.	F	2.32	3.60
Pro 411	T	T	2.32	-0.01	.	.	F	2.80	3.21
His 412	C	2.62	0.01	.	.	F	1.72	2.87
Asn 413	C	2.62	0.01	.	.	F	1.44	2.98
Pro 414	C	2.73	-0.41	.	.	F	1.76	3.24
Pro 415	C	2.91	-0.84	.	.	F	1.78	4.81
Asn 416	T	T	2.93	-0.84	.	.	F	1.70	4.07
Glu 417	A	T	1.76	-0.74	.	.	F	1.30	2.66
Arg 418	A	A	0.94	-0.49	.	.	F	0.60	1.42
His 419	A	A	0.94	-0.23	.	.	.	0.30	0.73
Ala 420	A	A	0.86	-0.20	.	.	.	0.30	0.48
Leu 421	A	A	0.51	0.15	.	.	.	-0.30	0.44
Leu 422	T	C	0.48	0.61	.	.	.	0.00	0.32
Pro 423	T	C	-0.49	0.61	*	.	F	0.15	0.44
Ser 424	T	T	-0.34	0.76	.	*	F	0.35	0.39
Gly 425	T	C	0.24	0.07	.	*	F	0.45	0.93
His 426	A	A	1.02	-0.61	.	*	F	0.90	1.04
Val 427	A	A	1.02	-0.54	.	*	.	0.75	1.06
Arg 428	A	A	1.02	-0.24	.	*	.	0.30	0.88
Gln 429	A	A	0.73	-0.24	*	.	.	0.45	1.00
His 430	A	A	0.48	-0.24	*	.	.	0.45	1.36
Leu 431	A	A	C	-0.18	-0.39	.	*	.	0.30	0.70
Pro 432	A	A	-0.02	0.40	.	*	.	-0.60	0.35
Ala 433	A	A	-0.44	1.19	.	*	.	-0.60	0.22
Ala 434	A	A	-0.66	1.17	.	.	.	-0.60	0.38
Phe 435	A	A	.	.	.	T	.	-0.93	0.91	.	.	.	-0.20	0.39
Phe 436	A	A	.	.	.	T	.	-0.33	0.97	.	.	.	-0.20	0.56
Thr 437	T	C	-0.71	0.90	.	.	F	0.25	0.86
Pro 438	T	C	-0.93	0.90	.	.	F	0.15	1.00
Thr 439	T	C	-1.01	0.80	.	.	F	0.25	0.95
Pro 440	T	T	-0.52	0.89	.	.	F	0.35	0.35
Ala 441	T	.	-0.12	0.53	.	.	.	0.00	0.35
Leu 442	C	-0.51	0.49	.	.	.	-0.20	0.33
Cys 443	.	B	-1.11	0.79	.	.	.	-0.20	0.18
Pro 444	A	T	.	-1.62	1.04	.	.	.	-0.20	0.15
Ser 445	A	T	.	-2.21	1.23	.	.	.	-0.20	0.15
Phe 446	A	T	.	-1.93	1.23	.	.	.	-0.20	0.23
Leu 447	A	.	B	-1.42	1.14	.	.	.	-0.60	0.22
Leu 448	A	.	B	-1.57	1.10	.	.	.	-0.60	0.22
Leu 449	A	.	B	-1.44	1.40	.	.	.	-0.60	0.21
Thr 450	A	.	B	-2.16	1.53	.	.	.	-0.60	0.26
Ser 451	A	.	B	-1.84	1.53	.	.	.	-0.60	0.26
Leu 452	A	.	B	-1.42	1.27	.	.	.	-0.60	0.41
Trp 453	A	.	B	-1.00	1.01	.	.	.	-0.60	0.36
Leu 454	A	.	B	-0.56	0.96	.	.	.	-0.60	0.34

10

20

30

【 0 9 5 6 】

【 表 7 】

表 7

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Met 1	A	.	.	B	.	.	.	-0.29	-0.41	*	.	.	0.30	0.88
Arg 2	.	.	B	B	.	.	.	-0.19	-0.20	*	.	.	0.30	0.31
Gln 3	A	.	.	B	.	.	.	-0.04	0.29	.	*	.	-0.30	0.42
Ile 4	.	.	B	B	.	.	.	0.46	0.61	.	*	.	-0.60	0.67
Val 5	.	.	B	B	.	.	.	-0.01	0.00	.	*	.	0.30	0.67
Trp 6	.	.	B	B	.	.	.	0.28	0.64	.	*	.	-0.60	0.29
Tyr 7	.	.	B	B	.	.	.	0.17	1.13	.	.	.	-0.29	0.59
Arg 8	.	.	B	B	.	.	.	-0.18	0.44	*	.	.	0.17	1.32
Val 9	.	.	B	B	.	.	.	0.37	0.23	.	.	.	0.78	1.25
Thr 10	T	T	.	0.91	-0.26	*	.	F	2.49	0.79
Asp 11	T	T	.	0.31	-0.53	*	.	F	3.10	0.58
Gly 12	T	T	.	0.60	0.16	.	*	F	1.89	0.55
Gly 13	T	T	.	0.49	-0.49	*	.	F	2.18	0.76
Thr 14	.	.	.	B	.	.	C	1.38	-0.57	*	.	F	1.57	0.79
Ile 15	.	.	B	B	.	.	.	0.81	-0.57	*	.	F	1.21	1.59
Lys 16	.	.	B	B	.	.	.	0.11	-0.31	*	.	F	0.60	1.13

(表7系統①)

Gln 17	.	.	B	B	.	.	.	0.14	0.04	*	*	F	-0.15	0.68
Lys 18	.	.	B	B	.	.	.	-0.21	0.04	*	*	F	0.00	1.39
Ile 19	.	.	B	B	.	.	.	0.10	0.14	*	*	.	-0.30	0.60
Phe 20	.	.	B	B	.	.	.	0.40	0.14	*	*	.	-0.30	0.58
Thr 21	.	.	B	B	.	.	.	-0.24	0.24	*	*	.	-0.30	0.29
Phe 22	.	.	B	B	.	.	.	-0.94	0.88	*	*	.	-0.60	0.42
Asp 23	.	.	B	B	.	.	.	-1.29	0.96	*	*	.	-0.40	0.38
Ala 24	A	-0.71	0.56	*	*	.	-0.40	0.64
Met 25	A	-0.01	0.56	*	*	.	-0.10	0.62
Phe 26	A	0.05	0.17	*	*	.	-0.20	0.96
Ser 27	A	T	.	0.46	0.93	*	*	.	-0.05	1.30
Thr 28	A	T	.	0.42	0.81	*	*	.	0.15	2.04
Asn 29	T	C	0.41	0.70	*	*	.	0.15	1.50
Tyr 30	T	C	1.01	0.53	*	*	.	0.35	1.81
Ser 31	C	1.71	0.14	*	*	.	0.05	1.81
His 32	A	1.77	0.06	*	*	.	-0.25	1.81
Met 33	A	2.19	0.41	*	*	.	0.65	2.64
Glu 34	A	2.23	-0.34	*	*	.	1.15	3.88
Asn 35	T	.	2.59	-0.73	*	*	F	1.30	7.67
Tyr 36	A	T	.	2.89	-1.22	*	*	F	1.30	7.67
Arg 37	A	T	.	2.92	-1.84	*	*	F	1.10	4.19
Lys 38	A	T	.	2.71	-1.84	*	*	F	1.10	4.19
Arg 39	A	1.86	-1.56	*	*	F	1.10	4.19
Glu 40	A	1.61	-1.67	*	*	F	1.10	4.19
Asp 41	.	.	B	B	.	.	.	1.86	-0.91	*	*	F	0.90	1.25
Leu 42	.	.	B	B	.	.	.	1.44	-0.51	*	*	.	0.75	1.10
Val 43	.	.	B	B	.	.	.	1.09	-0.13	*	*	.	0.30	0.85
Tyr 44	.	.	B	B	.	.	.	0.12	0.36	*	*	.	-0.30	0.74
Gln 45	.	.	B	B	.	.	.	0.23	1.00	*	*	F	-0.45	0.66
Ser 46	.	.	B	B	.	.	.	-0.58	0.31	*	*	F	0.80	1.75
Thr 47	.	.	B	B	.	.	.	0.02	0.36	*	*	F	-0.15	0.92
Val 48	.	.	B	B	.	.	.	0.88	0.03	*	*	F	-0.15	0.92
Arg 49	.	.	B	B	.	.	.	0.27	-0.37	*	*	.	0.45	1.06
Leu 50	.	.	B	B	.	.	.	0.38	-0.11	*	*	.	0.30	0.95
Pro 51	.	.	B	B	.	.	.	-0.21	-0.60	*	*	.	0.75	1.44
Glu 52	.	.	B	B	.	.	.	-0.20	-0.56	*	*	.	0.60	0.92
Val 53	.	.	B	B	.	.	.	0.66	-0.17	*	*	.	0.61	0.84
Arg 54	.	.	B	B	.	.	.	0.54	-0.86	*	*	.	1.22	0.91
Ile 55	.	.	B	B	.	.	.	1.01	-0.89	*	*	F	1.68	0.84
Ser 56	T	T	.	1.01	-0.46	*	*	F	2.64	1.12
Asp 57	T	T	.	0.77	-0.67	*	*	F	3.10	0.88
Asn 58	T	C	.	1.62	0.09	*	*	F	1.84	1.98
Gly 59	T	C	.	0.84	-0.60	*	*	F	2.43	2.56
Pro 60	T	.	.	1.70	-0.41	*	*	F	1.67	0.82
Tyr 61	T	.	.	1.14	0.09	*	*	.	0.61	0.69
Glu 62	.	.	B	B	.	.	.	0.80	0.33	*	*	.	-0.30	0.52
Cys 63	.	.	B	B	.	.	.	-0.09	0.33	*	*	.	-0.30	0.33
His 64	.	.	B	B	.	.	.	0.01	0.59	*	*	.	-0.60	0.15
Val 65	.	.	B	B	.	.	.	0.22	0.59	*	*	.	-0.60	0.13
Gly 66	.	.	B	B	.	.	.	0.58	0.59	*	*	.	-0.60	0.42
Ile 67	.	.	B	B	.	.	.	-0.01	0.01	*	*	.	-0.30	0.60
Tyr 68	A	.	B	B	.	.	.	0.34	0.01	*	*	.	-0.30	0.82
Asp 69	A	0.49	-0.14	*	*	F	0.60	1.20
Arg 70	A	1.34	-0.57	*	*	F	0.90	3.35
Ala 71	A	1.73	-1.26	*	*	F	0.90	3.71
Thr 72	A	1.77	-2.01	*	*	F	0.90	4.44
Arg 73	A	1.16	-1.37	*	*	F	0.90	1.68
Glu 74	A	0.34	-0.73	*	*	F	0.90	1.24
Lys 75	.	.	A	B	B	.	.	-0.36	-0.54	*	*	F	0.75	0.71
Val 76	.	.	A	B	B	.	.	-0.07	-0.53	*	*	.	0.60	0.36
Val 77	.	.	A	B	B	.	.	-0.10	-0.14	*	*	.	0.30	0.28
Leu 78	.	.	A	B	B	.	.	-0.21	0.29	*	*	.	-0.30	0.14
Ala 79	.	.	B	.	.	T	.	-1.10	0.69	*	*	.	-0.20	0.30
Ser 80	A	T	.	-1.84	0.73	*	*	F	-0.05	0.29
Gly 81	A	T	.	-1.80	0.87	*	*	F	-0.05	0.30
Asn 82	A	T	.	-0.94	0.87	*	*	F	-0.28	0.24
Ile 83	.	.	B	B	.	.	.	-0.99	0.77	*	*	.	-0.60	0.29
Phe 84	.	.	B	B	.	.	.	-1.00	1.03	*	*	.	-0.60	0.23
Leu 85	.	.	B	B	.	.	.	-1.29	1.21	*	*	.	-0.60	0.14
Asn 86	.	.	B	B	.	.	.	-1.16	1.31	*	*	.	-0.60	0.20
Val 87	.	.	B	B	.	.	.	-1.37	1.06	*	*	.	-0.60	0.35
Met 88	.	.	B	B	.	.	.	-0.79	0.70	*	*	.	-0.60	0.65
Ala 89	.	.	B	.	.	C	.	-0.39	0.90	*	*	.	-0.40	0.93

10

20

30

(表7 続き②)

Pro 90	T	C	-0.47 0.49	*	F	0.30 1.06
Pro 91	T	C	-0.47 0.53	*	F	0.15 0.75
Thr 92	A	T	.	-0.47 -0.09	.	F	1.00 1.29
Ser 93	A	T	.	.	.	F	0.25 0.62
Ile 94	.	A	B	B	.	.	.	-0.72 0.06	.	.	-0.30 0.30
Glu 95	.	A	B	B	.	.	.	-0.72 0.27	.	.	-0.30 0.21
Val 96	.	A	B	B	.	.	.	-0.89 0.36	.	.	-0.30 0.16
Val 97	.	A	B	B	.	.	.	-0.89 -0.03	.	.	0.30 0.37
Ala 98	.	A	B	B	.	.	.	-0.80 -0.23	.	.	0.30 0.31
Ala 99	.	A	B	-0.50 0.30	.	.	-0.30 0.65
Asp 100	A	A	-0.71 0.06	.	F	-0.15 0.88
Thr 101	.	A	C	-0.96 -0.16	.	F	0.80 1.35
Pro 102	C	0.00 0.13	*	F	0.40 1.16
Ala 103	C	0.70 0.01	*	F	0.25 0.93
Pro 104	C	1.04 0.01	*	F	0.40 1.26
Phe 105	1.04 0.29	.	.	0.05 1.28
Ser 106	.	B	0.77 0.26	.	*	0.34 2.19
Arg 107	.	B	.	.	.	T	.	0.98 0.26	.	.	0.43 1.43
Tyr 108	.	B	.	.	.	T	.	1.57 0.23	.	.	0.52 2.86
Glu 109	T	T	1.08 -0.16	*	.	1.61 3.43
Ala 110	T	.	1.47 0.24	*	.	0.90 1.52
Glu 111	.	.	B	T	.	.	.	0.96 0.73	*	*	0.31 2.40
Asn 112	.	.	B	T	.	.	.	-0.01 0.46	*	*	0.07 0.66
Phe 113	.	B	B	-0.43 0.50	.	.	-0.42 0.49
Thr 114	.	B	B	-1.23 0.97	.	.	-0.51 0.15
Leu 115	.	B	B	-1.59 1.26	.	.	-0.60 0.07
Val 116	.	B	B	-1.89 1.50	.	.	-0.60 0.06
Cys 117	.	B	B	-2.23 1.10	.	.	-0.60 0.05
Ile 118	.	B	B	-1.88 1.04	.	.	-0.39 0.06
Val 119	.	B	.	.	.	T	.	-1.52 0.79	.	.	0.22 0.08
Ser 120	T	.	-0.92 0.14	*	F	1.28 0.31
Gly 121	T	.	-0.66 0.00	.	F	2.09 0.59
Gly 122	T	.	-0.20 -0.19	*	F	2.10 0.94
Lys 123	C	0.09 -0.40	*	F	1.84 1.08
Pro 124	C	0.08 -0.17	*	F	1.63 1.06
Ala 125	.	B	0.14 0.04	.	F	0.47 0.81
Pro 126	.	B	-0.21 0.37	.	*	0.11 0.64
Met 127	A	B	0.18 1.15	.	.	-0.60 0.36
Val 128	A	B	0.24 0.73	.	.	-0.60 0.71
Tyr 129	A	B	0.46 0.23	.	.	0.04 0.89
Phe 130	A	B	0.70 -0.20	*	.	1.13 1.51
Lys 131	.	B	.	.	.	T	.	0.91 -0.39	*	.	1.87 2.01
Arg 132	T	.	1.30 -1.03	*	F	3.06 2.23
Asp 133	T	.	1.27 -1.36	*	F	3.40 3.97
Gly 134	T	.	1.51 -1.46	*	F	2.85 1.39
Glu 135	C	1.62 -1.46	*	F	2.32 1.19
Pro 136	C	0.72 -0.96	*	F	1.83 0.72
Ile 137	.	B	0.40 -0.31	*	F	0.99 0.54
Asp 138	.	B	-0.41 -0.31	.	.	0.50 0.48
Ala 139	.	B	-0.37 0.37	.	.	-0.10 0.26
Val 140	.	B	-0.37 0.33	.	.	-0.10 0.49
Pro 141	.	B	-0.37 -0.36	.	.	0.50 0.51
Leu 142	.	B	0.31 0.07	.	.	0.14 0.78
Ser 143	.	B	-0.28 0.06	.	F	1.28 1.62
Glu 144	.	B	-0.28 -0.14	*	F	1.52 1.06
Pro 145	C	0.28 -0.07	.	F	1.96 1.30
Pro 146	T	.	0.19 -0.17	.	F	2.40 1.10
Ala 147	T	.	0.66 -0.37	.	F	2.18 1.00
Ala 148	C	0.74 0.06	.	F	0.97 0.64
Ser 149	T	C	-0.07 0.06	.	F	0.93 0.64
Ser 150	.	B	.	.	.	T	.	0.14 0.31	.	F	0.49 0.52
Gly 151	.	B	.	.	.	T	.	0.36 0.21	.	F	0.51 0.90
Pro 152	T	C	0.64 -0.29	.	F	1.72 1.11
Leu 153	C	1.34 -0.29	.	F	1.78 1.12
Glu 154	.	B	1.43 -0.67	*	F	2.14 2.22
Asp 155	.	B	.	.	.	T	.	1.03 -0.67	*	F	2.60 2.22
Ser 156	.	B	.	.	.	T	.	1.49 -0.31	*	F	2.04 2.33
Arg 157	.	B	.	.	.	T	.	1.40 -1.00	*	F	2.08 2.64
Pro 158	.	B	.	.	.	T	.	1.40 -1.01	*	F	1.82 2.11
Phe 159	A	T	.	0.59 -0.33	*	F	1.24 1.30
Arg 160	A	B	0.56 -0.03	*	F	0.45 0.55
Ser 161	A	B	0.97 0.47	*	.	-0.60 0.48
Leu 162	A	B	0.86 0.04	*	.	-0.15 1.09

10

20

30

(表7表先キ②)

Leu 163	.	A	B	.	.	.	0.26	-0.74 *	*	.	0.60	0.93
His 164	A	A	0.96	-0.06 *	.	.	0.30	0.57
Arg 165	A	A	0.84	-0.44 *	.	F	0.60	1.16
Asp 166	A	A	0.83	-1.13 *	.	F	0.90	2.35
Leu 167	A	A	1.69	-1.33 *	.	F	0.90	2.49
Asp 168	A	.	.	.	T	.	1.90	-1.83 *	.	F	1.30	2.84
Asp 169	A	.	.	.	T	.	1.93	-1.21 .	.	F	1.30	1.81
Thr 170	A	.	.	.	T	.	1.87	-0.81 .	.	F	1.30	2.16
Lys 171	A	.	.	.	T	.	1.57	-1.50 .	.	F	1.30	1.79
Met 172	A	A	1.57	-1.11 .	.	F	0.90	3.04
Gln 173	A	A	1.27	-0.43 .	*	F	0.60	1.74
Lys 174	A	A	0.46	-0.53 *	*	F	0.90	1.16
Ser 175	A	A	-0.04	0.16 *	.	F	-0.15	0.97
Leu 176	.	A	B	.	.	.	-0.09	0.23 *	.	.	-0.30	0.46
Ser 177	.	A	B	.	.	.	-0.08	-0.17 .	.	.	-0.30	0.39
Leu 178	.	A	B	.	.	.	-0.08	0.33 .	.	.	-0.30	0.29
Leu 179	A	A	-0.12	-0.06 *	*	.	0.30	0.61
Asp 180	A	A	0.29	-0.34 *	*	.	0.64	0.73
Ala 181	A	A	0.76	-0.73 *	*	F	1.58	1.74
Gln 182	A	A	0.71	-0.89 *	.	F	1.92	2.09
Asn 183	.	.	.	T	T	.	1.63	-1.24 *	.	F	3.06	1.24
Arg 184	.	.	.	T	T	.	2.23	-1.24 *	*	F	3.40	2.40
Gly 185	.	.	.	T	T	.	1.99	-1.31 *	.	F	1.06	2.14
Gly 186	.	.	.	T	T	.	2.27	-0.56 *	.	F	2.72	2.09
Arg 187	.	.	.	T	C	.	2.27	-0.47 *	.	F	3.88	1.54
Pro 188	.	.	.	T	C	.	2.38	-0.47 *	.	F	1.34	2.69
Tyr 189	.	B	.	T	.	.	2.06	-0.90 *	.	F	1.64	5.33
Thr 190	.	B	.	T	.	.	2.10	-0.90 *	.	F	1.98	4.20
Glu 191	.	B	2.56	-0.91 *	.	F	2.12	3.64
Arg 192	.	B	2.10	-0.94 *	.	F	3.66	4.55
Pro 193	.	B	.	T	T	.	1.50	-1.27 *	.	F	3.40	3.22
Ser 194	.	.	.	T	T	.	1.43	-1.07 *	.	F	3.06	1.49
Arg 195	.	.	.	T	T	.	1.53	-0.99 *	.	F	2.92	1.10
Gly 196	.	.	.	T	.	.	1.53	-0.16 *	.	F	2.78	1.10
Leu 197	C	.	1.21	-0.59 *	.	F	2.24	1.37
Thr 198	C	.	1.42	-0.54 *	*	F	2.10	1.08
Pro 199	C	.	0.83	-0.14 *	.	F	2.00	1.75
Asp 200	.	.	.	T	C	.	-0.09	0.11 .	*	F	1.40	1.49
Pro 201	.	B	.	T	.	.	-0.56	0.11 .	*	F	0.85	0.85
Asn 202	.	B	.	T	.	.	0.26	0.31 .	*	.	0.50	0.45
Ile 203	.	B	.	T	.	.	0.36	0.29 .	*	.	0.30	0.47
Leu 204	.	B	0.26	0.71 .	*	.	-0.40	0.42
Leu 205	.	B	-0.06	0.77 .	*	.	-0.05	0.97
Gln 206	.	B	.	T	.	.	0.16	0.86 .	*	F	0.45	1.83
Pro 207	.	B	.	T	.	.	0.16	0.17 .	*	F	1.72	3.56
Thr 208	.	.	.	T	C	.	0.16	-0.11 .	.	F	1.98	1.44
Thr 209	.	.	.	T	C	.	0.76	-0.11 *	.	F	2.04	1.44
Glu 210	C	.	1.57	-0.09 *	.	F	2.60	1.73
Asn 211	C	.	1.26	-0.51 *	.	F	1.94	1.73
Ile 212	.	B	0.61	-0.51 *	.	F	1.23	0.74
Pro 213	.	B	B	.	.	.	0.07	-0.36 *	.	F	0.37	0.34
Glu 214	.	B	B	.	.	.	0.08	0.29 *	.	F	0.11	0.65
Thr 215	.	B	B	.	.	.	0.19	0.27 .	.	F	0.45	0.83
Val 216	.	B	B	.	.	.	0.19	-0.41 *	.	F	0.60	0.83
Val 217	.	B	B	.	.	.	0.38	-0.84 .	.	.	0.50	0.50
Ser 218	.	B	0.38	-0.06 *	.	.	0.80	1.04
Arg 219	.	B	0.49	-0.11 *	*	F	1.10	2.73
Glu 220	A	0.51	-0.76 *	.	F	1.00	2.14
Phe 221	A	.	.	.	T	.	0.51	-0.49 *	.	F	0.85	0.81
Pro 222	A	.	.	.	T	.	1.33	-0.23 *	.	F	0.50	0.64
Arg 223	.	.	.	T	T	.	1.33	0.27 .	.	.	0.20	0.99
Trp 224	.	.	.	T	T	.	0.63	0.66 *	.	.	-0.10	0.65
Val 225	.	.	.	T	T	.	0.63	0.37 .	.	.	0.50	0.57
His 226	.	.	B	.	C	.	1.12	-0.06 *	.	.	-0.10	0.84
Ser 227	.	.	B	.	C	.	1.02	0.37 .	*	F	1.00	1.63
Ala 228	C	.	0.67	-0.06 *	.	F	0.60	1.88
Glu 229	T	.	0.26	0.06 .	.	F	0.80	1.21
Pro 230	.	.	.	T	T	.	0.10	0.34 .	*	F	0.35	0.99
Thr 231	.	.	.	T	T	.	0.44	0.64 .	*	F	0.42	1.12
Tyr 232	A	.	.	T	.	.	0.71	0.14 .	*	.	-0.16	0.99
Phe 233	.	B	B	.	.	.	1.00	0.64 *	.	.	-0.09	0.92
Leu 234	.	B	B	.	.	.	1.11	0.60 *	.	.	0.53	1.15
Arg 235	.	B	B	.	.	.	1.01	0.11 *	.	.		

10

20

30

(表1) 表1 (4)

His	236	.	.	B	.	.	T	.	1.11	-0.16 *	.	.	1.70	1.91
Ser	237	T	.	1.06	-0.51 *	.	F	1.38	1.88
Arg	238	T	C	1.46	-0.81 *	.	F	1.82	1.45
Thr	239	T	C	2.27	-0.43 *	.	F	1.54	1.41
Pro	240	C	1.81	-0.93 *	.	F	1.74	3.01
Ser	241	T	T	1.53	-0.89 *	.	F	2.24	1.52
Ser	242	0.98	-0.40 *	.	F	2.01	1.52
Asp	243	T	C	0.87	-0.24 *	.	F	2.13	0.73
Gly	244	T	C	0.32	-0.67 *	.	F	2.70	0.94
Thr	245	.	.	B	B	.	.	.	0.64	-0.41 *	.	F	1.53	0.52
Val	246	.	.	B	B	.	.	.	0.36	-0.80 *	.	F	1.56	0.61
Glu	247	.	.	B	B	.	.	.	-0.16	-0.30 *	.	.	0.84	0.62
Val	248	.	.	B	B	.	.	.	-0.97	-0.04 *	.	.	0.57	0.36
Arg	249	.	.	B	B	.	.	.	-0.93	0.16 *	.	.	-0.10	0.40
Ala	250	.	.	B	B	.	.	.	-0.91	0.00 *	.	.	0.10	0.33
Leu	251	A	.	B	-0.37	0.91 *	.	.	-0.60	0.47
Leu	252	A	.	B	-1.18	0.76 *	.	.	-0.60	0.34
Thr	253	.	.	B	B	T	.	.	-0.32	1.44 *	.	.	-0.20	0.28
Trp	254	.	.	B	B	.	.	.	-0.64	1.34 *	.	.	-0.60	0.55
Thr	255	.	.	B	B	.	.	.	-0.06	1.09 *	.	.	-0.45	1.03
Leu	256	C	-0.23	0.80 *	.	.	0.05	1.24
Asn	257	C	0.68	1.00 *	.	.	0.60	0.82
Pro	258	T	C	0.99	0.09 *	.	F	1.35	0.95
Gln	259	T	C	1.28	0.00 *	.	F	2.40	1.86
Ile	260	T	C	1.00	-0.69 *	.	F	3.00	2.00
Asp	261	A	A	1.00	-0.59 *	.	F	2.10	1.31
Asn	262	A	A	0.30	-0.33 *	.	F	1.25	0.61
Glu	263	A	A	0.21	0.06 *	.	F	0.45	0.77
Ala	264	A	A	-0.46	-0.24 *	.	.	0.60	0.62
Leu	265	A	A	0.43	0.33 *	.	.	-0.30	0.21
Phe	266	A	A	-0.42	-0.07 *	.	.	0.30	0.21
Ser	267	A	A	-0.38	0.57 *	.	.	-0.60	0.15
Cys	268	A	A	-0.41	0.07 *	.	.	-0.30	0.37
Glu	269	A	A	-0.03	-0.11 *	.	.	0.30	0.58
Val	270	A	A	0.19	-0.47 *	.	.	0.30	0.66
Lys	271	A	A	0.08	-0.36 *	.	.	0.45	1.25
His	272	A	A	0.08	-0.24 *	.	.	0.30	0.60
Pro	273	A	A	0.14	0.14 *	.	.	-0.15	1.08
Ala	274	A	A	-0.07	0.11 *	.	.	-0.30	0.53
Leu	275	A	A	0.19	0.54 *	.	.	-0.60	0.41
Ser	276	A	A	0.14	0.66 *	.	.	-0.60	0.39
Met	277	A	A	-0.41	0.63 *	.	.	-0.60	0.66
Pro	278	A	A	-0.20	0.63 *	.	.	-0.60	0.81
Met	279	A	A	-0.47	-0.06 *	.	.	0.45	1.05
Gln	280	A	A	0.03	0.20 *	.	.	-0.30	0.79
Ala	281	A	.	B	-0.48	0.07 *	.	.	-0.30	0.74
Glu	282	A	.	B	-0.73	0.33 *	.	.	-0.30	0.61
Val	283	A	.	B	-1.11	0.36 *	.	.	-0.30	0.26
Thr	284	A	.	B	-0.72	0.46 *	.	.	-0.60	0.26
Leu	285	A	.	B	-0.68	0.19 *	.	.	-0.30	0.23
Val	286	A	.	B	-0.43	0.39 *	.	.	0.00	0.63
Ala	287	A	.	.	.	T	.	.	-0.64	0.17 *	.	.	0.70	0.43
Pro	288	A	.	.	.	T	.	.	0.26	0.11 *	.	F	1.15	0.81
Lys	289	T	T	.	-0.32	-0.57 *	.	F	2.90	2.19
Gly	290	T	C	.	-0.37	-0.53 *	.	F	1.00	1.52
Pro	291	.	.	B	B	.	.	.	-0.11	-0.39 *	.	F	1.65	0.73
Lys	292	.	.	B	B	.	.	.	0.17	-0.20 *	.	F	1.35	0.36
Ile	293	.	.	B	B	.	.	.	0.17	0.29 *	.	.	0.30	0.53
Val	294	.	.	B	B	.	.	.	-0.18	0.29 *	.	.	0.00	0.53
Met	295	.	.	B	B	.	.	.	0.28	0.24 *	.	.	-0.04	0.35
Thr	296	.	.	B	B	.	T	.	-0.10	0.24 *	.	F	0.77	0.99
Pro	297	.	.	B	B	.	T	.	-0.03	0.06 *	.	F	1.18	1.34
Ser	298	.	.	B	B	.	T	.	0.00	-0.59 *	.	F	2.34	2.66
Arg	299	.	.	B	B	.	T	.	0.51	-0.56 *	.	F	2.60	1.37
Ala	300	.	.	B	B	.	.	.	1.11	-0.61 *	.	F	1.79	0.87
Arg	301	.	.	B	B	.	.	.	1.11	-1.04 *	.	F	1.68	1.09
Val	302	.	.	B	B	.	.	.	0.47	-0.94 *	.	.	1.12	0.80
Gly	303	.	.	B	B	.	.	.	0.88	-0.30 *	.	F	0.71	0.59
Asp	304	.	.	B	B	.	.	.	-0.12	-0.80 *	.	F	0.75	0.59
Thr	305	.	.	B	B	.	.	.	-0.34	-0.11 *	.	F	0.48	0.56
Val	306	.	.	B	B	.	.	.	-1.31	-0.07 *	.	.	0.30	0.46
Arg	307	.	.	B	B	.	.	.	-0.49	0.14 *	.	.	-0.30	0.21
Ile	308	.	.	B	B	.	.	.	-0.49	0.64 *	.	.	-0.60	0.19

10

20

30

(表7続き⑤)

Leu 309	.	.	B	B	.	.	.	-1.19	0.59	*	.	.	-0.60	0.26
Val 310	.	.	B	B	.	.	.	-0.88	0.73	*	.	.	-0.60	0.11
His 311	.	.	B	.	.	T	.	-0.02	1.13	*	.	.	-0.20	0.28
Gly 312	T	C	-0.13	0.84	*	.	.	0.00	0.55
Phe 313	T	.	-0.10	0.16	.	.	.	0.45	1.29
Gln 314	T	C	0.01	0.16	*	.	F	0.69	0.70
Asn 315	0.66	0.44	.	.	F	0.43	0.62
Glu 316	0.69	0.44	.	.	F	0.82	1.10
Val 317	0.82	-0.14	.	.	F	1.96	1.10
Phe 318	T	C	0.92	-0.11	.	.	F	2.40	1.06
Pro 319	T	.	0.22	-0.10	.	.	F	2.01	0.60
Glu 320	T	C	-0.09	0.69	.	.	F	0.97	0.70
Pro 321	A	T	.	-0.39	0.53	.	.	F	0.58	1.17
Met 322	A	.	.	B	.	.	.	0.17	0.66	*	.	.	-0.36	0.80
Phe 323	A	.	.	B	.	.	.	0.98	0.71	*	.	.	-0.20	0.47
Thr 324	A	.	.	B	.	.	.	0.33	0.71	*	.	.	-0.60	0.84
Trp 325	.	.	B	B	.	.	.	-0.01	0.93	*	.	.	-0.39	0.63
Thr 326	.	.	B	B	.	.	.	-0.10	0.74	*	.	.	-0.18	0.72
Arg 327	.	.	B	B	.	.	.	0.61	0.34	*	F	.	0.48	0.67
Val 328	.	.	B	B	T	.	.	0.50	-0.14	*	F	.	1.84	1.25
Gly 329	T	C	.	0.00	-0.37	*	F	.	2.10	0.71
Ser 330	.	.	B	.	T	.	.	0.29	-0.17	*	F	.	1.69	0.30
Arg 331	.	.	B	.	T	.	.	0.26	-0.17	*	F	.	1.44	0.68
Leu 332	.	.	B	.	T	.	.	-0.16	-0.29	*	F	.	1.27	0.68
Leu 333	T	C	.	0.11	-0.43	*	F	.	1.26	0.48
Asp 334	T	C	.	0.46	-0.31	*	F	.	1.05	0.35
Gly 335	T	C	.	0.06	-0.31	*	F	.	1.05	0.73
Ser 336	A	.	.	.	T	.	.	-0.06	-0.21	*	F	.	0.85	0.77
Ala 337	A	0.41	-0.90	*	F	.	0.95	0.77
Glu 338	A	1.27	-0.47	*	F	.	0.65	0.77
Phe 339	A	.	.	.	T	.	.	1.27	-0.90	*	F	.	1.30	1.15
Asp 340	A	.	.	.	T	.	.	0.80	-1.29	*	F	.	1.30	1.97
Gly 341	A	.	.	.	T	.	.	0.24	-1.10	*	F	.	1.15	0.94
Iys 342	A	.	.	.	T	.	.	0.02	-0.46	*	F	.	0.85	0.80
Glu 343	A	A	0.02	-0.56	*	F	.	0.75	0.40
Leu 344	A	A	0.83	-0.56	*	.	.	0.60	0.69
Val 345	A	A	-0.02	-0.93	*	.	.	0.40	0.68
Leu 346	A	A	0.11	-0.34	*	.	.	0.30	0.29
Glu 347	A	A	-0.82	0.09	*	.	.	-0.20	0.55
Arg 348	A	A	-0.82	-0.10	*	.	.	0.30	0.74
Val 349	A	A	-0.82	-0.74	*	.	.	0.75	1.56
Pro 350	A	A	0.33	-0.74	*	.	.	0.60	0.74
Ala 351	A	0.80	-0.34	*	.	.	0.50	0.61
Glu 352	A	0.50	0.09	*	.	.	-0.10	0.81
Leu 353	A	.	.	.	T	.	.	-0.21	-0.17	*	F	.	0.85	0.71
Asn 354	T	T	.	0.40	0.01	*	F	.	0.65	0.69
Gly 355	T	T	.	0.72	0.27	*	F	.	0.63	0.63
Ser 356	T	T	.	0.64	0.27	*	.	.	0.65	1.48
Met 357	.	.	B	0.33	0.16	*	.	.	-0.10	0.49
Tyr 358	.	.	B	0.56	0.24	*	.	.	-0.10	0.72
Arg 359	.	.	B	0.56	0.31	*	.	.	-0.10	0.54
Cys 360	.	.	B	0.90	0.33	*	.	.	-0.10	0.95
Thr 361	.	.	B	0.99	0.11	*	.	.	-0.10	0.98
Ala 362	.	.	B	0.78	-0.21	*	F	.	0.63	0.77
Gln 363	.	.	B	0.68	0.47	*	F	.	-0.10	1.19
Asn 364	T	C	.	0.27	0.23	.	F	.	0.45	0.82
Pro 365	T	C	.	0.62	0.23	.	F	.	0.60	1.08
Leu 366	T	T	.	0.93	0.21	.	F	.	0.63	0.90
Gly 367	T	T	.	1.11	-0.19	.	F	.	1.51	0.93
Ser 368	T	T	.	1.18	-0.10	.	F	.	1.57	0.87
Thr 369	.	.	B	.	T	.	.	0.87	-0.03	*	F	.	1.78	1.44
Asp 370	.	.	B	.	T	.	.	1.13	-0.23	*	F	.	2.04	2.10
Thr 371	.	.	B	.	T	.	.	1.19	-0.66	*	F	.	2.60	3.07
His 372	.	.	B	B	.	.	.	0.64	-0.36	*	F	.	1.64	1.75
Thr 373	.	.	B	B	.	.	.	0.09	-0.16	*	F	.	1.23	0.74
Arg 374	.	.	B	B	.	.	.	-0.30	0.49	*	.	.	-0.08	0.38
Leu 375	.	.	B	B	.	.	.	-0.30	0.79	*	.	.	-0.34	0.24
Ile 376	.	.	B	B	.	.	.	0.01	0.29	.	.	.	-0.30	0.29
Val 377	.	.	B	B	.	.	.	-0.17	0.20	.	.	.	-0.30	0.24
Phe 378	.	.	B	B	.	.	.	0.14	0.63	.	.	.	-0.60	0.44
Glu 379	.	.	B	B	.	.	.	-0.86	0.34	.	F	.	0.00	1.02
Asn 380	T	C	.	-0.26	0.34	.	F	.	0.45	0.96
Pro 381	T	T	.	0.74	0.13	*	F	.	1.14	2.72

10

20

30

(表7続き⑥)

Asn 382	T	C	.	1.26	-0.66	.	F	.	2.18	1.95
Ile 383	T	C	.	1.64	-0.23	.	F	.	3.22	1.20
Pro 384	T	C	.	1.64	-0.14	*	F	.	2.56	1.12
Arg 385	T	T	.	1.64	-0.57	*	F	.	3.40	1.20
Gly 386	.	.	B	.	T	.	.	1.56	-0.97	*	F	.	2.66	2.87
Thr 387	.	.	B	.	T	.	.	1.56	-1.27	*	F	.	2.63	2.49
Glu 388	.	.	B	2.10	-1.30	*	F	.	2.40	2.04
Asp 389	T	T	.	2.01	-0.87	*	F	.	2.97	2.04
Ser 390	T	T	.	1.01	-0.91	*	F	.	2.94	1.89
Asn 391	T	T	.	1.01	-0.71	.	F	.	3.10	0.77
Gly 392	T	T	.	1.11	-0.29	.	F	.	2.49	0.45
Ser 393	T	.	.	0.80	0.14	.	F	.	1.38	0.52
Ile 394	C	.	0.48	0.24	.	F	.	0.87	0.47
Gly 395	T	C	.	0.17	0.27	.	F	.	0.76	0.47
Pro 396	T	C	.	0.28	0.34	*	F	.	0.45	0.38
Thr 397	.	.	B	.	T	.	.	-0.19	-0.04	*	F	.	0.85	0.99
Gly 398	.	.	B	.	T	.	.	-0.20	-0.04	*	F	.	0.85	0.82
Ala 399	.	.	B	B	.	.	.	-0.12	0.01	*	F	.	-0.15	0.77
Arg 400	.	.	B	B	.	.	.	-0.63	0.27	.	.	.	-0.30	0.44
Leu 401	.	.	B	B	.	.	.	-1.23	0.43	.	.	.	-0.50	0.33
Thr 402	.	.	B	B	.	.	.	-1.51	0.69	.	.	.	-0.60	0.27
Leu 403	.	.	B	B	.	.	.	-1.98	0.69	.	.	.	-0.60	0.14
Val 404	.	.	B	B	.	.	.	-1.70	1.17	.	.	.	-0.60	0.14
Leu 405	A	.	B	-2.67	1.17	.	.	.	-0.60	0.14
Ala 406	A	.	B	-1.74	1.33	.	.	.	-0.60	0.13
Leu 407	A	.	B	-3.24	1.33	.	.	.	-0.60	0.12
Thr 408	A	.	B	-2.43	1.37	.	.	.	-0.60	0.12
Val 409	A	.	B	-2.39	0.69	.	.	.	-0.60	0.20
Ile 410	A	.	B	-1.89	0.87	.	.	.	-0.60	0.10
Leu 411	A	.	B	-1.59	0.67	*	.	.	-0.60	0.20
Glu 412	A	.	B	-1.27	0.61	.	.	.	-0.60	0.35
Leu 413	A	.	B	-1.34	0.40	.	.	.	-0.30	0.64
Thr 414	A	.	B	-0.88	0.14	.	.	.	-0.30	0.99

40

【 0 9 5 7 】

【 表 8 】

50

表 8

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Met 1	A	A	-0.04	-0.17	.	.	.	0.45	1.00
Glu 2	A	A	-0.24	-0.10	.	.	.	0.30	0.79
Pro 3	A	A	-0.47	-0.03	.	.	.	0.30	0.82
Ala 4	A	A	-0.31	0.21	.	.	.	-0.30	0.82
Ala 5	A	A	-0.42	0.11	*	.	.	-0.30	0.41
Leu 6	A	A	-0.32	0.90	.	.	.	-0.60	0.23
Leu 7	A	A	-0.21	0.66	*	.	.	-0.60	0.30
His 8	A	A	-0.21	0.36	*	.	.	-0.30	0.59
Phe 9	A	A	-0.21	0.29	*	.	.	-0.30	0.90
Ser 10	A	A	0.08	0.29	*	.	.	-0.15	1.11
Arg 11	A	T	.	-0.14	-0.01	*	.	F	1.00	1.09
Pro 12	A	T	.	-0.14	0.17	*	.	F	0.40	1.04
Ala 13	A	T	.	-0.92	0.07	*	.	F	0.25	0.64
Ser 14	A	T	.	-1.03	0.37	*	.	.	0.10	0.27
Leu 15	A	.	.	B	.	.	.	-1.54	1.06	*	.	.	-0.60	0.14
Leu 16	A	.	.	B	.	.	.	-1.96	1.31	*	.	.	-0.60	0.12
Leu 17	A	.	.	B	.	.	.	-2.62	1.50	*	.	.	-0.60	0.12
Leu 18	A	.	.	B	.	.	.	-2.92	1.39	*	.	.	-0.60	0.08
Ser 19	A	.	.	B	.	.	.	-2.92	1.20	*	.	.	-0.60	0.09
Ser 20	A	.	.	B	.	.	.	-2.97	1.20	*	.	.	-0.60	0.09
Leu 21	A	.	.	B	.	.	.	-2.46	1.18	*	.	.	-0.60	0.08
Cys 22	A	.	.	B	.	.	.	-2.23	0.86	*	.	.	-0.60	0.08
Ala 23	A	.	.	B	.	.	.	-1.42	0.97	*	.	.	-0.60	0.10
Leu 24	A	.	.	B	.	.	.	-1.98	0.69	*	.	.	-0.60	0.33
Val 25	A	.	.	B	.	.	.	-1.48	0.76	*	.	.	-0.60	0.24
Ser 26	A	.	.	B	.	.	.	-1.67	0.74	*	.	.	-0.60	0.43
Ala 27	.	.	B	B	.	.	.	-1.93	0.70	*	.	.	-0.60	0.43
Gln 28	.	.	B	B	.	.	.	-1.47	0.70	*	.	.	-0.60	0.24
Val 29	.	.	B	B	.	.	.	-0.82	0.74	*	.	.	-0.60	0.23
Thr 30	.	.	B	B	.	.	.	-0.83	0.87	*	.	.	-0.60	0.21
Val 31	.	.	B	B	.	.	.	-0.24	0.76	*	.	.	-0.60	0.40
Val 32	.	.	B	B	.	.	.	-0.46	0.11	*	.	F	0.25	0.47
Gly 33	.	.	B	.	.	T

10

(表 8 続き ①)

Pro 34	T	C	-0.49	0.06	.	.	F	0.45	0.97
Thr 35	T	C	-0.99	0.10	.	.	F	0.45	0.92
Asp 36	T	C	-0.72	0.14	.	.	F	0.45	0.76
Pro 37	.	.	B	B	.	.	.	-0.47	0.21	.	.	F	-0.15	0.50
Ile 38	.	.	B	B	.	.	.	-0.98	0.40	.	.	.	-0.30	0.34
Leu 39	.	.	B	B	.	.	.	-1.11	0.56	*	.	.	-0.60	0.15
Ala 40	.	.	B	B	.	.	.	-0.80	0.99	*	.	.	-0.60	0.10
Met 41	.	.	B	B	.	.	.	-0.80	0.56	*	.	.	-0.60	0.24
Val 42	.	.	B	B	.	.	.	-0.90	0.27	*	.	.	-0.30	0.47
Gly 43	A	T	.	-0.32	0.07	.	.	F	0.25	0.67
Glu 44	A	T	.	-0.32	0.06	*	.	F	0.25	0.98
Asn 45	T	T	.	0.18	0.13	*	.	F	0.80	1.09
Thr 46	T	T	.	0.31	-0.53	*	.	F	1.70	2.15
Thr 47	A	.	.	B	.	.	.	0.50	-0.37	*	.	F	0.45	0.66
Leu 48	.	.	B	B	.	.	.	0.03	0.20	*	.	.	-0.30	0.22
Arg 49	.	.	B	B	.	.	.	-0.27	0.49	*	.	.	-0.60	0.13
Cys 50	.	.	B	B	.	.	.	-0.48	0.39	*	.	.	0.00	0.12
Cys 51	.	.	B	B	.	.	.	-0.17	0.33	*	.	.	0.30	0.22
Leu 52	.	.	B	B	.	.	.	0.14	-0.36	*	.	.	1.40	0.19
Ser 53	.	.	B	B	.	T	C	0.96	-0.36	*	.	F	2.25	0.63
Pro 54	T	C	0.26	-0.53	*	.	F	3.00	1.89
Glu 55	A	T	.	0.92	-0.60	*	.	F	2.50	2.31
Glu 56	A	T	.	1.59	-1.29	*	.	F	2.20	2.99
Asn 57	A	A	1.80	-1.67	*	.	F	1.50	3.23
Ala 58	A	A	2.10	-1.49	*	.	F	1.20	1.85
Glu 59	A	A	1.46	-1.49	*	.	F	0.90	1.85
Asp 60	A	A	1.57	-0.84	*	.	F	0.75	0.88
Met 61	A	A	1.28	-1.24	*	.	.	0.75	1.63
Glu 62	A	A	0.58	-0.83	*	.	.	0.75	1.00
Val 63	A	A	1.17	-0.04	*	.	.	0.30	0.52
Arg 64	A	A	0.87	0.36	*	.	.	-0.30	0.91
Arg 65	A	A	0.87	0.13	*	.	.	-0.30	0.70
Phe 66	A	A	0.77	0.53	*	.	.	-0.45	1.64
Gln 67	A	A	0.47	0.67	*	.	F	-0.45	0.73
Ser 68	T	C	1.11	1.06	*	.	F	0.15	0.92
Gln 69	T	T	.	0.41	0.57	*	.	F	0.50	1.65
Phe 70	T	C	-0.16	0.29	*	.	F	0.45	0.96
Ser 71	T	.	-0.16	0.53	*	.	F	0.15	0.53
Pro 72	T	C	-1.03	0.93	*	.	.	-0.60	0.27
Ala 73	.	.	B	B	.	.	.	-0.96	1.17	*	.	.	-0.60	0.23
Val 74	.	.	B	B	.	.	.	-0.91	1.14	*	.	.	-0.60	0.27
Phe 75	.	.	B	B	.	.	.	-0.56	0.76	*	.	.	-0.60	0.35
Val 76	.	.	B	B	.	.	.	-0.60	0.76	*	.	.	-0.30	0.34
Tyr 77	.	.	B	B	.	.	.	-0.28	0.69	*	.	.	0.40	0.45
Lys 78	T	T	.	0.31	0.04	*	.	F	1.70	1.02
Gly 79	T	T	C	1.28	-0.74	*	.	F	2.70	2.39
Gly 80	T	T	.	1.67	-1.39	*	.	F	3.00	2.96
Arg 81	.	A	.	.	.	T	C	2.52	-1.66	*	.	F	2.30	2.15
Glu 82	A	A	2.77	-1.66	*	.	F	1.50	6.59
Arg 83	A	A	2.71	-2.09	*	.	F	1.20	5.83
Thr 84	A	A	3.11	-2.11	*	.	F	0.90	6.73
Glu 85	A	A	3.46	-2.11	*	.	F	0.90	5.95
Glu 86	A	A	3.34	-2.11	*	.	F	0.90	7.14
Gln 87	A	A	3.10	-2.11	*	.	F	0.90	6.46
Lys 88	A	A	3.10	-1.84	*	.	F	1.24	7.31
Glu 89	A	A	3.07	-1.84	*	.	F	1.58	4.10
Glu 90	A	A	3.18	-1.41	*	.	F	2.32	4.09
Tyr 91	A	T	.	2.87	-1.81	*	.	F	2.66	3.43
Arg 92	A	T	.	2.56	-1.33	*	.	F	3.40	2.84
Gly 93	T	T	.	1.81	-0.84	*	.	F	2.36	1.57
Arg 94	A	T	.	0.94	-0.06	*	.	F	1.47	0.59
Thr 95	.	.	B	B	.	.	.	0.66	-0.17	*	.	F	0.53	0.81
Thr 96	.	.	B	B	.	.	.	0.34	0.21	*	.	.	0.98	0.82
Phe 97	.	.	B	B	.	.	.	0.83	-0.21	*	.	.	0.98	0.95
Val 98	.	.	B	B	.	.	.	0.88	-0.21	*	.	F	1.47	0.88
Ser 99	.	.	B	B	.	.	.	0.88	-0.31	*	.	F	2.46	2.00
Lys 100	.	.	B	0.86	-0.80	*	.	F	3.40	2.67
Asp 101	T	T	.	0.70	-1.41	*	.	F	3.06	2.67
Ser 102	T	T	.	0.97	-1.16	*	.	F	3.57	0.99
Arg 103	T	T	.	0.46	-0.66	*	.	F	1.83	0.40
Gly 104	A	T	.	-0.48	0.01	*	.	F	0.19	0.17
Ser 105	A	-1.37	0.33	*	.	.	-0.30	0.13
Val 106	.	.	B	B

20

30

40

(表8 続き②)

Ala 107	.	.	B	B	.	.	.	-1.10	1.01	-0.60	0.09
Leu 108	.	.	B	B	.	.	.	-1.21	1.09	*	-0.60	0.09
Ile 109	.	.	B	B	.	.	.	-1.72	1.10	*	-0.60	0.21
Ile 110	.	.	B	B	.	.	.	-1.73	1.10	*	-0.60	0.15
His 111	.	.	B	B	.	.	.	-1.47	1.09	*	-0.60	0.26
Asn 112	.	.	B	B	.	.	.	-0.88	0.90	-0.26	0.38
Val 113	.	.	B	B	.	.	.	-0.07	0.21	0.38	0.94
Thr 114	.	.	B	B	.	.	.	0.82	-0.47	1.47	1.15
Ala 115	C	1.37	-0.37	*	2.46	1.15
Glu 116	T	T	.	0.51	-0.14	3.40	1.54
Asp 117	T	T	.	0.27	-0.50	*	2.91	0.75
Asn 118	T	T	.	1.12	-0.23	*	1.42	1.16
Gly 119	T	T	.	0.77	-0.33	2.08	1.16
Ile 120	.	.	.	H	T	.	.	1.11	0.24	0.44	0.37
Tyr 121	.	.	B	B	.	.	.	0.41	1.00	-0.60	0.36
Glu 122	.	.	B	B	.	.	.	0.41	1.39	-0.60	0.32
Cys 123	.	.	B	B	.	.	.	0.41	1.36	*	-0.60	0.78
Tyr 124	.	.	B	B	.	.	.	0.41	0.67	*	-0.60	0.87
Phe 125	.	.	B	B	.	.	.	1.41	0.34	*	0.01	0.49
Glu 126	.	.	B	B	.	.	.	1.36	-0.06	*	1.22	1.81
Glu 127	.	.	B	B	T	.	.	0.69	-0.24	*	1.93	1.58
Gly 128	T	T	.	1.36	-0.43	*	2.49	0.96
Arg 129	T	T	.	1.60	-0.81	*	3.30	0.89
Ser 130	T	T	.	1.73	-1.21	*	2.79	0.89
Cys 131	A	0.82	-0.71	*	2.08	0.91
Asn 132	A	A	0.01	-0.46	*	0.92	0.32
Glu 133	A	A	0.32	0.23	*	0.01	0.20
Ala 134	A	A	-0.60	0.34	*	-0.30	0.51
Ile 135	A	A	-1.16	0.46	*	-0.60	0.26
Leu 136	A	A	-1.34	0.70	-0.60	0.11
His 137	A	A	-1.93	1.34	-0.60	0.08
Leu 138	A	A	-1.93	1.34	-0.60	0.12
Val 139	A	A	-1.34	0.66	-0.60	0.24
Val 140	A	A	-0.49	0.37	-0.30	0.30
Ala 141	A	A	0.32	0.37	-0.30	0.50
Asp 142	A	A	0.14	0.09	-0.08	1.09
Glu 143	A	B	0.14	-0.13	0.74	1.27
His 144	A	C	0.70	-0.09	1.01	1.05
Asn 145	T	T	.	1.27	-0.20	*	1.48	1.48
Pro 146	T	T	.	0.97	0.71	0.70	0.90
Leu 147	T	T	.	0.76	1.00	0.48	0.46
Ser 148	T	T	.	-0.13	0.93	0.41	0.43
Trp 149	.	.	B	B	.	.	.	-0.31	1.21	-0.44	0.20
Ile 150	.	.	B	B	.	.	.	-0.31	1.21	-0.53	0.38
Pro 151	.	.	B	B	.	.	.	-0.44	0.93	-0.60	0.49
Ile 152	.	.	B	B	.	.	.	0.06	0.97	-0.45	0.46
Pro 153	.	.	B	B	T	.	.	-0.46	0.36	-0.08	0.95
Gln 154	T	T	.	-0.47	0.54	0.15	0.51
Gly 155	T	C	.	-0.39	0.80	*	0.15	0.97
Thr 156	.	.	B	B	.	.	.	-0.57	0.80	*	-0.05	0.52
Leu 157	.	.	B	B	.	.	.	-0.07	0.80	*	-0.60	0.38
Ser 158	.	.	B	B	.	.	.	-0.24	0.53	-0.60	0.49
Leu 159	.	.	B	B	.	.	.	-0.63	0.33	-0.60	0.44

10

20

30

【 0 9 5 8 】

【 表 9 】

表9

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV	
Met 1	A	A	-1.47	0.70	-0.60	0.31
Ala 2	A	A	-1.38	0.96	-0.60	0.20
Leu 3	A	A	-1.80	0.91	-0.60	0.21
Met 4	A	A	-2.27	1.17	-0.60	0.17
Leu 5	A	A	-2.69	1.20	-0.60	0.13
Ser 6	A	A	-2.39	1.39	-0.60	0.13
Leu 7	A	A	-2.61	1.09	-0.60	0.17
Val 8	A	A	-2.61	1.16	*	.	.	.	-0.60	0.17
Leu 9	A	A	-1.97	1.16	*	.	.	.	-0.60	0.11
Ser 10	A	A	-1.97	0.77	*	.	.	.	-0.60	0.26
Leu 11	.	A	B	-2.01	0.77	*	.	.	.	-0.60	0.28
Leu 12	.	A	B	-1.58	0.56	*	.	.	.	-0.60	0.34
Lys 13	.	A	B	-0.99	0.26	*	.	.	.	-0.15	0.34

(表9 続表②)

Leu 87	.	.	B	.	.	.	1.08	-1.19	*	F	2.13	1.35
Val 88	.	.	B	.	T	.	0.53	-0.80	*	F	2.22	1.26
Lys 89	.	.	B	.	T	.	-0.17	-0.60	.	F	2.30	0.44
Asp 90	.	.	B	.	T	.	0.14	-0.10	*	F	1.77	0.54
Ser 91	.	.	B	.	T	.	-0.24	-0.79	*	.	1.84	1.26
Ile 92	A	A	0.68	-1.00	*	.	1.06	0.62
Ala 93	A	A	0.64	-1.00	*	F	0.98	0.73
Gln 94	A	A	0.30	-0.31	.	F	0.45	0.38
Gly 95	A	A	-0.81	-0.31	*	F	0.45	0.73
Arg 96	A	A	-0.10	-0.31	*	F	0.45	0.60
Ile 97	A	A	-0.02	-0.81	*	F	0.75	0.67
Ser 98	A	A	0.57	-0.13	*	.	0.30	0.56
Leu 99	A	A	0.57	-0.56	*	.	0.60	0.50
Arg 100	A	A	0.02	-0.16	*	.	0.45	1.14
Leu 101	A	A	-0.40	-0.16	*	.	0.30	0.60
Gln 102	.	A	B	.	.	.	-0.37	-0.06	*	.	0.45	1.04
Asn 103	.	A	B	.	.	.	-0.88	-0.10	*	.	0.30	0.40
Ile 104	.	A	B	.	.	.	-0.07	0.59	*	.	-0.60	0.40
Thr 105	.	A	B	.	.	.	-0.77	-0.10	.	.	0.30	0.38
Val 106	.	A	B	.	.	.	-0.30	0.40	.	.	-0.60	0.24
Leu 107	.	A	B	.	.	.	-1.11	0.43	.	.	-0.60	0.34
Asp 108	.	A	B	.	.	.	-1.26	0.43	.	.	-0.60	0.19
Ala 109	.	A	B	.	.	.	-0.81	0.70	.	.	-0.60	0.41
Gly 110	.	.	.	T	.	.	-1.17	0.49	*	.	0.00	0.49
Leu 111	.	.	B	.	T	.	-0.20	0.37	*	.	0.10	0.16
Tyr 112	.	.	B	.	T	.	-0.28	0.37	*	.	0.10	0.10
Gly 113	.	.	B	.	T	.	-0.58	0.56	*	.	-0.20	0.22
Cys 114	.	.	B	.	T	.	-0.29	0.51	*	.	-0.20	0.35
Arg 115	.	.	B	B	.	.	0.06	0.21	*	.	-0.30	0.30
Ile 116	.	.	B	B	.	.	0.57	-0.14	*	F	0.45	0.52
Ser 117	.	.	B	B	.	.	0.57	-0.19	*	F	0.76	1.31
Ser 118	.	.	B	.	T	.	0.67	0.00	*	F	1.32	1.05
Gln 119	.	.	B	.	T	.	1.33	0.76	.	F	0.58	2.35
Ser 120	T	T	1.27	0.47	*	F	1.14	3.01
Tyr 121	T	T	1.57	0.09	.	F	1.60	4.52
Tyr 122	.	A	.	.	T	.	0.98	0.20	.	.	0.19	1.64
Gln 123	.	A	B	.	.	.	0.99	0.49	.	.	0.03	1.38
Lys 124	.	A	B	.	.	.	0.99	1.01	*	.	-0.28	0.93
Ala 125	.	A	B	.	.	.	0.48	0.26	*	.	0.01	1.02
Ile 126	.	A	B	.	.	.	0.72	0.19	*	.	-0.30	0.49
Trp 127	.	A	B	.	.	.	0.11	0.19	*	.	-0.30	0.42
Glu 128	A	A	-0.19	0.83	*	.	-0.60	0.31
Leu 129	A	A	-0.82	0.71	*	.	-0.60	0.59
Gln 130	.	A	B	.	.	.	-1.04	0.93	*	.	-0.60	0.97
Val 131	.	A	B	.	.	.	-0.50	0.30	*	.	-0.30	0.27
Ser 132	.	A	.	.	.	C	-0.51	0.73	.	.	-0.40	0.33
Ala 133	.	A	.	.	.	C	-1.37	0.43	.	.	-0.40	0.25
Leu 134	.	A	B	.	.	.	-0.77	0.67	*	.	-0.60	0.25
Gly 135	.	A	.	T	.	.	-1.58	0.46	.	.	-0.20	0.29
Ser 136	.	B	B	.	.	.	-1.61	0.76	.	.	-0.60	0.24
Val 137	.	B	B	.	.	.	-1.61	0.94	.	.	-0.60	0.20
Pro 138	.	B	B	.	.	.	-1.91	0.64	.	.	-0.60	0.27
Leu 139	.	B	B	.	.	.	-1.41	0.90	.	.	-0.60	0.14
Ile 140	.	B	B	.	.	.	-1.41	1.00	.	.	-0.60	0.28
Ser 141	.	B	B	.	.	.	-1.36	0.79	.	.	-0.60	0.18
Ile 142	.	B	B	.	.	.	-1.36	1.11	*	.	-0.60	0.34
Thr 143	.	B	B	.	.	.	-1.14	1.07	*	.	-0.60	0.36
Gly 144	.	B	B	.	.	.	-0.22	0.39	*	.	-0.04	0.45
Tyr 145	.	B	B	.	.	.	0.67	0.00	.	.	0.37	1.25
Val 146	.	B	B	.	.	.	0.08	-0.69	*	F	1.68	1.44
Asp 147	.	B	.	T	.	.	0.97	-0.49	*	F	2.04	1.02
Arg 148	.	B	.	T	.	.	0.47	-0.51	*	F	2.60	1.13
Asp 149	.	B	.	T	.	.	0.00	-0.59	*	F	2.34	1.23
Ile 150	.	B	.	T	.	.	-0.42	-0.54	*	.	1.78	0.62
Gln 151	.	A	B	.	.	.	0.43	0.03	*	.	0.22	0.17
Leu 152	.	A	B	.	.	.	0.13	0.43	*	.	-0.34	0.18
Leu 153	.	A	B	.	.	.	-0.28	0.81	*	.	-0.60	0.34
Cys 154	.	A	B	.	.	.	-0.62	0.51	*	.	-0.60	0.26
Gln 155	.	A	.	T	.	.	-0.02	0.54	*	F	-0.05	0.31
Ser 156	.	.	.	T	T	.	-0.72	0.77	*	F	0.35	0.40
Ser 157	.	.	.	T	T	.	-0.12	0.87	*	F	0.35	0.64
Gly 158	.	.	.	T	T	.	0.89	0.73	*	F	0.35	0.57
Trp 159	.	.	.	T	T	.	1.26	0.33	*	F	0.65	0.84

10

20

30

(表9 続き③)

Phe 160	T	C	0.94	0.37	*	F	0.45	0.97
Pro 161	T	C	0.66	0.47	*	F	0.30	1.41
Arg 162	T	C	1.00	0.54	*	F	0.30	1.36
Pro 163	T	T	1.06	-0.37	*	F	1.40	1.13
Thr 164	T	.	1.39	-0.24	*	F	1.20	1.13
Ala 168	T	.	1.74	-0.47	*	F	1.50	1.17
Lys 166	T	.	1.74	-0.24	*	F	1.20	1.39
Trp 167	T	.	1.63	-0.24	*	F	1.94	1.49
Lys 168	C	1.50	-0.33	*	F	1.68	2.55
Gly 169	C	1.81	-0.40	*	F	2.02	1.26
Pro 170	T	C	2.40	0.00	*	F	1.94	2.08
Gln 171	T	T	1.54	-0.31	.	F	3.40	1.74
Gly 172	T	C	1.53	-0.23	.	F	2.56	1.45
Gln 173	T	.	1.18	-0.27	.	F	2.02	1.26
Asp 174	1.52	-0.21	.	F	1.82	1.05
Leu 175	B	.	1.43	-0.61	*	F	2.12	1.77
Ser 176	B	.	1.54	-0.66	*	F	2.32	1.37
Thr 177	B	.	1.58	-1.06	*	F	2.66	1.60
Asp 178	T	T	1.58	-0.97	*	F	3.40	2.80
Ser 179	T	T	1.48	-0.86	*	F	2.86	3.37
Arg 180	T	C	2.50	-1.24	*	F	3.06	4.57
Thr 181	T	T	2.20	-1.73	*	F	3.94	4.57
Asn 182	T	T	2.48	-1.11	*	F	3.06	3.37
Arg 183	B	T	2.13	-1.00	*	F	2.48	2.34
Asp 184	T	T	1.62	-0.57	*	F	3.40	4.61
Met 185	B	T	0.82	-0.37	*	.	2.06	0.82
His 186	B	T	1.12	0.01	*	.	1.12	0.36
Gly 187	B	T	0.27	0.01	*	.	0.78	0.36
Leu 188	B	.	0.16	0.66	*	.	-0.26	0.27
Phe 189	A	.	.	.	B	.	-0.73	0.04	*	.	-0.30	0.35
Asp 190	A	.	.	.	B	.	-0.43	0.23	*	.	-0.30	0.28
Val 191	A	.	.	.	B	.	-1.21	0.19	*	.	-0.30	0.40
Glu 192	A	.	.	.	B	.	-1.18	0.19	*	.	-0.30	0.38
Ile 193	A	.	.	.	B	.	-1.22	-0.11	*	.	0.30	0.33
Ser 194	A	.	.	.	B	.	-0.52	0.53	*	.	-0.60	0.33
Leu 195	A	A	.	.	B	.	-0.52	0.29	*	.	-0.30	0.33
Thr 196	A	A	.	.	B	.	0.33	0.29	*	.	-0.30	0.81
Val 197	A	A	.	.	B	.	-0.26	0.00	*	.	0.58	0.98
Gln 198	A	A	.	.	B	.	0.29	0.11	*	F	0.50	1.20
Glu 199	A	A	.	.	B	.	0.29	-0.14	*	F	1.20	0.82
Asn 200	A	.	.	.	T	T	0.21	-0.24	*	F	2.40	1.48
Ala 201	T	T	0.22	-0.20	*	F	2.50	0.60
Gly 202	T	T	0.41	-0.21	*	F	2.25	0.46
Ser 203	T	T	0.11	0.36	*	F	1.40	0.15
Ile 204	A	-0.49	0.34	*	.	0.40	0.22
Ser 205	A	-0.38	0.46	*	.	-0.15	0.21
Cys 206	B	.	0.18	0.02	*	.	-0.10	0.30
Ser 207	.	A	.	.	B	.	-0.07	0.14	*	.	-0.30	0.58
Met 208	A	A	0.20	-0.04	*	.	0.30	0.44
Arg 209	A	A	0.28	0.07	*	.	-0.15	1.11
His 210	A	A	0.28	0.19	*	.	-0.30	0.69
Ala 211	A	A	1.06	0.19	*	.	-0.30	0.93
His 212	A	A	1.36	-0.43	*	.	0.30	0.93
Leu 213	A	A	1.10	-0.43	*	.	0.45	1.18
Ser 214	A	A	0.99	-0.29	*	.	0.30	0.87
Arg 215	A	A	0.72	-0.75	*	F	0.90	1.10
Glu 216	A	A	1.42	-0.90	*	F	0.90	1.79
Val 217	A	.	.	.	B	.	0.60	-1.59	*	F	0.90	2.62
Glu 218	A	.	.	.	B	.	1.42	-1.13	*	F	0.75	0.99
Ser 219	A	.	.	.	B	.	0.82	-0.93	*	F	0.75	0.99
Arg 220	B	.	0.37	-0.24	*	F	0.45	0.94
Val 221	B	.	0.37	-0.46	*	F	0.45	0.94
Gln 222	B	.	0.91	-0.46	*	.	0.30	0.67
Ile 223	B	.	0.21	-0.36	*	.	0.30	0.49
Gly 224	B	.	-0.19	0.43	*	F	-0.45	0.57
Asp 225	B	C	-0.30	0.57	*	F	-0.25	0.29
Thr 226	B	.	0.34	0.17	*	.	-0.30	0.71
Phe 227	B	.	-0.54	-0.09	*	.	0.45	1.11
Phe 228	B	.	0.04	0.17	*	.	-0.30	0.47
Glu 229	B	.	0.10	0.56	*	.	-0.60	0.43
Pro 230	A	.	.	.	B	.	0.07	0.99	*	.	-0.60	0.53
Ile 231	A	.	.	.	B	.	-0.43	0.70	*	.	-0.60	0.83
Ser 232	A	A	.	.	B	.	-0.32	0.60	*	.	-0.60	0.39

10

20

30

(表9 続表④)

Trp	233	A	A	.	B	.	.	0.07	1.10	-0.60	0.26
His	234	A	A	.	B	.	.	0.11	1.16	.	*	.	.	-0.60	0.83
Leu	235	A	A	.	B	.	.	-0.53	0.47	*	.	.	.	-0.60	0.79
Ala	236	A	A	.	B	.	.	-0.46	0.73	*	.	.	.	-0.60	0.56
Thr	237	A	A	.	B	.	.	-0.50	0.50	*	.	.	.	-0.60	0.34
Lys	238	.	A	B	B	.	.	-1.10	0.43	*	.	.	.	-0.60	0.40
Val	239	.	A	B	B	.	.	-1.88	0.43	*	.	.	.	-0.60	0.28
Leu	240	.	A	B	B	.	.	-1.73	0.61	*	.	.	.	-0.60	0.16
Gly	241	.	A	B	B	.	.	-1.81	0.70	*	.	.	.	-0.60	0.04
Ile	242	.	A	B	B	.	.	-1.84	1.27	*	.	.	.	-0.60	0.03
Leu	243	.	A	B	B	.	.	-2.70	1.06	*	.	.	.	-0.60	0.04
Cys	244	.	.	B	.	.	T	-2.54	1.06	*	.	.	.	-0.20	0.03
Cys	245	.	.	B	.	.	T	-2.43	1.41	*	.	.	.	-0.20	0.04
Gly	246	.	.	B	.	.	T	-2.43	1.51	*	.	.	.	-0.20	0.04
Leu	247	.	.	B	.	.	T	-2.43	1.26	*	.	.	.	-0.20	0.07
Phe	248	.	.	B	B	.	.	-2.48	1.37	*	.	.	.	-0.60	0.10
Phe	249	.	.	B	B	.	.	-2.16	1.44	*	.	.	.	-0.60	0.07
Gly	250	.	.	B	B	.	.	-2.30	1.44	*	.	.	.	-0.60	0.09
Ile	251	.	.	B	B	.	.	-1.91	1.44	*	.	.	.	-0.60	0.08
Val	252	A	A	.	B	.	.	-1.99	0.66	*	.	.	.	-0.60	0.19
Gly	253	A	A	.	B	.	.	-1.99	0.56	*	.	.	.	-0.60	0.14
Leu	254	A	A	.	B	.	.	-1.99	0.91	*	.	.	.	-0.60	0.17
Lys	255	.	A	B	B	.	.	-1.84	1.01	*	.	.	.	-0.60	0.20
Ile	256	.	A	B	B	.	.	-1.01	0.76	*	.	.	.	-0.60	0.27
Phe	257	.	A	B	B	.	.	-0.86	0.33	*	*	.	.	-0.20	0.45
Phe	258	A	A	.	B	.	.	-0.31	0.43	*	*	.	.	-0.60	0.28
Ser	259	A	A	.	B	.	.	0.01	0.81	*	*	.	.	-0.60	0.69
Lys	260	A	A	.	B	.	.	0.01	1.06	*	*	.	.	-0.60	0.84
Phe	261	A	A	.	B	.	.	0.01	0.27	*	*	.	.	-0.15	1.94
Gln	262	A	A	.	B	.	.	0.71	0.17	*	*	.	.	-0.15	1.01
Trp	263	A	A	.	B	.	.	0.82	0.19	*	*	.	.	-0.30	0.88
Lys	264	A	A	.	B	.	.	1.12	0.69	*	*	.	.	-0.45	1.02
Ile	265	A	A	.	B	.	.	0.27	-0.10	*	*	.	.	0.45	1.02
Gln	266	A	A	.	B	.	.	0.97	0.19	*	*	.	.	-0.30	0.80
Ala	267	A	A	.	B	.	.	0.48	-0.73	*	*	.	.	0.60	0.67
Glu	268	A	A	.	B	.	.	1.08	0.39	*	*	.	.	-0.15	1.01
Leu	269	A	A	.	B	.	.	1.14	-0.50	*	*	.	.	0.75	1.14
Asp	270	A	A	.	B	.	.	2.08	-0.90	*	*	.	.	0.75	2.11
Trp	271	A	A	.	B	.	.	2.04	-1.40	*	*	.	.	1.05	2.55
Arg	272	A	A	.	B	.	.	2.29	-0.90	*	*	.	.	1.35	4.20
Arg	273	A	T	2.29	-1.16	*	F	.	.	2.20	2.49
Lys	274	A	T	2.51	-0.76	*	F	.	.	2.50	4.10
His	275	T	2.51	-1.17	*	F	.	.	3.00	2.12
Gly	276	T	1.99	-1.17	*	F	.	.	2.70	1.87
Gln	277	.	A	.	.	.	C	1.99	-0.49	*	F	.	.	1.55	0.77
Ala	278	A	A	1.88	-0.49	*	F	.	.	1.20	1.11
Glu	279	A	A	1.24	-0.99	*	.	.	.	1.05	1.87
Leu	280	A	A	1.39	-0.91	*	F	.	.	0.90	1.09
Arg	281	A	A	1.78	-1.11	*	F	.	.	0.90	2.12
Asp	282	A	A	1.74	-1.81	*	F	.	.	0.90	2.45
Ala	283	A	A	1.74	-1.31	*	F	.	.	0.90	4.04
Arg	284	A	A	0.69	-1.50	*	F	.	.	0.90	2.08
Lys	285	A	A	1.70	-0.86	*	F	.	.	0.75	0.93
His	286	A	A	0.73	-0.86	*	.	.	.	0.75	1.59
Ala	287	A	A	0.42	-0.71	*	.	.	.	0.60	0.60
Val	288	.	A	B	.	.	.	0.20	-0.21	*	.	.	.	0.30	0.43
Glu	289	.	A	B	.	.	.	0.09	0.46	*	.	.	.	-0.60	0.26
Val	290	.	A	B	.	.	.	-0.17	-0.04	*	.	.	.	0.30	0.43
Thr	291	A	A	-0.13	-0.11	*	.	.	.	0.30	0.31
Leu	292	A	A	0.14	-0.76	*	F	.	.	0.75	0.91
Asp	293	A	T	0.41	-0.27	*	F	.	.	1.00	1.76
Pro	294	A	T	0.38	-0.41	*	F	.	.	1.00	1.23
Glu	295	A	T	1.02	-0.40	*	F	.	.	1.00	2.03
Thr	296	A	T	1.38	-0.66	*	F	.	.	1.30	1.88
Ala	297	A	A	1.38	-0.66	*	F	.	.	0.90	2.44
His	298	A	A	0.71	-0.40	*	F	.	.	0.60	1.16
Pro	299	A	A	0.07	0.17	*	F	.	.	-0.15	0.43
Lys	300	A	A	.	B	.	.	-0.21	0.33	*	F	.	.	-0.15	0.32
Leu	301	A	A	.	B	.	.	0.68	0.21	*	.	.	.	-0.30	0.31
Cys	302	.	A	B	B	.	.	-0.14	-0.29	*	.	.	.	0.30	0.34
Val	303	A	A	.	B	.	.	-0.07	-0.03	*	.	.	.	0.30	0.14
Ser	304	A	A	-0.17	-0.03	*	F	.	.	0.45	0.34
Asp	305	A	-1.07	-0.23	*	F	.	.	0.65	0.91

10

20

30

(表9 続き⑤)

Leu 306	A	.	.	B	.	.	.	-0.57	-0.15 *	.	F	0.45	0.31
Lys 307	A	.	.	B	.	.	.	0.07	-0.31 *	.	F	0.45	0.98
Thr 308	A	.	.	B	.	.	.	1.03	-0.20 *	.	F	0.45	0.80
Val 309	A	.	.	B	.	.	.	1.38	-0.20 *	.	F	0.60	1.09
Thr 310	.	A	B	B	.	.	.	0.79	-0.89 *	.	.	0.75	1.89
His 311	.	A	B	B	.	.	.	1.39	-0.39 *	.	F	0.60	1.32
Arg 312	.	A	.	B	T	.	.	1.34	-0.44 *	.	F	1.00	2.75
Lys 313	.	A	.	B	.	.	C	1.66	-0.69 *	.	F	1.10	3.31
Ala 314	.	A	C	1.66	-1.17 *	.	F	1.10	4.21
Pro 315	.	A	C	1.76	-1.03 *	.	F	1.10	1.59
Gln 316	A	1.24	-0.60 *	.	F	0.90	1.23
Glu 317	A	A	1.24	-0.10 *	.	F	0.60	1.66
Val 318	.	.	B	.	T	.	.	1.30	-0.21 *	.	F	1.00	1.44
Pro 319	A	.	.	.	T	.	.	1.93	-0.64 *	.	F	1.30	1.44
His 320	A	.	.	.	T	.	.	2.24	-1.04 *	.	F	1.30	1.66
Ser 321	A	.	.	.	T	.	.	1.56	-1.04 *	.	F	1.30	4.38
Glu 322	A	A	1.24	-0.90 *	.	F	0.90	1.46
Lys 323	A	A	.	B	.	.	.	2.21	-0.84 *	.	F	0.90	2.60
Arg 324	A	A	.	B	.	.	.	2.47	-1.34 *	.	F	0.90	3.81
Phe 325	A	A	.	B	.	.	.	2.20	-1.73 *	.	F	0.90	4.40
Thr 326	A	A	.	B	.	.	.	1.64	-1.34 *	.	F	0.90	2.95
Arg 327	A	.	.	B	.	.	.	0.79	-0.70 *	.	F	0.90	1.12
Lys 328	.	.	B	B	.	.	.	0.16	-0.04 *	.	F	0.45	0.96
Ser 329	.	.	B	B	.	.	.	-0.26	-0.34 *	.	F	0.45	0.67
Val 330	.	.	B	B	.	.	.	0.44	-0.44 *	.	.	0.30	0.46
Val 331	.	.	B	B	.	.	.	0.46	-0.04 *	.	.	0.30	0.40
Ala 332	.	.	B	B	.	.	.	-0.36	0.34 *	.	.	-0.30	0.40
Ser 333	.	.	B	.	T	.	.	-0.40	0.74 *	.	F	-0.05	0.46
Gln 334	A	.	.	.	T	.	.	-0.69	0.50 *	.	F	0.10	1.08
Ser 335	A	.	.	.	T	.	.	-0.18	0.36 *	.	F	0.40	1.08
Phe 336	A	.	.	.	T	.	.	0.72	0.29 *	.	F	0.25	0.80
Glu 337	A	1.28	-0.10 *	.	.	0.50	0.92
Ala 338	C	1.33	0.00 *	.	.	0.10	0.94
Gly 339	T	C	.	1.04	0.37 *	.	.	0.45	1.69
Lys 340	T	C	.	1.34	0.50 *	.	.	0.15	1.03
His 341	T	C	.	1.19	0.10 *	.	.	0.45	1.76
Tyr 342	.	.	B	.	T	.	.	1.19	0.24 *	.	.	0.25	1.32
Trp 343	.	.	B	1.43	-0.19 *	.	.	0.65	1.10
Gln 344	.	.	B	1.43	0.34 *	.	.	0.24	0.80
Val 345	.	.	B	.	T	.	.	1.16	0.17 *	.	.	0.78	0.51
Asp 346	T	T	.	1.39	-0.09 *	.	F	2.27	0.66
Gly 347	T	T	.	1.68	-0.60 *	.	F	2.91	0.61
Gly 348	T	T	.	2.08	-0.60 *	.	F	3.40	1.64
His 349	C	1.79	-1.24 *	.	F	2.66	1.92
Asn 350	T	C	.	2.76	-0.33 *	.	F	2.22	2.04
Lys 351	T	T	.	1.90	-0.76 *	.	F	2.38	4.05
Arg 352	T	T	.	1.90	-0.54 *	.	.	1.89	2.21
Trp 353	T	T	.	1.39	-0.61 *	.	.	1.55	1.36
Arg 354	.	.	B	0.76	-0.37 *	.	.	0.30	0.90
Val 355	.	.	B	B	.	.	.	0.87	0.20 *	.	.	-0.30	0.14
Gly 356	.	.	B	B	.	.	.	0.82	0.20 *	.	.	-0.30	0.26
Val 357	.	.	B	B	.	.	.	0.71	-0.71 *	.	.	0.60	0.22
Cys 358	.	.	B	.	T	.	.	0.14	-0.71 *	.	.	1.00	0.49
Arg 359	.	.	B	.	T	.	.	0.03	-0.71 *	.	.	1.00	0.37
Asp 360	.	.	B	.	T	.	.	1.00	-1.14 *	.	F	1.15	0.83
Asp 361	A	.	.	.	T	.	.	1.46	-1.79 *	.	F	1.30	3.04
Val 362	A	2.36	-2.36 *	.	F	1.10	3.04
Asp 363	A	.	.	.	T	.	.	1.02	-2.36 *	.	F	1.30	3.64
Arg 364	A	.	.	.	T	.	.	2.67	-2.36 *	.	F	1.30	3.78
Arg 365	A	.	.	.	T	.	.	1.83	-1.60 *	.	F	1.30	7.97
Lys 366	.	.	B	.	T	.	.	1.50	-1.60 *	.	F	1.30	3.34
Glu 367	.	.	B	B	.	.	.	1.54	-1.11 *	.	F	0.90	2.61
Tyr 368	.	.	B	B	.	.	.	1.24	-0.43 *	.	.	0.45	1.10
Val 369	.	.	B	B	.	.	.	0.92	-0.04 *	.	.	0.55	0.74
Thr 370	.	.	B	B	.	.	.	0.81	0.39 *	.	.	0.10	0.66
Leu 371	.	.	B	B	.	.	.	0.73	0.39 *	.	.	0.45	0.70
Ser 372	.	.	B	.	T	.	.	0.39	0.13 *	.	F	1.40	1.28
Pro 373	T	T	.	0.39	-0.09 *	.	F	2.50	0.88
Asp 374	T	T	.	0.96	0.19 *	.	F	1.80	1.67
His 375	T	T	.	0.41	0.41 *	.	.	1.10	1.31
Gly 376	.	.	B	.	T	.	.	0.41	0.67 *	.	.	0.30	0.63
Tyr 377	.	.	B	B	.	.	.	0.82	0.93 *	.	.	-0.35	0.31
Trp 378	.	.	B	B	.	.	.	0.22	0.93 *	.	.	-0.60	0.45

10

20

30

(表9 糸丸*⑥)

Val 379	B	B			0.22	1.11	*	*		-0.60	0.37
Leu 380	B	B			-0.09	1.09	*	*		-0.60	0.38
Arg 381	B	B			0.26	0.76	*	*		-0.60	0.36
Leu 382	B	B			0.47	-0.14	*	*		0.30	0.84
Asn 383				C	-0.06	-0.30	*	*	F	0.80	1.39
Gly 384					0.56	-0.30	*	*	F	0.85	0.58
Glu 385				C	0.67	0.46			F	0.10	1.11
His 386	B	B			0.24	0.56			*	-0.60	0.60
Leu 387	B	B			0.24	0.64			*	-0.60	0.87
Tyr 388	B	B			0.24	0.90			*	-0.60	0.42
Phe 389	B	B			0.38	1.30			*	-0.60	0.49
Thr 390	B	B			0.49	1.23			*	-0.60	0.92
Leu 391	B	B			-0.18	0.54	*	*		-0.45	1.15
Asn 392				C	-0.26	0.57	*	*		0.25	1.15
Pro 393			T	T	-0.31	0.47	*	*		0.20	0.56
Arg 394			T	T	-0.47	0.37	*	*		0.50	0.91
Phe 395	B	B		T	-0.86	0.33	*	*		0.10	0.42
Ile 396	B	B			-0.26	0.71	*	*		-0.60	0.23
Ser 397	B	B			-0.14	0.71	*	*		-0.60	0.19
Val 398	B	B			-0.24	0.71	*	*		-0.60	0.42
Phe 399	B	B			-0.57	0.41	*	*		-0.60	0.86
Pro 400			T		-0.08	0.16	*	*	F	0.73	1.00
Arg 401			T		0.50	0.20	*	*	F	1.16	2.07
Thr 402				C	0.84	0.04	*	*	F	1.24	3.46
Pro 403			T	T	0.81	-0.74	*	*	F	2.62	4.47
Pro 404			T	T	1.17	-0.43	*	*	F	2.80	1.60
Thr 405			T	T	0.52	-0.06	*	*	F	2.52	1.10
Lys 406	B	B			-0.29	0.10	*	*	F	1.09	0.53
Ile 407	B	B			-0.79	0.46	*	*		-0.04	0.28
Gly 408	B	B			-0.58	0.71	*	*		-0.32	0.17
Val 409	B	B			-0.61	0.23	*	*		-0.30	0.14
Phe 410	B	B			-0.30	0.99	*	*		-0.60	0.31
Leu 411	B	B			-1.01	0.20	*	*		-0.08	0.58
Asp 412	B			T	-0.47	0.44	*	*		0.24	0.40
Tyr 413	B			T	-0.43	0.23	*	*		0.76	0.45
Glu 414			T	T	-0.47	-0.07	*	*		1.98	0.80
Cys 415			T	T	-0.07	-0.07	*	*		2.20	0.33
Gly 416	B	B			0.04	0.31	*	*		0.98	0.29
Thr 417	B	B			-0.66	0.34	*	*		0.36	0.24
Ile 418	B	B			-0.41	1.13	*	*		-0.16	0.23
Ser 419	B	B			-1.30	0.96	*	*		-0.38	0.37
Phe 420	B	B			-0.43	1.21	*	*		-0.60	0.18
Phe 421	B	B			-0.29	1.13	*	*		-0.60	0.42
Asn 422	B	B			0.02	0.44	*	*		-0.47	0.52
Ile 423	B			C	0.61	0.46	*	*		0.01	1.04
Asn 424	B			C	0.20	0.06	*	*	F	0.59	1.61
Asp 425			T	T	-0.09	-0.04	*	*	F	1.77	0.83
Gln 426			T	T	0.37	0.24	*	*	F	1.30	0.83
Ser 427			T	T	0.06	0.31	*	*	F	1.17	0.80
Leu 428	B	B		T	0.13	0.40	*	*		0.49	0.70
Ile 429	B	B			-0.28	1.09	*	*		-0.34	0.23
Tyr 430	B	B			-0.84	1.17	*	*		-0.47	0.36
Thr 431	B	B			-0.73	1.36	*	*		-0.60	0.23
Leu 432	B	B			-1.13	0.67	*	*		-0.60	0.65
Thr 433	B	B			-0.32	0.77	*	*		-0.60	0.36
Cys 434	A	B	B		0.22	0.01	*	*		-0.30	0.43
Arg 435	A	B	B		-0.34	-0.04	*	*		0.30	0.52
Phe 436	A	B	B		-0.84	-0.04	*	*		0.30	0.29
Glu 437	A	B	B		0.08	0.16	*	*		-0.30	0.45
Gly 438	A			T	0.18	-0.41	*	*		0.70	0.45
Leu 439	A			T	0.60	0.01	*	*		0.10	0.82
Leu 440	A			C	-0.40	-0.01	*	*	F	0.65	0.73
Arg 441	A			C	0.30	0.87	*	*		-0.40	0.52
Pro 442	B	B			0.06	0.24	*	*		-0.15	1.09
Tyr 443	B	B			0.19	0.31	*	*		-0.15	2.07
Ile 444	B	B			0.70	0.06	*	*		-0.15	1.63
Glu 445	B	B			1.27	0.44	*	*		-0.45	1.42
Tyr 446	B			T	1.16	0.77	*	*		-0.05	1.42
Pro 447	B			T	1.37	0.41	*	*	F	0.10	3.25
Ser 448			T	T	1.61	-0.27	*	*	F	1.40	3.25
Tyr 449			T	T	2.50	0.13	*	*	F	0.80	3.59
Asn 450			T	T	2.16	-0.23	*	*	F	1.50	3.73
Glu 451			T	T	2.09	-0.23	*	*	F	3.00	2.76
Gln 452			T	T	2.09	-0.13	*	*	F	2.30	2.54
Asn 453			T	T	2.50	-0.44	*	*	F	2.60	2.44
Gly 454			T	T	2.74	-0.86	*	*	F	3.00	2.76
Thr 455			T	C	2.79	-0.86	*	*	F	2.70	2.66
Pro 456			T	C	2.79	-1.26	*	*	F	2.40	3.31
Arg 457			T	T	2.79	-1.26	*	*	F	2.30	5.80
Asp 458			T	T	2.40	-1.29	*	*	F	2.00	6.95
Lys 459	B				2.36	-1.34	*	*		0.95	5.75
Gln 460	B				2.28	-1.34	*	*		0.95	3.75
Gln 461	B				2.10	-0.91	*	*		0.95	2.07

10

20

30

【 0 9 5 9 】

【 表 1 0 】

表 10

cDNA プラスミドV	ライブラリーコード
HE8NC81	H0012 H0013 H0056 H0059 H0063 H0083 H0098 H0144 H0156 H0163 H0170 H0177 H0181 H0321 H0327 H0333 H0345 H0392 H0412 H0427 H0436 H0457 H0494 H0520 H0521 H0539 H0542 H0550 H0551 H0556 H0586 H0616 H0619 H0646 H0656 H0658 H0660 H0662 H0663 H0670 H0672 H0684 L1290 S0015 S0026 S0037 S0132 S0206 S0278 S0358 S0360 S0374 S0452 S3014
HDPPA04	H0004 H0494 H0521 H0522 H0591 H0641 L1290 S0452 T0049
HTTDB46	H0036 H0040 S0360
HCECR39	H0052 H0090 H0486 H0556 H0580 L1290 S0046 S0270
HCE2X64	H0009 H0052 H0144 H0194 H0569 L1290 S0001 S0049 S0222 S0388 S6024 S6028 T0006 T0010
HEMFH17	H0052 H0090 H0486 H0580 L1290 S0046 S0270 S0386
HSIDS22	H0002 H0013 H0020 H0030 H0036 H0040 H0046 H0051 H0052 H0059 H0156 H0316 H0412 H0423 H0521 H0529 H0545 H0547 H0555 H0556 H0575 H0590 H0617 H0622 H0631 H0632 H0641 H0644 H0656 H0657 H0659 H0660 H0662 H0665 H0666 H0690 H0708 H0716 L1290 S0003 S0045 S0126 S0194 S0214 S0218 S0242 S0276 S0278 S0356 S0358 S0360 S0374 S0376 S0380 S0408 S0422 S0434 S0476 S3014 T0002

10

【 0 9 6 0 】

【 表 1 1 】

表 11

自記番号X	細胞学的バンド および染色体	OMIM ID:
2	染色体 7	
5	染色体 6	
6	染色体 7	

20

【 0 9 6 1 】

【 表 1 2 】

表 12

ライブラリーコード	ライブラリーの記載	疾患
H0002	Human Adult Heart	
H0004	Human Adult Spleen	
H0009	Human Fetal Brain	
H0012	Human Fetal Kidney	
H0013	Human 8 Week Whole Embryo	
H0020	Human Hippocampus	
H0030	Human Placenta	
H0036	Human Adult Small Intestine	
H0040	Human Testes Tumor	疾患
H0046	Human Endometrial Tumor	疾患
H0051	Human Hippocampus	
H0052	Human Cerebellum	
H0056	Human Umbilical Vein, Endo. remake	
H0059	Human Uterine Cancer	疾患
H0063	Human Thymus	
H0083	HUMAN JURKAT MEMBRANE BOUND POLYSOMES	
H0090	Human T-Cell Lymphoma	疾患
H0098	Human Adult Liver, subtracted	
H0144	Nine Week Old Early Stage Human	
H0156	Human Adrenal Gland Tumor	疾患
H0163	Human Synovium	
H0170	12 Week Old Early Stage Human	
H0177	CAMA1Ee Cell Line	
H0181	Human Primary Breast Cancer	疾患
H0194	Human Cerebellum, subtracted	
H0316	HUMAN STOMACH	
H0321	HUMAN SCHWANOMA	疾患
H0327	human corpus colosum	疾患
H0333	Hemangiopericytoma	疾患
H0345	SKIN	
H0392	H. Meningioma, M1	
H0412	Human umbilical vein endothelial cells, IL-4 induced	
H0423	T-Cell PHA 24 hrs	
H0427	Human Adipose	
H0436	Resting T-Cell Library,II	
H0457	Human Eosinophils	
H0486	Hodgkin's Lymphoma II	疾患
H0494	Keratinocyte	
H0520	NTERA2 + retinoic acid, 14 days	
H0521	Primary Dendritic Cells, lib 1	
H0522	Primary Dendritic cells, frac 2	
H0529	Myeloid Progenitor Cell Line	
H0539	Pancreas Islet Cell Tumor	疾患
H0542	T Cell helper 1	
H0545	Human endometrial stromal cells-treated with progesterone	
H0547	NTERA2 teratocarcinoma cell line+retinoic acid (14 days)	
H0550	H. Epididymus, cauda	

10

20

30

(表12 続き ①)

H0551	Human Thymus Stromal Cells	
H0555	Rejected Kidney, lib 4	疾患
H0556	Activated T-cell(12h)/Thiouridine-re-excision	
H0569	Human Fetal Brain, normalized CO	
H0575	Human Adult Pulmonary, re-excision	
H0580	Dendritic cells, pooled	
H0586	Healing groin wound, 6.5 hours post incision	疾患
H0590	Human adult small intestine, re-excision	
H0591	Human T-cell lymphoma, re-excision	疾患
H0616	Human Testes, Reexcision	
H0617	Human Primary Breast Cancer Reexcision	疾患
H0619	Fetal Heart	
H0622	Human Pancreas Tumor, Reexcision	疾患
H0631	Saos2, Dexamethosome Treated	
H0632	Hepatocellular Tumor, re-excision	
H0641	LPS activated derived dendritic cells	
H0644	Human Placenta (re-excision)	
H0646	Lung, Cancer (4005313: A3): Invasive Poorly Differentiated Lung Adenocarcinoma,	
H0656	B-cells (unstimulated)	
H0657	B-cells (stimulated)	
H0658	Ovary, Cancer (9809C332): Poorly differentiated adenocarcinoma	疾患
H0659	Ovary, Cancer (15395A1F): Grade II Papillary Carcinoma	疾患
H0660	Ovary, Cancer: (15799A1F) Poorly differentiated carcinoma	疾患
H0662	Breast, Normal: (4005522B2)	
H0663	Breast, Cancer: (4005522 A2)	疾患
H0665	Stromal cells 3.88	
H0666	Ovary, Cancer: (4004332 A2)	疾患
H0670	Ovary, Cancer(4004650 A3): Well-Differentiated Micropapillary Serous Carcinoma	
H0672	Ovary, Cancer: (4004576 A8)	
H0684	Ovarian cancer, Serous Papillary Adenocarcinoma	
H0690	Ovarian Cancer, # 9702G001	
H0708	Human Skeletal Muscle	
H0716	Adipose tissue (diabetic type II)#41689	
L1290	Soares placenta 8to9weeks 2NbHP8to9W	
S0001	Brain frontal cortex	
S0003	Human Osteoclastoma	疾患
S0015	Kidney medulla	
S0026	Stromal cell TF274	
S0037	Smooth muscle, IL1b induced	
S0045	Endothelial cells-control	

10

20

30

(表)2 続き②)

S0046	Endothelial-induced	
S0049	Human Brain, Striatum	
S0126	Osteoblasts	
S0132	Epithelial-TNF α and INF induced	
S0194	Synovial hypoxia	
S0206	Smooth Muscle- HASTE normalized	
S0214	Human Osteoclastoma, re-excision	疾患
S0218	Apoptotic T-cell, re-excision	
S0222	H. Frontal cortex, epileptic, re-excision	疾患
S0242	Synovial Fibroblasts (II1/TNF), subt	
S0270	PTMX	
S0276	Synovial hypoxia-RSF subtracted	
S0278	H Macrophage (GM-CSF treated), re-excision	
S0356	Colon Carcinoma	疾患
S0358	Colon Normal III	
S0360	Colon Tumor II	疾患
S0374	Normal colon	
S0376	Colon Tumor	疾患
S0380	Pancreas Tumor PCA4 Tu	疾患
S0386	Human Whole Brain, re-excision	
S0388	Human Hypothalamus, schizophrenia, re-excision	疾患
S0408	Colon, normal	
S0422	Mo7e Cell Line GM-CSF treated (1ng/ml)	
S0434	Stomach Normal	疾患
S0452	Thymus	
S0476	Epithelial-TNF α and INF induced	
S3014	Smooth muscle, serum induced, re-exc	
S6024	Alzheimers, spongy change	疾患
S6028	Human Manic Depression Tissue	疾患
T0002	Activated T-cells	
T0006	Human Pineal Gland	
T0010	Human Infant Brain	
T0049	Aorta endothelial cells + TNF-a	

10

20

概して、本発明を記載してきたが、例示の目的のために提供されかつ限定することを意図しない、以下の実施例を参照することによって、本発明はより容易に理解される。

【0962】

(実施例)

(実施例1: 選択されたcDNAクローンの寄託されたサンプルからの単離) 引用されるATCC寄託物中の各cDNAクローンは、プラスミドベクター中に含まれる。表1は、各クローンが単離されたcDNAライブラリーを構築するために用いられたベクターを示す。多くの場合において、ライブラリーを構築するために使用されたベクターは、プラスミドが切り出されたファージベクターである。直下の表は、cDNAライブラリーを構築する際に使用される各ファージベクターについて関連するプラスミドを相関づける。例えば、特定のクローンがベクター「Lambda Zap」中に単離されていると表1に示される場合、対応する寄託クローンは、「pBluescript」である。

30

【0963】

【表13】

ライブラリーを構築するために使用された
ベクター

対応する寄託プラスミド

Lambda Zap

pBluescript (pBS)

Uni-Zap XR

pBluescript (pBS)

Zap Express

pBK

lafmid BA

plafmid BA

pSport1

pSport1

pCMVSPORT 2.0

pCMVSPORT 2.0

pCMVSPORT 3.0

pCMVSPORT 3.0

pCR[®]2.1

pCR[®]2.1

10

ベクター Lambda Zap (米国特許第 5,128,256 号および同第 5,286,636 号)、Uni-Zap XR (米国特許第 5,128,256 号および同第 5,286,636 号)、Zap Express (米国特許第 5,128,256 号および同第 5,286,636 号)、pBluescript (pBS) (Shortら、Nucleic Acids Res., 16:7583-7600 (1988); Altling-Meesら、Nucleic Acids Res., 17:9494 (1989)) ならびに pBK (Altling-Meesら、Strategies, 5:58-61 (1992)) は、Stratagene Cloning Systems, Inc., 11011 N. Torrey Pines Road, La Jolla, CA, 92037 から市販されている。pBS は、アンピシリン耐性遺伝子を含み、そして pBK はネオマイシン耐性遺伝子を含む。両方とも、E. coli 株 XL-1 Blue (これもまた、Stratagene から入手可能である) に形質転換され得る。pBS は、SK⁺、SK⁻、KS⁺ および KS⁻ の 4 形態で入荷する。S および K とは、ポリリンカー領域 (「S」とは SacI であり、そして「K」とは、KpnI のことであり、これらは、それぞれのリンカーの各末端での最初の部位である) に隣接する T7 および T3 プライマー配列に対するポリリンカーの配向をいう。「+」または「-」とは、ある方向において f1 複製起点 (「ori」) から開始される一本鎖レスキューがセンス鎖 DNA を生成し、そして他方においてアンチセンス鎖 DNA を生成するような f1 ori の配向をいう。

20

30

【0964】

ベクター pSport1、pCMVSPORT 2.0 および pCMVSPORT 3.0 を Life Technologies, Inc., P.O. Box 6009, Gaithersburg, MD 20897 から入手した。全ての Sport ベクターはアンピシリン耐性遺伝子を含み、そして E. coli 株 DH10B (これもまた、Life Technologies から入手可能である) に形質転換され得る。(例えば、Gruber, C.E.ら、Focus 15:59 (1993) を参照のこと)。ベクター lafmid BA (Bento Soares, Columbia University, NY) は、アンピシリン耐性遺伝子を含み、そして E. coli 株 XL-1 Blue に形質転換され得る。ベクター pCR (登録商標) 2.1 (これは Invitrogen, 1600 Faraday Avenue, Carlsbad, CA 92008 から入手可能である) は、アンピシリン耐性遺伝子を含み、そして E. coli 株 DH10B (Life Technologies から入手可能である) に形質転換され得る (例えば、Clark, Nuc. Acids Res., 16:9677-9686 (1988) および Meadら、Bio/Technology, 9:(1991) を参照のこと)。

40

50

好ましくは、本発明のポリヌクレオチドは、表1における特定のクローンについて同定されたファージベクター配列、ならびに上記に示された対応するプラスミドベクター配列を含まない。

【0965】

表1に引用される、任意の所定のcDNAクローンについてATCC受託番号を与えられたサンプルにおける寄託された物質はまた、1つ以上のさらなるプラスミド（これは各々、その所定のクローンとは異なるcDNAクローンを含む）を含み得る。従って、同じATCC受託番号を共有する寄託物は、表1に示される各cDNAクローンのためのプラスミド（プラスミド：V）を少なくとも含む。代表的には、表1に引用される各ATCC寄託物のサンプルは、ほぼ等量（重量で）の約50個のプラスミドDNA（これは各々、異なるcDNAクローンを含む）の混合物を含む；しかし、このような寄託サンプルは、50個よりも多いかまたは少ないcDNAクローン（約500個までのcDNAクローン）のためのプラスミドを含み得る。

10

【0966】

表1における特定のクローンについて引用されるプラスミドDNAの寄託サンプルからそのクローンを単離するために2つのアプローチが使用され得る。第一に、プラスミドを、配列番号Xに対応するポリヌクレオチドプローブを使用して、クローンをスクリーニングすることによって直接単離する。

【0967】

特に、30~40ヌクレオチドを有する特定のポリヌクレオチドを、報告されている配列に従って、Applied BiosystemsのDNA合成装置を使用して合成する。オリゴヌクレオチドを、例えば、³²P-ATPで、T4ポリヌクレオチドキナーゼを用いて標識し、そして慣用の方法に従って精製する。（例えば、Maniatisら、Molecular Cloning: A Laboratory Manual、Cold Spring Harbor Press、Cold Spring、NY（1982））。プラスミド混合物を、当業者に公知の技術（例えば、ベクター供給者によって提供される技術または上記で引用された関連の刊行物もしくは特許において提供される技術）を用いて、上記のような適切な宿主（例えば、XL-1 Blue（Stratagene））に形質転換する。形質転換体を1.5%寒天プレート（適切な選択薬剤、例えば、アンピシリンを含む）に、1プレートあたり約150の形質転換体（コロニー）の密度でプレートする。これらのプレートを、細菌コロニースクリーニングについての慣用の方法（例えば、Sambrookら、Molecular Cloning: A Laboratory Manual、第2版、（1989）、Cold Spring Harbor Laboratory Press、1.93~1.104頁）または当業者に公知の他の技術に従って、ナイロンメンブレンを使用してスクリーニングする。

20

30

【0968】

あるいは、配列番号Xの両端（すなわち、表1に規定されるクローンの5'NTおよび3'NTによって囲まれる配列番号Xの領域内）に由来する、17~20ヌクレオチドの2つのプライマーを合成し、そしてこれらを使用して、寄託されたcDNAプラスミドを鋳型として用いて、所望のcDNAを増幅する。ポリメラーゼ連鎖反応を、慣用の条件下で、例えば、0.5μgの上記cDNA鋳型との反応混合物の25μl中で実施する。簡便な反応混合物は、1.5~5mM MgCl₂、0.01%（w/v）ゼラチン、それぞれ20μMのdATP、dCTP、dGTP、dTTP、25pmolの各プライマーおよび0.25ユニットのTaqポリメラーゼである。35サイクルのPCR（94での変性を1分間；55でのアニールを1分間；72での伸長を1分間）を、Perkin-Elmer Cetus自動化サーマルサイクラーを用いて実施する。増幅産物をアガロースゲル電気泳動により分析し、そして予想される分子量のDNAバンドを切り出し、そして精製する。PCR産物を、DNA産物をサブクローニングおよび配列決定することによって選択された配列であることを確認する。

40

【0969】

50

寄託されたクローンに存在し得ない遺伝子の5'非コード部分または3'非コード部分の同定のために、いくつかの方法が利用可能である。これらの方法は、以下を含むがこれらに限定されない：フィルタープローブ探索、特異的プローブを使用するクローン富化、および当該分野で周知である5'および3'「RACE」プロトコルと類似するかまたは同一のプロトコル。例えば、5'RACEに類似する方法は、所望の全長転写物の5'末端の欠失を生成するために利用可能である(Fromont-Racineら、Nucleic Acids Res., 21(7):1683-1684(1993))。

【0970】

簡潔には、特定のRNAオリゴヌクレオチドを、全長遺伝子RNA転写物をおそらく含むRNAの集団の5'末端に連結する。連結されたRNAオリゴヌクレオチドに特異的なプライマーおよび目的の遺伝子の公知の配列に特異的なプライマーを含むプライマーセットを使用して、所望の全長遺伝子の5'部分をPCR増幅する。次いで、この増幅した産物を配列決定し得、そしてこれを使用して全長遺伝子を生成し得る。

10

【0971】

この上記の方法は、所望の供給源から単離された全RNAを用いて開始するが、ポリA+RNAをも使用し得る。次いで、RNA調製物を、必要ならばホスファターゼで処理して、後のRNAリガーゼ工程を妨害し得る分解または損傷RNAの5'リン酸基を排除し得る。次いで、ホスファターゼを不活化するべきであり、そしてRNAをメッセンジャーRNAの5'末端に存在するキャップ構造を除去するために、タバコ酸ピロホスファターゼを用いて処理するべきである。この反応は、次いでT4 RNAリガーゼを用いてRNAオリゴヌクレオチドに連結され得る、キャップ切断RNAの5'末端に5'リン酸基を残す。

20

【0972】

この改変型RNA調製物を、遺伝子特異的なオリゴヌクレオチドを用いる、第一鎖cDNA合成のための鋳型として使用する。第一鎖合成反応物を、連結されたRNAオリゴヌクレオチドに特異的なプライマーおよび目的の遺伝子の公知の配列に特異的なプライマーを用いる、所望の5'末端のPCR増幅のための鋳型として使用する。次いで、得られた生成物を配列決定し、そして分析して5'末端配列が所望の遺伝子に属することを確認する。

【0973】

(実施例2：ポリヌクレオチドに対応するゲノムクローンの単離)
ヒトゲノムP1ライブラリー(Genomic Systems, Inc.)を、実施例1に記載される方法に従って、配列番号Xに対応するcDNA配列について選択されたプライマーを用いるPCRによってスクリーニングする(Sambrookもまた参照のこと)。

30

【0974】

(実施例3：ポリペプチドの組織分布)
本発明のポリヌクレオチドのmRNA発現の組織分布を、とりわけ、Sambrookらによって記載されるノーザンプロット分析についてのプロトコルを用いて決定する。例えば、実施例1に記載される方法によって生成されるcDNAプローブを、rediprimeTM DNA labeling system(Amersham Life Science)を用いて、製造者の指示に従って、P³²で標識する。標識後、プローブを、CHROMA SPIN-100TMカラム(Clontech Laboratories, Inc.)を使用して、製造者のプロトコル番号PT1200-1に従って精製する。次いで、この精製した標識プローブを使用して、種々のヒト組織をmRNA発現について試験する。

40

【0975】

種々のヒト組織(H)またはヒト免疫系組織(IM)を含む多重組織ノーザン(MTN)プロット(Clontech)を、ExpressHybTMハイブリダイゼーション溶液(Clontech)を用いて、製造者のプロトコル番号PT1190-1に従って、

50

標識プローブで試験する。ハイブリダイゼーションおよび洗浄後、プロットをマウントして、そして -70 で一晩フィルムに曝露し、そしてフィルムを標準的な手順に従って現像する。

【0976】

(実施例4：ポリヌクレオチドの染色体マッピング)

オリゴヌクレオチドプライマーのセットを、配列番号Xの5'末端の配列に従って設計する。このプライマーは、好ましくは約100ヌクレオチドにわたる。次いで、このプライマーセットを、以下のセットの条件下でポリメラーゼ連鎖反応に使用する：95 で30秒；56 で1分；70 で1分。このサイクルを32回反復し、次いで1回、70 で5分間のサイクルを行う。個々の染色体または染色体フラグメントを含む体細胞ハイブリッドパネル(Bios, Inc)に加えて、ヒト、マウス、およびハムスターのDNAを鋳型として使用する。反応物を、8%ポリアクリルアミドゲルまたは3.5%アガロースゲルのいずれかで分析する。染色体マッピングを、特定の体細胞ハイブリッドにおける約100bpのPCRフラグメントの存在によって決定する。

10

【0977】

(実施例5：ポリペプチドの細菌発現)

本発明のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを、実施例1に概説するように、DNA配列の5'および3'末端に対応するPCRオリゴヌクレオチドプライマーを使用して増幅し、挿入フラグメントを合成する。cDNA挿入物を増幅するために使用されるプライマーは、発現ベクターに増幅産物をクローニングするために、好ましくはBamHIおよびXbaIのような制限部位、ならびに必要な場合、開始/終止コドンを含むべきである。例えば、BamHIおよびXbaIは、細菌発現ベクターpQE-9(Qiagen, Inc., Chatsworth, CA)の制限酵素部位に対応する。このプラスミドベクターは、抗生物質耐性(Amp^r)、細菌の複製起点(ori)、IPTGで調節可能なプロモーター/オペレーター(P/O)、リボソーム結合部位(RBS)、6-ヒスチジンタグ(6-His)、および制限酵素クローニング部位をコードする。

20

【0978】

pQE-9ベクターをBamHIおよびXbaIで消化し、そして、増幅されたフラグメントを細菌性RBSにおいて開始されるリーディングフレームを維持するpQE-9ベクターに連結する。次いで、連結混合物を、lacIリプレッサーを発現し、またカナマイシン耐性(Kan^r)を与えるプラスミドpREP4の多重コピーを含む、E. coli株M15/rep4(Qiagen, Inc.)を形質転換するために使用する。形質転換体を、それらのLBプレート上で生育できる能力によって同定し、そしてアンピシリン/カナマイシン耐性コロニーを選択する。プラスミドDNAを単離し、そして制限分析によって確認する。

30

【0979】

所望の構築物を含むクローンを、Amp(100 μg/ml)およびKan(25 μg/ml)の両方を補充したLB培地における液体培養で一晩(O/N)増殖させる。O/N培養物を、1:100~1:250の比で大量培養に接種するために使用する。細胞を、0.4~0.6の間の吸光度600(O.D.⁶⁰⁰)まで増殖させる。次いで、IPTG(イソプロピル-B-D-チオガラクトピラノシド)を最終濃度1mMになるように加える。IPTGは、lacIリプレッサーの不活化によりP/Oの活性化(clearing)を誘導し、遺伝子発現の増加を導く。

40

【0980】

細胞を、さらに3~4時間増殖させる。次いで、細胞を遠心分離(6000×gで20分間)によって収集する。細胞ペレットを、カオトロピック試薬である6MグアニジンHCl中に、4 で3~4時間攪拌することによって可溶化させる。細胞細片を遠心分離によって取り除き、そしてポリペプチドを含む上清を、ニッケル-ニトリロ-三酢酸(「Ni-NTA」)アフィニティー樹脂カラムにロードする(QIAGEN, Inc.(前出)より入手可能)。6×Hisタグを有するタンパク質は、Ni-NTA樹脂に高い親和性

50

で結合し、そして単純な1工程手順で精製され得る(詳細については、The Q I A e x p r e s s i o n i s t (1 9 9 5) Q I A G E N , I n c . (前出) を参照のこと)。

【0981】

手短に言えば、上清を、6 M グアニジン - H C l 、 p H 8 のカラムにロードし、カラムを、最初に10容量の6 M グアニジン - H C l 、 p H 8 で洗浄し、次いで10容量の6 M グアニジン - H C l 、 p H 6 で洗浄し、最後にポリペプチドを、6 M グアニジン - H C l 、 p H 5 で溶出する。

【0982】

次いで、精製したタンパク質を、リン酸緩衝化生理食塩水(PBS)または50 mM 酢酸ナトリウム、pH 6の緩衝液および200 mM NaClに対して透析することにより再生させる。あるいは、タンパク質はNi-NTAカラムに固定化している間に、首尾よく再折り畳みされ得る。推奨条件は以下の通りである: プロテアーゼインヒビターを含む、500 mM NaCl、20%グリセロール、20 mM Tris / HCl pH 7.4中の6 M ~ 1 M 尿素の直線勾配を使用する再生。再生は1.5時間以上の時間をかけて行うべきである。再生後、タンパク質を250 mM イミダゾールの添加によって溶出する。イミダゾールを、PBSまたは50 mM 酢酸ナトリウム pH 6の緩衝液および200 mM NaClに対する最終の透析工程によって除去する。精製したタンパク質を、4 で保存するか、または-80 で凍結する。

10

【0983】

上記の発現ベクターに加えて、本発明はさらに、本発明のポリヌクレオチドに作動可能に連結されたファージオペレーターおよびプロモーターエレメントを含む、pHE4aと呼ばれる発現ベクターを含む(ATCC受託番号209645、1998年2月25日に寄託)。このベクターは以下を含む: 1) 選択マーカーとしてのネオマイシンホスホトランスフェラーゼ遺伝子、2) E. coli複製起点、3) T5ファージプロモーター配列、4) 2つのlacオペレーター配列、5) シャイン-ダルガーノ配列、および6) ラクトースオペロンリプレッサー遺伝子(lacIq)。複製起点(oriC)は、pUC19(LTI, Gaithersburg, MD)に由来する。プロモーター配列およびオペレーター配列を合成的に作製する。

20

【0984】

NdeIおよびXbaI、BamHI、XhoI、またはAsp718によってベクターを制限処理し、制限生成物をゲルで泳動し、そしてより大きなフラグメント(スタッファー(stuffer)フラグメントは約310塩基対であるべきである)を単離することによって、DNAをpHEaに挿入し得る。DNA挿入物を、NdeI(5'プライマー)およびXbaI、BamHI、XhoI、またはAsp718(3'プライマー)に対する制限部位を有するPCRプライマーを使用して、実施例1に記載のPCRプロトコールに従って生成する。PCR挿入物を、ゲル精製し、そして適合する酵素で制限処理する。挿入物およびベクターを標準的なプロトコールに従って連結する。

30

【0985】

操作されたベクターは、上記のプロトコールにおいて、細菌系でタンパク質を発現させるために容易に置換され得る。

40

【0986】

(実施例6: 封入体からのポリペプチドの精製)

以下の代替的な方法は、ポリペプチドが封入体の形態で存在する場合に、E. coli中で発現されたポリペプチドを精製するために使用され得る。他に指定されない場合には、以下のすべての工程は4~10で行われる。

【0987】

E. coli発酵の生産期の完了後、細胞培養物を4~10に冷却し、そして15,000 rpmの連続遠心分離(Heraeus Sepatech)によって細胞を収集する。細胞ペーストの単位重量あたりのタンパク質の予想される収量および必要とされる精

50

製タンパク質の量に基づいて、細胞ペーストの適切な量（重量による）を、100 mM Tris、50 mM EDTA、pH 7.4を含む緩衝溶液に懸濁する。細胞を、高剪断ミキサーを使用して均質な懸濁液に分散させる。

【0988】

次いで、細胞をマイクロフルイダイザー（microfluidizer）（Microfluidics, Corp. または APV Gaulin, Inc.）に2回、4000 ~ 6000 psiで溶液を通すことによって溶解する。次いでホモジネートを、最終濃度0.5 M NaClになるようにNaCl溶液と混合し、続いて7000 x gで15分間遠心分離を行う。得られたペレットを、0.5 M NaCl、100 mM Tris、50 mM EDTA、pH 7.4を使用して再度洗浄する。

10

【0989】

得られた洗浄した封入体を、1.5 M塩酸グアニジン（GuHCl）で2 ~ 4時間可溶化する。7000 x gで15分間の遠心分離の後、ペレットを廃棄し、そしてポリペプチドを含む上清を4で一晚インキュベートしてさらなるGuHCl抽出を可能にする。

【0990】

不溶性粒子を除去するための高速遠心分離（30,000 x g）に続き、GuHCl可溶化タンパク質を、GuHCl抽出物と、50 mMナトリウム、pH 4.5、150 mM NaCl、2 mM EDTAを含む20容量の緩衝液とを、激しい攪拌で迅速に混合することによって、再折畳みさせる。再折畳みした希釈タンパク質溶液を、さらなる精製工程の前の12時間、混合しないで4で保つ。

20

【0991】

再折畳みされたポリペプチド溶液を清澄にするために、予め調製した40 mM酢酸ナトリウム、pH 6.0で平衡化された、適切な表面積を有する0.16 μmメンブレンフィルターを備える接触濾過ユニット（tangential filtration unit）（例えば、Filtron）を使用する。濾過したサンプルを、カチオン交換樹脂（例えば、Poros HS-50, Perseptive Biosystems）上にロードする。カラムを40 mM酢酸ナトリウム、pH 6.0で洗浄し、そして同じ緩衝液中の250 mM、500 mM、1000 mM、および1500 mM NaClで、段階的な様式で溶出する。溶出液の280 nmにおける吸光度を継続的にモニターする。画分を収集し、そしてSDS-PAGEによってさらに分析する。

30

【0992】

次いでポリペプチドを含む画分をプールし、そして4容量の水と混合する。次いで希釈されたサンプルを、予め調製した強アニオン（Poros HQ-50, Perseptive Biosystems）および弱アニオン（Poros CM-20, Perseptive Biosystems）交換樹脂の直列カラムのセットにロードする。カラムを40 mM酢酸ナトリウム、pH 6.0で平衡化する。両方のカラムを、40 mM酢酸ナトリウム、pH 6.0、200 mM NaClで洗浄する。次いでCM-20カラムを、10カラム容量の直線的勾配（0.2 M NaCl、50 mM酢酸ナトリウム、pH 6.0から1.0 M NaCl、50 mM酢酸ナトリウム、pH 6.5の範囲）を用いて溶出する。画分を、溶出液の定常A₂₈₀モニタリング下で収集する。次いで、（例えば、16% SDS-PAGEによって判明した）ポリペプチドを含む画分をプールする。

40

【0993】

得られたポリペプチドは、上記の再折畳みおよび精製工程の後で95%より高い純度を示すべきである。5 μgの精製タンパク質がロードされる場合、いかなる主たる夾雑バンドも、クマシーブルー染色した16% SDS-PAGEゲルから観察されないはずである。精製タンパク質はまた、エンドトキシン/LPS夾雑物について試験され得、そして代表的には、LPS含量はLALアッセイに従って、0.1 ng/ml未満である。

【0994】

（実施例7：パキユロウイルス発現系におけるポリペプチドのクローニングおよび発現）この実施例では、ポリペプチドを発現するために、プラスミドシャトルベクターpA2を

50

使用してポリヌクレオチドをバキュロウイルスに挿入する。この発現ベクターは、Autographa californica核多核体病ウイルス(AcMNPV)の強力なポリヘドリンプロモーター、続いてBamHI、XbaI、およびAsp718のような便利な制限部位を含む。シミアンウイルス40(「SV40」)のポリアデニル化部位を、効率的なポリアデニル化のために使用する。組換えウイルスの容易な選択のために、プラスミドは、同方向にある弱いDrosophilaプロモーターの制御下でE. coli由来の-lacZ遺伝子、続いてポリヘドリン遺伝子のポリアデニル化シグナルを含む。挿入された遺伝子は、クローニングしたポリヌクレオチドを発現する生存可能なウイルスを生成する、野生型ウイルスDNAとの細胞媒介性の相同組換えのためのウイルス配列と両側で隣接する。

10

【0995】

多くの他のバキュロウイルスベクター(例えば、pAc373、pVL941、およびpAcIM1)は、当業者が容易に理解するように、構築物が転写、翻訳、分泌などのために適切に配置されたシグナル(必要とされる場合、シグナルペプチドおよびインフレームなAUGを含む)を提供する限りにおいて、上記のベクターの代わりに使用され得る。このようなベクターは、例えば、Luckowら、Virology 170:31-39(1989)に記載される。

【0996】

具体的には、寄託されたクローンに含まれるcDNA配列を、適切な制限部位および開始/終止コドンを含むプライマーを用いて、実施例1に記載されるPCRプロトコルを使用して増幅させる。天然に存在するシグナル配列を使用して分泌タンパク質を産生する場合、pA2ベクターは第2のシグナルペプチドを必要としない。あるいは、ベクターは、Summersら、「A Manual of Methods for Baculovirus Vectors and Insect Cell Culture Procedures」、Texas Agricultural Experimental Station Bulletin No. 1555(1987)に記載される標準的な方法を用いて、バキュロウイルスリーダ配列を含むように改変され得る(pA2 GP)。

20

【0997】

増幅されたフラグメントを、市販のキット(「GeneClean」BIO 101 Inc., La Jolla, Ca)を使用して、1%アガロースゲルから単離する。次いでフラグメントを適切な制限酵素で消化し、そして再度1%アガロースゲルで精製する。

30

【0998】

プラスミドを対応する制限酵素で消化し、そして必要に応じて、当該分野で公知の慣用の手順を用いて、仔ウシ腸ホスファターゼを用いて脱リン酸化し得る。次いでDNAを、市販のキット(「GeneClean」BIO 101 Inc., La Jolla, Ca)を使用して、1%アガロースゲルから単離する。

【0999】

フラグメントおよび脱リン酸化したプラスミドを、T4 DNAリガーゼを用いて共に連結する。E. coli HB101またはXL-1 Blue(Stratagene Cloning Systems, La Jolla, CA)細胞のような他の適切なE. coli宿主を、連結混合液で形質転換し、そして培養プレート上に拡げる。プラスミドを含む細菌を、個々のコロニー由来のDNAを消化し、そして消化産物をゲル電気泳動によって分析することにより同定する。クローニングしたフラグメントの配列をDNA配列決定によって確認する。

40

【1000】

このポリヌクレオチドを含む5 μ gのプラスミドを、Felgnerら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:7413-7417(1987)によって記載されたりポフェクション法を使用して、1.0 μ gの市販の線状化バキュロウイルスDNA(「BaculoGoldTM baculovirus DNA」, Pharmin

50

gen, San Diego, CA)とともに同時トランスフェクトする。1 μ gのBaculoGoldTM ウイルスDNAおよび5 μ gのプラスミドを、50 μ lの無血清グレース培地(Life Technologies Inc., Gaithersburg, MD)を含む、マイクロタイタープレートの滅菌したウェル中で混合する。その後、10 μ lのリポフェクチンおよび90 μ lグレース培地を加え、混合し、そして室温で15分間インキュベートする。次いで、トランスフェクション混合液を、無血清グレース培地1mlを加えた35mm組織培養プレートに播種したSf9昆虫細胞(ATCC CRL 1711)に滴下して加える。次いでプレートを27°Cで5時間インキュベートする。次いで、トランスフェクション溶液をプレートから除去し、そして10%ウシ胎仔血清を補充した1mlのグレース昆虫培地を添加する。次いで培養を27°Cで4日間継続する。

10

【1001】

4日後、上清を収集し、そしてSummersおよびSmith(前出)によって記載されたようにブランクアッセイを行う。「Blue Gal」(Life Technologies Inc., Gaithersburg)を含むアガロースゲルを、gal発現クローン(青色に着色したブランクを生ずる)の容易な同定および単離を可能にするために使用する。(この型の「ブランクアッセイ」の詳細な説明はまた、Life Technologies Inc., Gaithersburg, によって配布される、昆虫細胞培養およびバキュロウイルス学のための使用者ガイド(9-10頁)の中に見出され得る)。適切なインキュベーションの後、青色に着色したブランクをマイクロピペッター(例えば、Eppendorf)のチップで拾う。次いで、組換えウイルスを含む寒天を、200 μ lのグレース培地を含む微小遠心分離チューブ中で再懸濁し、そして組換えバキュロウイルスを含む懸濁液を、35mmディッシュに播種したSf9細胞に感染させるために使用する。4日後、これらの培養ディッシュの上清を収集し、次いで4°Cで保存する。

20

【1002】

ポリペプチドの発現を確認するために、10%熱非働化FBSを補充したグレース培地中でSf9細胞を増殖させる。細胞を、約2の感染多重度(「MOI」)でポリヌクレオチドを含む組換えバキュロウイルスに感染させる。放射性標識したタンパク質を所望する場合には、6時間後に培地を除去し、そしてメチオニンおよびシステインを含まないSF9000 II培地(Life Technologies Inc., Rockville, MDから入手可能)に置き換える。42時間後、5 μ Ciの³⁵S-メチオニンおよび5 μ Ciの³⁵S-システイン(Amershamから入手可能)を添加する。細胞をさらに16時間インキュベートし、次いで遠心分離によって収集する。上清中のタンパク質および細胞内タンパク質を、SDS-PAGE、次いで(放射性標識した場合)オートラジオグラフィーによって分析する。

30

【1003】

精製タンパク質のアミノ末端のアミノ酸配列の微量配列決定法を使用して、産生されたタンパク質のアミノ末端配列を決定し得る。

【1004】

40

(実施例8:哺乳動物細胞におけるポリペプチドの発現)

本発明のポリペプチドを、哺乳動物細胞中で発現させ得る。代表的な哺乳動物発現ベクターは、mRNAの転写の開始を仲介するプロモーターエレメント、タンパク質コード配列、ならびに転写の終結および転写物のポリアダニル化に必要なシグナルを含む。さらなるエレメントは、エンハンサー、コザック配列、および、RNAスプライシングのドナーおよびアクセプター部位に隣接する介在配列を含む。非常に効率的な転写は、SV40由来の初期および後期プロモーター、レトロウイルス(例えばRSV、HTLV I、HIV I)由来の長い末端反復(LTR)、およびサイトメガロウイルス(CMV)の初期プロモーターを用いて達成される。しかし、細胞エレメント(例えば、ヒトアクチンプロモーター)もまた、使用され得る。

50

【1005】

本発明を実施する際の使用に適切な発現ベクターは、例えば、pSVLおよびpMSG (Pharmacia, Uppsala, Sweden)、pRSVcat (ATCC 37152)、pSV2dhfr (ATCC 37146)、pBC12MI (ATCC 67109)、pCMVSPORT2.0、ならびにpCMVSPORT3.0のようなベクターを含む。使用され得る哺乳動物宿主細胞としては、ヒトHeLa細胞、293細胞、H9細胞およびJurkat細胞、マウスNIH3T3細胞およびC127細胞、Cos1細胞、Cos7細胞およびCV1細胞、ウズラQC1-3細胞、マウスL細胞、ならびにチャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞が挙げられる。

【1006】

あるいは、ポリペプチドは、染色体に組み込まれたポリヌクレオチドを含む、安定な細胞株中で発現され得る。dhfr、gpt、ネオマイシン、ハイグロマイシンのような選択マーカーを用いる同時トランスフェクションは、トランスフェクトされた細胞の同定および単離を可能にする。

10

【1007】

トランスフェクトされた遺伝子はまた、大量のコードされたタンパク質を発現するために増幅され得る。DHFR (ジヒドロ葉酸還元酵素) マーカーは、目的の遺伝子の数百または数千さえものコピーを有する細胞株の開発に有用である。(例えば、Altら、J. Biol. Chem. 253:1357-1370 (1978); Hamlin、Biochem. et Biophys. Acta、1097:107-143 (1990); Pageら、Biotechnology 9:64-68 (1991)を参照のこと)。別の有用な選択マーカーは、酵素グルタミンシンターゼ (GS) である (Murphyら、Biochem J. 227:277-279 (1991); Bebbingtonら、Bio/Technology 10:169-175 (1992))。これらのマーカーを使用して、哺乳動物細胞を選択培地中で増殖させ、そしてもっとも高い耐性を有する細胞を選択する。これらの細胞株は、染色体に組み込まれた増幅された遺伝子を含む。チャイニーズハムスター卵巣 (CHO) およびNSO細胞は、タンパク質の産生のためにしばしば使用される。

20

【1008】

プラスミドpSV2-dhfr (ATCC受託番号37146) の誘導體である、発現ベクターpC4 (ATCC受託番号209646) およびpC6 (ATCC受託番号209647) は、ラウス肉腫ウイルス (Cullenら、Molecular and Cellular Biology, 438-447 (1985年3月)) の強力なプロモーター (LTR)、およびCMVエンハンサー (Boshartら、Cell 41:521-530 (1985)) のフラグメントを含む。例えば、BamHI、XbaI、およびAsp718の制限酵素切断部位を有する複数のクローニング部位は、目的の遺伝子のクローニングを容易にする。ベクターはまた、3'イントロン、ラットプレプロインシュリン遺伝子のポリアデニル化および終結シグナル、ならびに、SV40初期プロモーターの制御下にあるマウスDHFR遺伝子を含む。

30

【1009】

具体的には、例えば、プラスミドpC6は、適切な制限酵素によって消化され、次いで当該分野で公知の手順に従って、仔ウシ腸ホスファターゼ (phosphate) を使用して脱リン酸化される。次いで、ベクターを1%アガロースゲルから単離する。

40

【1010】

本発明のポリヌクレオチドは、必要ならば適切な制限部位および開始/終止コドンを含むプライマーを使用して、実施例1に概説するプロトコルに従って増幅される。分泌のために必要な場合、ベクターは異種シグナル配列を含むように改変され得る (例えば、WO96/34891を参照のこと)。

【1011】

増幅フラグメントを、市販のキット (「GeneClean」、BIO 101 Inc

50

、L a J o l l a , C a .) を使用して1%アガロースゲルから単離する。次いで、フラグメントを、適切な制限酵素で消化し、そして再度1%アガロースゲル上で精製する。

【1012】

次いで、増幅フラグメントを同じ制限酵素で消化し、そして1%アガロースゲルで精製する。次いで、単離されたフラグメントおよび脱リン酸化したベクターを、T4 DNAリガーゼで連結する。次いで、E. coli HB101またはXL-1 Blue細胞を形質転換し、そしてプラスミドpC6に挿入されたフラグメントを含む細菌を、例えば、制限酵素分析を用いて同定する。

【1013】

活性なDHFR遺伝子を欠失するチャニーズハムスター卵巣細胞を、トランスフェクションに使用する。5 μgの発現プラスミドpC6を、リポフェクチンを用いて、0.5 μgのプラスミドpSVneoとともに同時トランスフェクトする(Felgnerら、前出)。プラスミドpSV2-neoは、優性選択マーカーであるところの、G418を含む抗生物質の群に対する耐性を付与する酵素をコードするTn5由来のneo遺伝子を含む。細胞を、1 mg/mlのG418を補充したマイナスMEMに播種する。2日後、細胞をトリプシン処理し、そして10、25、または50 ng/mlのメトトレキサートおよび1 mg/mlのG418を補充したマイナスMEM中のハイブリドーマクロニングプレート(Greiner, Germany)中に播種する。約10~14日後、単一のクローンをトリプシン処理し、次いでメトトレキサートの異なる濃度(50 nM、100 nM、200 nM、400 nM、800 nM)を使用して、6ウェルのペトリ皿または10 mlのフラスコに播種する。次いで、メトトレキサートの最高濃度で増殖するクローンを、さらに高い濃度(1 μM、2 μM、5 μM、10 mM、20 mM)のメトトレキサートを含む新たな6ウェルプレートに移す。同じ手順を、100~200 μMの濃度で増殖するクローンが得られるまで繰り返す。所望の遺伝子産物の発現を、例えば、SDS-PAGEおよびウエスタンブロットによって、または逆相HPLC分析によって分析する。

【1014】

(実施例9:タンパク質融合物)

本発明のポリペプチドは、好ましくは、他のタンパク質に融合される。これらの融合タンパク質は、種々の適用について使用され得る。例えば、本発明のポリペプチドの、Hisタグ、HAタグ、プロテインA、IgGドメイン、およびマルトース結合タンパク質への融合は、精製を容易にする(実施例5を参照のこと; EPA 394, 827; Traunekerら、Nature 331: 84-86 (1988)もまた参照のこと)。これらのポリペプチドはまた、分泌および細胞内往来(trafficking)(例えば、KDEL)を促進するために、異種ポリペプチド配列に融合され得る。さらに、IgG-1、IgG-3、およびアルブミンへの融合は、インビボでの半減期を増大させる。本発明のポリペプチドに融合した核局在化シグナルは、タンパク質を特定の細胞下(subcellular)局在に標的化し得る。一方、共有結合ヘテロダイマーまたはホモダイマーは、融合タンパク質の活性を増大または減少させ得る。融合タンパク質はまた、1つより多い機能を有するキメラ分子を作製し得る。最後に、融合タンパク質は、非融合タンパク質と比較して、融合タンパク質の可溶性および/または安定性を増大させ得る。上記の融合タンパク質の全ての型は、ポリペプチドのIgG分子への融合を概説する以下のプロトコル、または実施例5に記載されるプロトコルを改変することによって作製され得る。

【1015】

簡単には、IgG分子のヒトFc部分は、以下に記載の配列の5'および3'末端にわたるプライマーを使用してPCR増幅され得る。これらのプライマーはまた、発現ベクター(好ましくは、哺乳動物発現ベクター)へのクローニングを容易にする都合の良い制限酵素部位および必要であれば開始/終止コドンを含むべきである。

10

20

30

40

50

【1016】

例えば、pC4（受託番号第209646号）が使用される場合、ヒトFc部分は、BamHIクローニング部位に連結され得る。3' BamHI部位が破壊されるべきであることに注意のこと。次に、ヒトFc部分を含むベクターが、BamHIによって再び制限処理され、ベクターを線状化し、そして実施例1に記載するPCRプロトコルによって単離された本発明のポリヌクレオチドが、このBamHI部位に連結される。ポリヌクレオチドは、終止コドンなしにクローニングされ、そうでなければ、融合タンパク質は産生されないことに注意すること。

【1017】

天然に存在するシグナル配列が分泌タンパク質を産生するために使用される場合、pC4は、第二のシグナルペプチドを必要としない。あるいは、天然に存在するシグナル配列が使用されない場合、ベクターは、異種シグナル配列を含むように改変され得る（例えば、WO 96/34891を参照のこと）。

（ヒトIgG Fc領域）

【1018】

【化23】

```
GGGATCCGGAGCCCAAATCTTCTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCGACCTGAATTCG
AGGGTGCACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACTC
CTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTAAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTAC
GTGGACGGCGTGGAGGTGCATAAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGT
ACCGTGTGGTCAAGCGTCTCACCGTCTGCACCCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGC
AAGGTCTCCAACAAGCCCTCCCAACCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAGGGCAGCC
CCGAGAACCACAGGTGTACACCCCTGCCCCATCCCGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTACGCC
TGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG
CCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGC
AAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGCTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGA
GGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGAGTGGCAGCGG
CGCGACTCTAGAGGAT (配列番号1)
```

（実施例10：ポリペプチドの処方）

本発明はまた、治療剤の有効量を被験体に投与することによる、疾患または障害（例えば、本明細書において開示される1つ以上の任意の疾患または障害）の処置および/または予防の方法を提供する。治療剤とは、本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチド（フラグメントおよび改変体を含む）、これらのアゴニストまたはアンタゴニスト、および/またはこれらに対する抗体の薬学的に受容可能なキャリア型（例えば、無菌キャリア）との組み合わせを意味する。

【1019】

ポリペプチド組成物を、個々の患者の臨床状態（特に、分泌ポリペプチド単独処置の副作用）、送達部位、投与方法、投与計画および当業者に公知の他の因子を考慮に入れ、医療実施基準（good medical practice）を遵守する方式で処方および投薬する。従って、本明細書において目的とする「有効量」は、このような考慮により決定される。

【1020】

一般的提案として、用量当り、非経口的に投与されるポリペプチドの合計薬学的有効量は、患者体重の、約1μg/kg/日～10mg/kg/日の範囲にあるが、上記のようにこれは治療的裁量に委ねられる。さらに好ましくは、このホルモンについて、この用量は、少なくとも0.01mg/kg/日、そして最も好ましくはヒトに対して約0.01mg/kg/日と約1mg/kg/日との間である。連続投与する場合、代表的には、ポリペプチドを約1μg/kg/時間～約50μg/kg/時間の投薬速度で1日に1～4回の注射かまたは連続皮下注入（例えばミニポンプを用いる）のいずれかにより投与する。静脈内用バッグ溶液もまた使用し得る。変化を観察するために必要な処置期間および応答

が生じる処置後の間隔は、所望の効果に応じて変化するのである。

【1021】

本発明のポリペプチドを含む薬学的組成物を、経口的、直腸内、非経口的、槽内 (i n t r a c i s t e m a l l y)、腔内、腹腔内、局所的 (粉末、軟膏、ゲル、点滴剤、または経皮パッチによるなど)、口内あるいは経口または鼻腔スプレーとして投与する。「薬学的に受容可能なキャリア」とは、非毒性の固体、半固体または液体の充填剤、希釈剤、被包材または任意の型の製剤補助剤をいう。本明細書で用いる用語「非経口的」とは、静脈内、筋肉内、腹腔内、胸骨内、皮下および関節内の注射および注入を含む投与の様式をいう。

【1022】

ポリペプチドはまた、徐放性システムにより適切に投与される。徐放性組成物の適切な例は、例えば、フィルムまたはマイクロカプセルの成形品の形態の半透過性ポリマーマトリックスを包含する。徐放性マトリックスとしては、ポリラクチド (米国特許第 3 , 7 7 3 , 9 1 9 号、E P 5 8 , 4 8 1)、L - グルタミン酸および - エチル - L - グルタメートのコポリマー (S i d m a n ら、B i o p o l y m e r s 2 2 : 5 4 7 - 5 5 6 (1 9 8 3))、ポリ (2 - ヒドロキシエチルメタクリレート) (L a n g e r ら、J . B i o m e d . M a t e r . R e s . 1 5 : 1 6 7 - 2 7 7 (1 9 8 1)、および L a n g e r , C h e m . T e c h . 1 2 : 9 8 - 1 0 5 (1 9 8 2))、エチレンビニルアセテート (R . L a n g e r ら) またはポリ - D - (-) - 3 - ヒドロキシ酪酸 (E P 1 3 3 , 9 8 8) が挙げられる。徐放性組成物はまた、リポソームに封入されたポリペプチドを包含する。分泌ポリペプチドを含有するリポソームは、それ自体が公知である方法により調製される : D E 3 , 2 1 8 , 1 2 1 ; E p s t e i n ら、P r o c . N a t l . A c a d . S c i . U S A , 8 2 : 3 6 8 8 - 3 6 9 2 (1 9 8 5) ; H w a n g ら、P r o c . N a t l . A c a d . S c i . U S A , 7 7 : 4 0 3 0 - 4 0 3 4 (1 9 8 0) ; E P 5 2 , 3 2 2 ; E P 3 6 , 6 7 6 ; E P 8 8 , 0 4 6 ; E P 1 4 3 , 9 4 9 ; E P 1 4 2 , 6 4 1 ; 日本国特許出願第 8 3 - 1 1 8 0 0 8 号 ; 米国特許第 4 , 4 8 5 , 0 4 5 号および同第 4 , 5 4 4 , 5 4 5 号 ; ならびに E P 第 1 0 2 , 3 2 4 号。通常、リポソームは、小さな (約 2 0 0 ~ 8 0 0 オングストローム) 単層状型であり、脂質含有量は、約 3 0 モル % コレステロールよりも多く、選択された割合が、最適分泌ポリペプチド治療のために調整される。

【1023】

非経口投与のために、1つの実施態様において、一般に、ポリペプチドは、それを所望の程度の純度で、薬学的に受容可能なキャリア、すなわち、用いる投薬量および濃度でレシピエントに対して毒性がなく、かつ処方物の他の成分と適合するものと、単位投薬量の注射可能な形態 (溶液、懸濁液または乳濁液) で混合することにより処方される。例えば、この処方物は、好ましくは、酸化剤、およびポリペプチドに対して有害であることが知られている他の化合物を含まない。

【1024】

一般に、ポリペプチドを液体キャリアまたは微細分割固体キャリアあるいはその両方と均一および緊密に接触させて処方物を調製する。次に、必要であれば、生成物を所望の処方物に成形する。好ましくは、キャリアは、非経口的キャリアであり、より好ましくはレシピエントの血液と等張である溶液である。このようなキャリアビヒクルの例としては、水、生理食塩水、リンゲル溶液およびデキストロース溶液が挙げられる。不揮発性油およびオレイン酸エチルのような非水性ビヒクルもまた、リポソームと同様に本明細書において有用である。

【1025】

キャリアは、等張性および化学的安定性を増強する物質のような微量の添加剤を適切に含有する。このような物質は、用いる投薬量および濃度でレシピエントに対して毒性がなく、そしてこのような物質としては、リン酸塩、クエン酸塩、コハク酸塩、酢酸および他の有機酸またはその塩類のような緩衝剤 ; アスコルビン酸のような抗酸化剤 ; 低分子量 (約

10

20

30

40

50

10 残基未満)ポリペプチド(例えば、ポリアルギニンまたはトリペプチド);血清アルブミン、ゼラチンまたは免疫グロブリンのようなタンパク質;ポリビニルピロリドンのような親水性ポリマー;グリシン、グルタミン酸、アスパラギン酸またはアルギニンのようなアミノ酸;セルロースまたはその誘導体、ブドウ糖、マンノースまたはデキストリンを含む、単糖類、二糖類、および他の炭水化物;EDTAのようなキレート剤;マンニトールまたはソルビトールのような糖アルコール;ナトリウムのような対イオン;および/またはポリソルベート、ポロキサマーもしくはPEGのような非イオン性界面活性剤が挙げられる。

【1026】

ポリペプチドは、代表的には約0.1mg/ml~100mg/ml、好ましくは1~10mg/mlの濃度で、約3~8のpHで、このようなビヒクル中に処方される。前記の特定の賦形剤、キャリアまたは安定化剤を使用することにより、ポリペプチド塩が形成されることが理解される。

【1027】

治療的投与に用いられる任意のポリペプチドは無菌状態であり得る。滅菌濾過膜(例えば0.2ミクロンメンブレン)で濾過することにより無菌状態は容易に達成される。一般に、治療用ポリペプチド組成物は、滅菌アクセスポートを有する容器、例えば、皮下用注射針で穿刺可能なストッパー付の静脈内用溶液バッグまたはバイアルに配置される。

【1028】

ポリペプチドは、通常、単位用量または複数用量容器、例えば、密封アンプルまたはバイアルに、水溶液または再構成するための凍結乾燥処方物として貯蔵される。凍結乾燥処方物の例として、10mlのバイアルに、滅菌濾過した1%(w/v)ポリペプチド水溶液5mlを充填し、そして得られる混合物を凍結乾燥する。凍結乾燥したポリペプチドを注射用静菌水を用いて再構成して注入溶液を調製する。

【1029】

本発明はまた、本発明の薬学的組成物の1つ以上の成分を満たした一つ以上の容器を備える薬学的パックまたはキットを提供する。医薬品または生物学的製品の製造、使用または販売を規制する政府機関が定めた形式の通知が、このような容器に付属し得、この通知は、ヒトへの投与に対する製造、使用または販売に関する政府機関による承認を表す。さらに、本発明のポリペプチドを他の治療用化合物と組み合わせて使用し得る。

【1030】

本発明の治療剤は、単独で、またはアジュバントと組み合わせて投与され得る。本発明の治療剤とともに投与され得るアジュバントとしては、以下が挙げられるが、それらに限定されない:ミョウバン、ミョウバン+デオキシコール酸(ImmunoAg)、MTP-PE(Biocine Corp.)、QS21(Genentech, Inc.)、BCG(例えば、THERACYS(登録商標))、MPL、およびCorynebacterium parvumの生育不能な調製物。特定の実施形態において、本発明の治療剤は、ミョウバンと組み合わせて投与される。別の特定の実施形態において、本発明の治療剤は、QS-21と組み合わせて投与される。本発明の治療剤とともに投与され得るさらなるアジュバントとしては、以下が挙げられるが、これらに限定されない:モノホスホリル脂質免疫調節剤、Adjuvax 100a、QS-21、QS-18、CRL1005、アルミニウム塩、MF-59、およびVirksomalアジュバント技術。本発明の治療剤とともに投与され得るワクチンとしては、以下が挙げられるが、これらに限定されない:MMR(麻疹、流行性耳下腺炎、風疹)、ポリオ(polio)、水痘、破傷風/ジフテリア、A型肝炎、B型肝炎、B型インフルエンザ、百日咳(whooping cough)、肺炎、インフルエンザ、ライム病、ロタウイルス、コレラ、黄熱病、日本脳炎、ポリオ(polio myelitis)、狂犬病、腸チフス、および百日咳(perтусis)に対する防御に指向するワクチン。組み合わせは、例えば、混合物として同時に、別々であるが同時にもしくは並行して;または逐次的にかのいずれかで投与され得る。これは、組み合わせられた薬剤が治療混合物としてともに投与される提示を含み、

そして組み合わせた薬剤が、別々であるが同時に（例えば、同じ個体へ別々の静脈ラインを通じてのように）投与される手順もまた含む。「組み合わせ」投与は、第1に、続いて第2に与えられる化合物または薬剤のうちの1つを別々に投与することをさらに含む。

【1031】

本発明の治療剤は、単独で、または他の治療的薬剤と組み合わせて投与され得る。本発明の治療剤とともに投与され得る治療的薬剤としては、以下が挙げられるが、それらに限定されない：化学療法剤、抗生物質、ステロイド性および非ステロイド性の抗炎症剤、従来の免疫療法剤、および/または以下に記載される治療的処置。組み合わせは、例えば、混合物として同時に、別々であるが同時にもしくは並行して；または逐次的にかのいずれかで投与され得る。これは、組み合わされた薬剤が、治療混合物としてともに投与される提示を含み、そして組み合わせた薬剤が、別々であるが同時に（例えば、同じ個体へ別々の静脈ラインを通じてのように）投与される手順もまた含む。「組み合わせ」投与は、第1に、続いて第2に与えられる化合物または薬剤のうちの1つを別々に投与することをさらに含む。

10

【1032】

1つの実施形態において、本発明の治療剤は、抗凝固剤との組み合わせにおいて投与される。本発明の組成物と共に投与され得る抗凝固剤は、以下を含むがこれらに限定されない：ヘパリン、低分子量ヘパリン、ワルファリンナトリウム、（例えば、COUMADIN（登録商標））、ジクマロール、4-ヒドロキシクマリン、アニシンジオン（例えば、MIRADONTM）、アセノクマロール（例えば、ニクマロン、SINTHROMETM）、インダン-1,3-ジオン、フェンプロクモモン（例えば、MARCUMARTM）、ビスクマ酢酸エチル（例えば、TROMEXANTM）、およびアスピリン。特定の実施形態において、本発明の組成物は、ヘパリンおよび/またはワルファリンとの組み合わせにおいて投与される。別の特定の実施形態において、本発明の組成物は、ワルファリンとの組み合わせにおいて投与される。別の特定の実施形態において、本発明の組成物は、ワルファリンおよびアスピリンとの組み合わせにおいて投与される。別の特定の実施形態において、本発明の組成物は、ヘパリンとの組み合わせにおいて投与される。別の特定の実施形態において、本発明の組成物は、ヘパリンおよびアスピリンとの組み合わせにおいて投与される。

20

【1033】

別の実施形態において、本発明の治療剤は、血栓溶解剤との組み合わせにおいて投与される。本発明の組成物と共に投与され得る血栓溶解剤は、以下を含むがこれらに限定されない：プラスミノゲン、lys-プラスミノゲン、2-抗プラスミン、ストレプトキナーゼ（streptokinase）（例えば、KABIKINASETM）、アニストレプラーゼ（antireplase）（例えば、EMINASETM）、組織プラスミノゲン賦活剤（t-PA、アルテプラーゼ（altevasse）、ACTIVASETM）、ウロキナーゼ（例えば、ABBOKINASETM）、サウルプラーゼ（sauruplase）（プロウロキナーゼ、単鎖ウロキナーゼ）、およびアミノカプロン酸（例えば、AMICARTM）。特定の実施形態において、本発明の組成物は、組織プラスミノゲン賦活剤およびアスピリンとの組み合わせにおいて投与される。

30

40

【1034】

別の実施形態において、本発明の治療剤は、抗血小板薬と共に投与される。本発明の組成物と共に投与され得る抗血小板薬は、アスピリン、ジピリダモール（例えば、PERSANTINETM）、およびチクロピジン（例えば、TICLIDTM）を含むが、これらに限定されない。

【1035】

特定の実施形態において、本発明の治療剤との組み合わせにおける、抗凝固剤、血栓溶解剤、および/または抗血小板薬の使用は、血栓症、動脈血栓、静脈血栓、血栓塞栓症、肺動脈塞栓症、アテローム性動脈硬化症、心筋梗塞、一過性脳虚血発作、不安定狭心症の予防、診断、および/または処置について考慮される。特定の実施形態において、本発明の

50

治療剤との組み合わせにおける、抗凝固剤、血栓溶解剤、および/または抗血小板薬の使用は、伏在静脈移植片の閉塞の予防のために、血管形成術の手順に伴い得るような処置した周囲で起きる血栓症(periprocedural thrombosis)の危険性を減らすために、非リウマチ性心房細動を含む心房細動を有する患者における発作の危険性を減らすために、人工心臓弁および/または増帽弁疾患に関連した塞栓症の危険性を減らすために、意図され得る。本発明の治療剤の単独、または抗凝固剤、血栓溶解剤、および/もしくは抗血小板薬と組み合わせにおける、他の使用は、体外装置(例えば、脈管内カニューレ、血液透析の患者における脈管アクセスシャント、血液透析機、および心肺バイパス機)における閉塞の予防が挙げられるが、それらに限定されない。

【1036】

特定の実施形態において、本発明の治療剤は、抗レトロウイルス薬剤、ヌクレオシド/ヌクレオチド逆転写酵素インヒビター(NRTI)、非ヌクレオシド逆転写酵素インヒビター(NNRTI)、および/またはプロテアーゼインヒビター(PI)と組み合わせで投与される。本発明の治療剤と組み合わせで投与され得るNRTIとしては、以下が挙げられるが、これらに限定されない: RETROVIRTM(ジドブジン/AZT)、VIDEXTM(ジダノシン/ddI)、HIVIDTM(ザルシタピン/ddC)、ZERITTM(スタブジン/d4T)、EPIVIRTM(ラミブジン/3TC)、およびCOMBIVIRTM(ジドブジン/ラミブジン)。本発明の治療剤と組み合わせで投与され得るNNRTIとしては、以下が挙げられるが、これらに限定されない: VIRAMUNETM(ネビラピン)、RESCRIPTORTM(デラビルジン)、およびSUSTIVATM(エファビレンズ)。本発明の治療剤と組み合わせで投与され得るプロテアーゼインヒビターとしては、以下が挙げられるが、これらに限定されない: CRIXIVANTM(インディナビル(indinavir))、NORVIRTM(リトナビル(ritonavir))、INVIRASETM(サキナビル(saquinavir))、およびVIRACEPTTM(ネルフィナビル(nelfinavir))。特定の実施形態において、抗レトロウイルス薬剤、ヌクレオシド逆転写酵素インヒビター、非ヌクレオシド逆転写酵素インヒビター、および/またはプロテアーゼインヒビターは、AIDSを処置するため、および/またはHIV感染を予防もしくは処置するために、本発明の治療剤との任意の組み合わせで使用され得る。

【1037】

さらなるNRTIとしては、以下が挙げられる: LODENOSINETM(F-ddA; 酸安定性アデノシンNRTI; Triangle/Abbott); COVIRACILTM(エムトリシタピン(emtricitabine)/FTC; ラミブジン(lamivudine)(3TC)と構造的に関連するが、インビトロにおいて3~10倍強い活性を有する; Triangle/Abbott); dOTC(BCH-10652, 同様に、ラミブジンと構造的に関連するが、ラミブジン耐性分離菌のかなりの部分に対する活性を有する; Biochem Pharma); Adefovir(FDAによって、抗HIV治療についての認可を拒絶された; Gilead Sciences); PREVEON(登録商標)(Adefovir Dipivoxil, アデノフォビル(adefovir)の活性なプロドラッグ; その活性形態はPMEA-ppである); TENOFVIRTM(ビス-POC PMPA, PMPAプロドラッグ; Gilead); DAPD/DXG(DAPDの活性な代謝産物; Triangle/Abbott); D-D4FC(3TCと関連, AZT/3TC-耐性ウイルスに対する活性を有する); GW420867X(Glaxo Wellcome); ZIAGENTM(アバカビル(abacavir)/159U89; Glaxo Wellcome Inc.); CS-87(3'-アジド-2', 3'-ジデオキシウリジン; WO 99/66936); ならびに、-L-FD4Cおよび-L-FddCのS-アシル-2-チオエチル(SATE)-保有プロドラッグ形態(WO 98/17281)。

【1038】

さらなるNNRTIとしては、以下が挙げられる: COACTINONTM(Emivi 50

10

20

30

40

50

rine / MKC - 442, HEPTクラスの強力なNNRTI; Triangle / Abbott); CAPRAVIRINETM (AG - 1549 / S - 1153, K103N変異を含むウイルスに対して活性を有する、次世代のNNRTI; Agouron); PNU - 142721 (その前駆体デラビルジン (delavirdine) よりも20~50倍高い活性を有し、そしてK103N変異体に対して活性である; Pharmacia & Upjohn); DPC - 961およびDPC - 963 (エファビレンツ (efavirenz) の第二世代誘導体, K103N変異を有するウイルスに対して活性であるように設計された; Dupont); GW - 420867X (HBY097よりも25倍高い活性を有し、そしてK103N変異体に対して活性である; Glaxo Wellcome); CALANOLIDE A (ラテックス樹木由来の天然に存在する因子; Y181CおよびK103N変異のいずれかまたは両方を含むウイルスに対して活性); ならびに、Propolis (WO 99 / 49830)。

10

【1039】

さらなるプロテアーゼインヒビターとしては以下が挙げられる: LOPINAVIRTM (ABT378 / r; Abbott Laboratories); BMS - 232632 (アザペプチド; Bristol-Myers Squibb); TIPRANAVIRTM (PNU - 140690, 非ペプチド性 (non-peptidic) ジヒドロピロン; Pharmacia & Upjohn); PD - 178390 (非ペプチド性ジヒドロピロン; Parke-Davis); BMS 232632 (アザペプチド; Bristol-Myers Squibb); L - 756, 423 (インディナビル (indinavir) のアナログ; Merck); DMP - 450 (サイクリック尿素化合物; Avid & Dupont); AG - 1776 (プロテアーゼインヒビター耐性ウイルスに対してインビトロで活性を有するペプチド模倣物; Agouron); VX - 175 / GW - 433908 (アンブレナビル (amprenavir) のホスフェートプロドラッグ; Vertex & Glaxo Wellcome); CGP61755 (Ciba); およびAGENERASETM (アンブレナビル (amprenavir); Glaxo Wellcome Inc.)。

20

【1040】

さらなる抗レトロウイルス薬剤としては、融合インヒビター / gp41結合剤が挙げられる。融合インヒビター / gp41結合剤としては、T - 20 (その休止状態においてgp41に結合し、そしてフソジェニック (fusogenic) 状態への形質転換を妨げるHIV gp41膜貫通タンパク質の外部ドメインの残基643~678由来のペプチド; Trimeris) およびT - 1249 (第二世代の融合インヒビター; Trimeris) が挙げられる。

30

【1041】

さらなる抗レトロウイルス薬剤としては、融合インヒビター / ケモカインレセプターアンタゴニストが挙げられる。融合インヒビター / ケモカインレセプターアンタゴニストとしては、以下が挙げられる: CXCR4アンタゴニスト (例えば、AMD 3100 (バイサイklam (bicyclam)), SDF - 1およびそのアナログ, ならびにALX40 - 4C (カチオン性ペプチド), T22 (18アミノ酸のペプチド; Trimeris) ならびにT22アナログであるT134およびT140); CCR5アンタゴニスト (例えば、RANTES (9 - 68), AOP - RANTES, NNY - RANTES, およびTAK - 779); ならびにCCR5 / CXCR4アンタゴニスト (例えば、NSC 651016 (ジスタマイシンアナログ)。CCR2B, CCR3, およびCCR6アンタゴニストもまた含まれる。ケモカインレセプターアゴニスト (例えば、RANTES, SDF - 1, MIP - 1, MIP - 1 など) もまた融合を阻害し得る。

40

【1042】

さらなる抗レトロウイルス薬剤は、インテグラーゼインヒビターを含む。インテグラーゼインヒビターとしては、以下が挙げられる: ジカフェオイルキナ (DFQA) 酸 (dicaffeoylquinic (DFQA) acids); L - チコリ酸 (L - chicoric acid)。

50

ric acid) (ジカフェオイル酒石 (DCTA) 酸); キナリザリン (quinizarin; QLC) および関連のアントラキノン; ZINTEVIRTM (AR177、真のインテグラーゼインヒビターではなく、細胞表面で恐らく作用するオリゴヌクレオチド; Arondex); ならびに WO 98/50347 に開示されるようなナフトール。

【1043】

さらなる抗レトロウイルス薬剤としては、以下が挙げられる: ヒドロキシ尿素様化合物 (例えば、BCX-34 (プリンヌクレオシドホスホリラーゼインヒビター; Biocryst)); リボヌクレオチドレダクターゼインヒビター (例えば、DIDOXTM (Molecules for Health)); イノシンモノホスフェートデヒドロゲナーゼ (IMP DH) インヒビター (例えば、VX-497 (Vertex)); ならびにマイコフォリック酸 (mycopholic acid) (例えば、Cellcept (マイコフェノラートモフェチル (mycophenolate mofetil); Roche)。

10

【1044】

さらなる抗レトロウイルス薬剤としては、以下が挙げられる: ウイルスインテグラーゼのインヒビター、ウイルスゲノム核転座のインヒビター (例えば、アリーレンビス (メチルケトン) 化合物); HIV 侵入のインヒビター (例えば、AOP-RANTES, NNY-RANTES, RANTES-IgG 融合タンパク質, RANTES およびグリコサミノグリカン (GAG) の可溶性複合体, および AMD-3100); ヌクレオキヤプシドジンクフィンガーインヒビター (例えば、ジチアン (dithiane) 化合物); HIV Tat および Rev の標的; ならびに薬剤エンハンサー (pharmacoenhancer) (例えば、ABT-378)。

20

【1045】

他の抗レトロウイルス治療剤および補助治療剤としては、以下が挙げられる: サイトカインおよびリンホカイン (例えば、MIP-1, MIP-1, SDF-1, IL-2, PROLEUKINTM (アルデスロイキン (aldesleukin) / L2-7001; Chiron), IL-4, IL-10, IL-12, および IL-13); インターフェロン (例えば、IFN-2a); TNFs, NF-B, GM-CSF, M-CSF, および IL-10 のアンタゴニスト; 免疫活性を調節する薬剤 (例えば、シクロスポリン および プレドニゾン); ワクチン、例えば、RemuneTM (HIV 免疫原), APL 400-003 (Apollon), 組換え gp120 および フラグメント, 二価 (B/E) 組換えエンペローブ糖タンパク質, rgp120CM235, MN rgp120, SF-2 rgp120, gp120/可溶性 CD4 複合体, JR-FL タンパク質, 不連続 gp120 C3/C4 ドメイン由来の分枝合成ペプチド, 融合能を有する免疫原, ならびに Gag, Pol, Nef, および Tat ワクチン; 遺伝子に基づく治療剤、例えば、遺伝的抑制エレメント (GSE; WO 98/54366), および イントラカイン (intrakine) (遺伝子改変された CCケモカイン (ERへと標的化されて、新たに合成された CCR5 の表面発現をブロックする (Yangら, PNAS 94: 11567-72 (1997)); Chenら, Nat. Med. 3: 1110-16 (1997)); 抗体、例えば、抗 CXCR4 抗体 12G5, 抗 CCR5 抗体 2D7, 5C7, PA8, PA9, PA10, PA11, PA12, および PA14, 抗 CD4 抗体 Q4120 および RPA-T4, 抗 CCR3 抗体 7B11, 抗 gp120 抗体 17b, 48d, 447-52D, 257-D, 268-D および 50.1, 抗 Tat 抗体, 抗 TNF-抗体, および モノクローナル抗体 33A; アリール炭化水素 (AH) レセプターアゴニスト および アンタゴニスト、例えば、TCDD, 3, 3', 4, 4', 5-ペンタクロロピフェニル, 3, 3', 4, 4'-テトラクロロピフェニル, および -ナフトフラボン (WO 98/30213); ならびに、抗酸化剤、例えば、-L-グルタミン-L-システインエチルエステル (-GCE; WO 99/56764)。

30

40

【1046】

50

さらなる実施形態では、本発明の治療剤は、抗ウイルス薬剤と組み合わせて投与される。本発明の治療剤と共に投与され得る抗ウイルス薬剤としては、アシクロビル、リバビリン、アマンタジン、およびレマンチジン (remantidine) が挙げられるが、これらに限定されない。

【1047】

他の実施形態では、本発明の治療剤は、抗日和見感染症薬剤と組み合わせて投与され得る。本発明の治療剤と組み合わせて投与され得る抗日和見感染症薬剤としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：TRIMETHOPRIM-SULFAMETHOXAZOLETM、DAPSONETM、PENTAMIDINETM、ATOVAQUONETM、ISONIAZIDTM、RIFAMPINTM、PYRAZINAMIDETM、ETHAMBUTOLTM、RIFABUTINTM、CLARITHROMYCINTM、AZITHROMYCINTM、GANCICLOVIRTM、FOSCARNETTM、CIDOFOVIRTM、FLUCONAZOLETM、ITRACONAZOLETM、KETOCONAZOLETM、ACYCLOVIRTM、FAMCICOLVIRTM、PYRIMETHAMINETM、LEUCOVORINTM、NEUPOGENTM (フィルグラスチム (filgrastim) / G-CSF)、およびLEUKINETM (サルグラモスチン (sargramostim) / GM-CSF)。

特定の実施形態において、本発明の治療剤は、日和見Pneumocystis carinii肺炎感染を予防的に処置または予防するために、TRIMETHOPRIM-SULFAMETHOXAZOLETM、DAPSONETM、PENTAMIDINETM、および/またはATOVAQUONETMとの任意の組み合わせで使用される。別の

特定の実施形態において、本発明の治療剤は、日和見Mycobacterium avium複合感染を予防的に処置または予防するために、ISONIAZIDTM、RIFAMPINTM、PYRAZINAMIDETM、および/またはETHAMBUTOLTMとの任意の組み合わせで使用される。別の特定の実施形態において、本発明の治療剤は、日和見Mycobacterium tuberculosis感染を予防的に処置または予防するために、RIFABUTINTM、CLARITHROMYCINTM、および/またはAZITHROMYCINTMとの任意の組み合わせで使用される。別の

特定の実施形態において、本発明の治療剤は、日和見サイトメガロウイルス感染を予防的に処置または予防するために、GANCICLOVIRTM、FOSCARNETTM、および/またはCIDOFOVIRTMとの任意の組み合わせで使用される。別の特定の実施形態において、本発明の治療剤は、日和見真菌感染を予防的に処置または予防するために、FLUCONAZOLETM、ITRACONAZOLETM、および/またはKETOCONAZOLETMとの任意の組み合わせで使用される。別の特定の実施形態において、本発明の治療剤は、日和見単純ヘルペスウイルスI型および/またはII型感染を予防的に処置または予防するために、ACYCLOVIRTMおよび/またはFAMCICOLVIRTMとの任意の組み合わせで使用される。別の特定の実施形態において、

本発明の治療剤は、日和見Toxoplasma gondii感染を予防的に処置または予防するために、PYRIMETHAMINETMおよび/またはLEUCOVORINTMとの任意の組み合わせで使用される。別の特定の実施形態において、本発明の治療剤は、日和見細菌感染を予防的に処置または予防するために、LEUCOVORINTMおよび/またはNEUPOGENTMとの任意の組み合わせで使用される。

【1048】

さらなる実施形態において、本発明の治療剤は、抗生物質薬剤と組み合わせて投与される。本発明の治療剤とともに投与され得る抗生物質としては、アモキシシリン、 β -ラクタマーゼ、アミノ配糖体、 β -ラクタム (糖ペプチド)、 β -ラクタマーゼ、クリンダマイシン、クロラムフェニコール、セファロsporin、シプロフロキサシン、エリスロマイシン、フルオロキノロン類、マクロライド系抗生物質、メトロニダゾール、ペニシリン、キノロン類、ラパマイシン、リファンピン、ストレプトマイシン、スルホンアミド、テトラサイクリン、トリメトプリム、トリメトプリム-スルファメトキサゾール、およびバンコマ

イシンが挙げられるが、これらに限定されない。

【1049】

他の実施形態において、本発明の治療剤は、免疫刺激物質と組み合わせて投与される。本発明の治療剤と組み合わせて投与され得る免疫刺激物質としては、レバミゾール（例えば、ERGAMISILTM）、イソプリノシン（例えば、INOSIPLEXTM）、インターフェロン（例えば、インターフェロン）、およびインターロイキン（例えば、IL-2）が挙げられるが、これらに限定されない。

【1050】

他の実施形態では、本発明の治療剤は、免疫抑制剤と組み合わせて投与される。本発明の治療剤と組み合わせて投与され得る免疫抑制剤としては、ステロイド類、シクロスポリン、シクロスポリンアナログ、シクロホスファミドメチルプレドニゾン、プレドニゾン、アザチオプリン、FK-506、15-デオキシスペルグアリン（15-deoxyspergualin）、および応答するT細胞の機能を抑制することによって作用する他の免疫抑制剤が挙げられるが、これらに限定されない。本発明の治療剤と組み合わせて投与され得る他の免疫抑制剤としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：プレドニゾン、メトトレキサート、サリドマイド、メトキサレン、ラパマイシン、レフルノミド、ミゾリピン（BREDININTM）、ブレキナル、デオキシスペルグアリン（deoxyspergualin）、およびアザスピラン（azaspirane）（SKF 105685）、ORTHOCLONE OKT（登録商標）3（マウスモノクローナル抗CD3抗体）、SANDIMMUNETM、NEORALTM、SANGDYATM（シクロスポリン）、PROGRAF（登録商標）（FK506、タクロリムス）、CELLCEPT（登録商標）（マイコフェノラートモフェチル（mycophenolate mofetil）、その活性な代謝産物は、ミコフェノール酸である）、IMURANTM（アザチオプリン）、グルココルチコステロイド、副腎皮質ステロイド（例えば、DELTAZONETM（プレドニゾン）およびHYDELTRASOLTM（プレドニゾン）、FOLEXTMおよびMEXATETM（メトトレキサート）、OXSORALEN-ULTRATM（メトキサレン）ならびにRAPAMUNETM（シロリムス（sirolimus））。特定の実施形態では、免疫抑制剤は、器官または骨髄移植の拒絶を予防するために使用され得る。

【1051】

さらなる実施形態において、本発明の治療剤は、単独でかまたは1以上の静脈内免疫グロブリン調製物と組み合わせて投与される。本発明の治療剤とともに投与され得る静脈内免疫グロブリン調製物としては、GAMMARTM、IVEEGAMTM、SANDOGLLOBULINTM、GAMMAGARD S/DTM、ATGAMTM（抗胸腺細胞グロブリン）およびGAMIMUNETMが挙げられるが、これらに限定されない。特定の実施形態において、本発明の治療剤は、移植治療（例えば、骨髄移植）において静脈内免疫グロブリン調製物と組み合わせて投与される。

【1052】

特定の実施形態では、本発明の治療剤は、単独または抗炎症性薬剤と組み合わせて投与される。本発明の治療剤と共に投与され得る抗炎症性薬剤としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：コルチコステロイド（例えば、ベタメタゾン、ブデソニド、コルチゾン、デキサメタゾン、ヒドロコルチゾン、メチルプレドニゾン、プレドニゾン、プレドニゾン、およびトリアムシノロン）、非ステロイド性抗炎症薬物（例えば、ジクロフェナク、ジフルニサル、エトドラク、フェノプロフェン、フロクタフェニン、フルルビプロフェン、イブプロフェン、インドメタシン、ケトプロフェン、メクロフェナム酸塩、メフェナム酸、メロキシカム、ナブメトン、ナプロキセン、オキサプロジン、フェニルブタゾン、ピロキシカム、スリンダク、テノキシカム、チアプロフェン酸、およびトルメチン）、ならびに抗ヒスタミン薬、アミノアリアルカルボン酸誘導体、アリアル酢酸誘導体、アリアル酪酸誘導体、アリアルカルボン酸、アリアルプロピオン酸誘導体、ピラゾール類、ピラゾロン類、サリチル酸誘導体、チアジンカルボキサミド類、e-アセトアミドカ

ブロン酸、S-アデノシルメチオニン、3-アミノ-4-ヒドロキシ酪酸、アミキセトリン (amixetrine)、ベンダザック、ベンジダミン、ブコローム、ジフェンピラミド、ジタゾール、エモルファゾン、グアイアズレン、ナブメトン、ニメスリド、オルゴテイン、オキサセプロール、パラニリン (paranyline)、ペリソキサール、ピフオキシム、プロカゾン、プロキサゾール、およびテニダブ。

【1053】

さらなる実施形態において、本発明の組成物は、単独でかまたは抗脈管形成薬剤と組み合わせて投与される。本発明の組成物とともに投与され得る抗脈管形成薬剤としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：アンギオスタチン (Entremed, Rockville, MD)、トロポニン-1 (Boston Life Sciences, Boston, MA)、抗侵襲性因子、レチノイン酸およびその誘導体、パクリタキセル (タキソール)、スラミン、メタロプロテイナーゼ-1の組織インヒビター、メタロプロテイナーゼ-2の組織インヒビター、VEGI、プラスミノゲンアクチベーターインヒビター-1、プラスミノゲンアクチベーターインヒビター-2および種々の形態のより軽い「d群」遷移金属。

10

【1054】

より軽い「d群」遷移金属としては、例えばバナジウム、モリブデン、タングステン、チタン、ニオブおよびタンタル種が挙げられる。そのような遷移金属種は、遷移金属錯体を形成し得る。上記の遷移金属種の適切な錯体としては、オキソ遷移金属錯体が挙げられる。

20

【1055】

バナジウム錯体の代表的な例としては、バナデート錯体およびバナジル錯体のようなオキソバナジウム錯体が挙げられる。適切なバナデート錯体としては、例えばメタバナジン酸アンモニウム、メタバナジン酸ナトリウムおよびオルトバナジン酸ナトリウムのようなメタバナデート錯体およびオルトバナデート錯体が挙げられる。適切なバナジル錯体としては、例えばバナジルアセチルアセトネートおよび硫酸バナジル (硫酸バナジルー水和物および硫酸バナジル三水和物のような硫酸バナジル水和物を含む) が挙げられる。

【1056】

タングステン錯体およびモリブデン錯体の代表的な例としてはまた、オキソ錯体が挙げられる。適切なオキソタングステン錯体としては、タングステート錯体およびタングステンオキシド錯体が挙げられる。適切なタングステート錯体としては、タングステン酸アンモニウム、タングステン酸カルシウム、タングステン酸ナトリウム二水和物およびタングステン酸が挙げられる。適切なタングステンオキシドとしては、タングステン (IV) オキシドおよびタングステン (VI) オキシドが挙げられる。適切なオキソモリブデン錯体としては、モリブデート、モリブデンオキシドおよびモリブデニル錯体が挙げられる。適切なモリブデート錯体としては、モリブデン酸アンモニウムおよびその水和物、モリブデン酸ナトリウムおよびその水和物、ならびにモリブデン酸カリウムおよびその水和物が挙げられる。適切なモリブデンオキシドとしては、モリブデン (VI) オキシド、モリブデン (VI) オキシドおよびモリブデン酸が挙げられる。適切なモリブデニル錯体としては、例えばモリブデニルアセチルアセトネートが挙げられる。他の適切なタングステン錯体およびモリブデン錯体としては、例えばグリセロール、酒石酸および糖由来のヒドロキソ誘導体が挙げられる。

30

40

【1057】

広範な種々の他の抗脈管形成因子もまた、本発明の状況において利用され得る。代表的な例としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：血小板因子4；硫酸プロタミン；硫酸化キチン誘導体 (クイーンクラブ (queen crab) の殻から調製される) (Murataら、Cancer Res. 51: 22~26, 1991)；硫酸化多糖ペプチドグリカン複合体 (SP-PG) (この化合物の機能は、ステロイド (例えば、エストロゲン) およびクエン酸タモキシフェンの存在によって、増強され得る)；スタウロスポリン；基質代謝の調節因子 (例えば、プロリンアナログ、シスヒドロキシプロリン

50

、d, L-3, 4-デヒドロプロリン、チアプロリン、
 ジピリジル、アミノプロ
 ピオニトリルフマレートを含む)；4-プロピル-5-(4-ピリジニル)-2(3H)
 -オキサゾロン；メトトレキサート；ミトザントロン；ヘパリン；インターフェロン；2
 マクログロブリン-血清；ChIMP-3(Pavloffら、J. Bio. Chem.
 267:17321~17326、1992)；キモスタチン(Tomkinsonら、
 Biochem J. 286:475~480、1992)；シクロデキストリンテトラ
 デカサルフェート；エポネマイシン；カンプトテシン；フマギリン(Ingberら、N
 ature 348:555~557、1990)；チオリンゴ酸金ナトリウム(「GS
 T」；MatsubaraおよびZiff、J. Clin. Invest. 79:144
 0~1446、1987)；アンチコラゲナーゼ-血清；2-抗プラスミン(Holm
 esら、J. Biol. Chem. 262(4):1659~1664、1987)；ピ
 サントレン(National Cancer Institute)；ロベンザリット
 ニナトリウム(N-(2)-カルボキシフェニル-4-クロロアントロニル酸(chlo
 roanthronilic acid)ナトリウム、すなわち「CCA」；Take
 uchiら、Agents Actions 36:312~316、1992)；およ
 びメタロプロテイナーゼインヒビター(例えば、BB94)。

10

20

30

40

50

【1058】

本発明の状況において同様に利用され得るさらなる抗脈管形成因子としては、サリドマイ
 ド(Celgene, Warren, NJ)；血管拡張性ステロイド；AGM-1470
 (H. BremおよびJ. Folkman J. Pediatr. Surg. 28:44
 5-51(1993))；インテグリン v 3アンタゴニスト(C. Storgard
 ら、J. Clin. Invest. 103:47-54(1999))；カルボキシアミ
 ノイミダゾール(carboxynaminolimidazole)；カルボキシアミド
 トリアゾール(CAI)(National Cancer Institute, Be
 thesda, MD)；Conbretastatin A-4(CA4P)(OXIG
 ENE, Boston, MA)；Squalamine(Magainin Pharm
 aceuticals, Plymouth Meeting, PA)；TNP-470,
 (Tap Pharmaceuticals, Deerfield, IL)；ZD-01
 01 AstraZeneca(London, UK)；APRA(CT2584)；B
 enefin, Byrostatin-1(SC339555)；CGP-41251(
 PKC 412)；CM101；Dexrazoxane(ICRF187)；DMXA
 A；エンドスタチン；Flavopridiol；Genestein；GTE；Imm
 Ther；Iressa(ZD1839)；Octreotide(ソマトスタチン)；
 Panretin；Penacillamine；Photopoint；PI-88；
 Prinomastat(AG-3340)Purlytin；Suradista(F
 CE26644)；タモキシフェン(Nolvadex)；Tazarotene；テト
 ラチオモリブデート；Xeloda(Capecitabine)；および5-フルオロ
 ウラシルが挙げられる。

【1059】

本発明の組成物と組み合わせて投与され得る抗脈管形成薬剤は、種々の機構を通じて作用
 し得、これらの機構としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：細胞外マト
 リックスのタンパク質分解の阻害、内皮細胞-細胞外マトリックス接着分子の機能のプロ
 ック、増殖因子のような脈管形成誘導因子の機能と拮抗すること、および増殖している内
 皮細胞において発現されるインテグリンレセプターの阻害。細胞外マトリックスタンパク
 質分解を妨害し、そして本発明の組成物と組み合わせて投与され得る抗脈管形成インヒビ
 ターの例としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：AG-3340(Ag
 ouron, La Jolla, CA)、BAY-12-9566(Bayer, Wes
 t Haven, CT)、BMS-275291(Bristol Myers Squ
 ibb, Princeton, NJ)、CGS-27032A(Novartis, Ea
 st Hanover, NJ)、Marimastat(British Biotec

h, Oxford, UK) および Metastat (Aeterna, St-Foy, Quebec)。内皮細胞 - 細胞外マトリックス接着分子の機能をブロックすることにより作用し、そして本発明の組成物と組み合わせて投与され得る抗脈管形成インヒビターの例としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない: EMD-121974 (Merck KcgaA Darmstadt, Germany) および Vitaxin (Ixsys, La Jolla, CA / Medimmune, Gaithersburg, MD)。脈管形成誘導因子と直接拮抗するかまたはこの誘導因子を阻害することにより作用し、そして本発明の組成物と組み合わせて投与され得る抗脈管形成薬剤の例としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない: Angiozyme (Ribozyme, Boulder, CO)、抗 VEGF 抗体 (Genentech, S. San Francisco, CA)、PTK-787 / ZK-225846 (Novartis, Basel, Switzerland)、SU-101 (Sugen, S. San Francisco, CA)、SU-5416 (Sugen / Pharmacia Upjohn, Bridgewater, NJ)、および SU-6668 (Sugen)。他の抗脈管形成薬剤は、脈管形成を間接的に阻害するように作用する。本発明の組成物と組み合わせて投与され得る脈管形成の間接的インヒビターの例としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない: IM-862 (Cytran, Kirkland, WA)、インターフェロン-、IL-12 (Roche, Nutley, NJ)、およびペントサンポリスルフェート (Georgetown University, Washington, DC)。

10

20

【1060】

特定の実施形態において、抗脈管形成薬剤と組み合わせた本発明の組成物の使用は、自己免疫疾患（例えば、本明細書中に記載の自己免疫疾患）の処置、予防、および / または回復のために意図される。

【1061】

特定の実施形態において、抗脈管形成薬剤と組み合わせた本発明の組成物の使用は、関節炎の処置、予防、および / または回復のために意図される。さらに特定の実施形態において、抗脈管形成薬剤と組み合わせた本発明の組成物の使用は、慢性関節リウマチの処置、予防、および / または回復のために意図される。

【1062】

別の実施形態において、本発明のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドは、脈管形成タンパク質または脈管形成タンパク質をコードする他のポリヌクレオチドと組合せて投与され得る。本発明の組成物とともに投与され得る脈管形成タンパク質の例としては、酸性および塩基性の線維芽細胞増殖因子、VEGF-1、VEGF-2、VEGF-3、上皮増殖因子 および、血小板由来内皮細胞増殖因子、血小板由来増殖因子、腫瘍壊死因子、肝細胞増殖因子、インスリン様増殖因子、コロニー刺激因子、マクロファージコロニー刺激因子、顆粒球 / マクロファージコロニー刺激因子、および一酸化窒素シンターゼが挙げられるが、これらに限定されない。

30

【1063】

さらなる実施形態において、本発明の組成物は、化学療法剤と組み合わせて投与される。本発明の治療剤とともに投与され得る化学療法剤としては、アルキル化剤（例えば、ナイトロジェンマスタード（例えば、メクロレタミン、シクロホスファミド、シクロホスファミドイホスファミド (Cyclophosphamide Ifosfamide)、メルファラン (L-サルコリジン)、およびクロラムブシル)、エチレンイミン、およびメチルメルアミン（例えば、ヘキサメチルメラミンおよびチオテパ）、硫酸アルキル（例えば、ブスルファン）、ニトロソ尿素類（例えば、カルムスチン (BCNU)、ロムスチン (CCNU)、セムスチン (メチルCCNU)、およびストレプトゾシン (ストレプトゾシン)、トリアゼン (triazene)（例えば、ダカルバジン、(DTIC; ジメチルトリアゼノイミダゾールカルボキシアミド (dimethyl triazenoidimidazolecarboxamide)）、葉酸アナログ（例えば、メトトレキセート

40

50

(アムトプテリン)、ピリミジンアナログ(例えば、フルオロウラシル(5-フルオロウラシル; 5-FU)、フロクスリジン(フルオロデオキシウリジン; FudR)、およびシタラビン(シトシンアラビノシド)、プリンアナログおよびプリン関連阻害剤(例えば、メルカプトプリン(6-メルカプトプリン; 6-MP)、チオグアニン(6-チオグアニン; TG)、およびペントスタチン(2'-デオキシコフォルマイシン))、ピンカアルカロイド(例えば、ピンブラスチン(VLB、硫酸ピンブラスチン)およびピンクリスチン(硫酸ピンクリスチン)、エピポドフィルロトキシン(epipodophyllotoxin)(例えば、エトポシドおよびテニポシド)、抗生物質(例えば、ダクチノマイシン(アクチノマイシンD)、ダウノルピシン(ダウノマイシン; ルビドマイシン)、ドキシソルピシン、プレオマイシン、プリカマイシン(Plincamycin)(ミトラマイシン)、およびマイトマシ(マイトマイシンC)、酵素(例えば、L-アスパラギナーゼ)、生物学的応答改変因子(例えば、インターフェロン およびインターフェロン-2b)、白金錯体組成物(例えば、シスプラチン(cis-DDP)およびカルボプラチン)、アントラシンジオン(anthracycline)(ミトキサントロン)、置換尿素(例えば、ヒドロキシ尿素)、メチルヒドラジン誘導体(例えば、プロカルバジン(N-メチルヒドラジン; MIH)、アドレノコルチコステロイド(例えば、プレドニゾロン)、プロゲステロン(例えば、ヒドロキシプロゲステロンカプロエート(Hydroxyprogesterone caproate)、メドロキシプロゲステロン、酢酸メドロキシプロゲステロン、および酢酸メゲストロール)、エストロゲン(例えば、ジエチルスチルベストロール(DES)、ジエチルスチルベストロールジホスフェート、エストラジオール、およびエチニルエストラジオール)、抗エストロゲン(例えば、タモキシフェン)、アンドロゲン(プロピオン酸テストステロン、およびフルオキシメステロン)、抗アンドロゲン(例えば、フルタミド)、ゴナドトロピン放出ホルモンアナログ(例えば、ロイプロリド)、他のホルモンおよびホルモンアナログ(例えば、メチルテストステロン、エストラムスチン、エストラムスチンリン酸ナトリウム、クロロトリアニセン、およびテストラクトン)、および他のもの(例えば、ジカルバジン(dicarbazine)、グルタミン酸、およびミトタン)が挙げられるが、これらに限定されない。

10

20

30

40

50

【1064】

1つの実施形態において、本発明の組成物は、1つ以上の以下の薬物と組み合わせて投与される：インフリキシマブ(infliximab)(これはまた、RemicadeTM Centocor, Inc.として公知である)、トロケイド(Trocade)(Roche, RO-32-3555)、レフルノミド(Leflunomide)(これはまた、Hoechst Marion Roussel製のAravaTMとして公知である)、KineretTM(これは、Amgen, Inc製のアナキンラ(Anakinra)として、また公知である、IL-1レセプターアンタゴニスト)。

【1065】

特定の実施形態において、本発明の組成物は、CHOP(シクロホスファミド、ドキシソルピシン、ピンクリスチン、およびプレドニゾン)と組み合わせて投与されるか、またはCHOPの成分の1以上の組み合わせと共に投与される。ある実施形態において、本発明の組成物は、抗CD20抗体(ヒトモノクローナル抗CD20抗体)と組み合わせて投与される。別の実施形態において、本発明の組成物は、抗CD20抗体およびCHOPと組合せて、または抗CD20抗体およびCHOPの1以上の成分(特に、シクロホスファミドおよび/またはプレドニゾン)の任意の組み合わせと共に投与される。特定の実施形態において、本発明の組成物は、リツキシマブ(Rituximab)と組み合わせて投与される。さらなる実施形態において、本発明の組成物は、リツキシマブおよびCHOPと組合せとか、またはリツキシマブおよびCHOPの1以上の成分(特に、シクロホスファミドおよび/またはプレドニゾン)の任意の組み合わせと共に投与される。特定の実施形態において、本発明の組成物は、トシツモマブ(tositumomab)と組み合わせて投与される。さらなる実施形態において、本発明の組成物は、トシツモマブおよびC

H O Pと共に、またはトシツモマブおよびC H O Pの1以上の成分(特に、シクロホスファミドおよび/またはプレドニゾロン)の任意の組み合わせと共に投与される。抗C D 2 0抗体は、放射性同位元素、毒素、または細胞毒性プロドラッグと任意に結合され得る。

【1066】

別の特定の実施形態において、本発明の組成物は、Z e v a l i n^{T M}と組み合わせて投与される。さらなる実施形態において、本発明の治療剤は、Z e v a l i n^{T M}およびC H O Pと共に、またはZ e v a l i n^{T M}およびC H O Pの1以上の成分(特に、シクロホスファミドおよび/またはプレドニゾロン)の任意の組み合わせと共に投与される。Z e v a l i n^{T M}を、1以上の放射性同位元素と結合させ得る。特に好ましい同位元素は、⁹⁰Yおよび¹¹¹Inである。

10

【1067】

さらなる実施形態において、本発明の治療剤は、サイトカインと組み合わせて投与される。本発明の治療剤とともに投与され得るサイトカインとしては、I L 2、I L 3、I L 4、I L 5、I L 6、I L 7、I L 10、I L 12、I L 13、I L 15、抗C D 4 0、C D 4 0 L、I F N - およびT N F - が挙げられるが、これらに限定されない。別の実施形態において、本発明の治療剤は、任意のインターロイキン(I L - 1、I L - 1、I L - 2、I L - 3、I L - 4、I L - 5、I L - 6、I L - 7、I L - 8、I L - 9、I L - 10、I L - 11、I L - 12、I L - 13、I L - 14、I L - 15、I L - 16、I L - 17、I L - 18、I L - 19、I L - 20およびI L - 21を含むが、これらに限定されない)と共に投与され得る。

20

【1068】

1つの実施形態において、本発明の治療剤は、T N Fファミリーのメンバーと組み合わせて投与される。本発明の治療剤とともに投与され得るT N F分子、T N F関連分子、またはT N F様分子としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない:可溶性形態のT N F -、リンホトキシン - (L T -、T N F - としても公知)、L T - (複合ヘテロトリマーL T - 2 - 中に見出される)、O P G L、F a s L、C D 2 7 L、C D 3 0 L、C D 4 0 L、4 - 1 B B L、D c R 3、O X 4 0 L、T N F - (国際公開番号W O 9 6 / 1 4 3 2 8)、A I M - I (国際公開番号W O 9 7 / 3 3 8 9 9)、エンドカイン - (国際公開番号W O 9 8 / 0 7 8 8 0)、O P G、およびニュートロカイン - (国際公開番号W O 9 8 / 1 8 9 2 1)、O X 4 0、および神経成長因子(N G F)、

30

【1069】

さらなる実施形態において、本発明の治療剤は、脈管形成タンパク質と組み合わせて投与される。本発明の治療剤とともに投与され得る脈管形成タンパク質としては、欧州特許番号E P - 3 9 9 8 1 6に開示されるようなグリオーム由来増殖因子(G D G F);欧州特許番号E P - 6 8 2 1 1 0に開示されるような血小板由来増殖因子A(P D G F - A);欧州特許番号E P - 2 8 2 3 1 7に開示されるような血小板由来増殖因子B(P D G F - B);国際公開番号W O 9 2 / 0 6 1 9 4号に開示されるような胎盤増殖因子(P I G F);H a u s e rら、G o r w t h F a c t o r s、4 : 2 5 9 - 2 6 8 (1 9 9 3)に開示されるような胎盤増殖因子2(P I G F - 2);国際公開番号W O 9 0 / 1 3 6 4 9号に開示されるような血管内皮増殖因子(V E G F);欧州特許番号E P - 5 0 6 4 7 7に開示されるような血管内皮増殖因子A(V E G F - A);国際公開番号W O 9 6 / 3 9 5 1 5号に開示されるような血管内皮増殖因子2(V E G F - 2);血管内皮増殖因子B(V E G F - 3);国際公開番号W O 9 6 / 2 6 7 3 6号に開示されるような血管内皮増殖因子B - 1 8 6(V E G F - B 1 8 6);国際公開番号W O 9 8 / 0 2 5 4 3号に開

40

50

示されるような血管内皮増殖因子D (VEGF-D) ; 国際公開番号WO98/07832号に開示されるような血管内皮増殖因子D (VEGF-D) ; およびドイツ国特許番号DE19639601に開示されるような血管内皮増殖因子E (VEGF-E) が挙げられるが、これらに限定されない。上記の参考文献は、本明細書でその全体が参考として援用される。

【1070】

さらなる実施形態において、本発明の治療剤は、線維芽細胞増殖因子と組み合わせて投与される。本発明の治療剤とともに投与され得る線維芽細胞増殖因子としては、FGF-1、FGF-2、FGF-3、FGF-4、FGF-5、FGF-6、FGF-7、FGF-8、FGF-9、FGF-10、FGF-11、FGF-12、FGF-13、FGF-14、およびFGF-15が挙げられるが、これらに限定されない。

【1071】

さらなる実施形態において、本発明の治療剤は、造血成長因子と組み合わせて投与される。本発明の治療剤とともに投与され得る造血成長因子としては、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子(GM-CSF)(サルグラモスチム(sargramostim)、LEUKINETM、PROKINETM)、顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)(フィルグラスチム、NEUPOGENTM)、マクロファージコロニー刺激因子(M-CSF、CSF-1)、エリスロポエチン(エポエチン、EPOGENTM、PROCRITTM)、幹細胞因子(SCF、c-kitリガンド、鉄剤(steel factor))、巨核球コロニー刺激因子、PIXY321(GMCSF/IL-3融合タンパク質)、インターロイキン、特にIL-1からIL-12までのいずれか1つ以上、インターフェロン または トロンボポエチンが挙げられるが、これらに限定されない。

【1072】

特定の実施形態において、本発明の治療剤は、アドレナリン遮断薬(例えば、アセブロール、アテノロール、ベタキソロール、ビソプロロール(bisoprolol)、カルテロール(cartecolol)、ラベタロール、メトプロロール、ナドロール、オクスプレノロール、ペンブトロール(penbutolol)、ピンドロール、プロプラノロール、ソタロール、およびチモロール)と組み合わせて投与される。

【1073】

別の実施形態において、本発明の治療剤は、抗不整脈薬(例えば、アデノシン、アミドロン、ブレチリウム、ジキタリス、ジゴキシン、ジギトキシン、ジリアゼム(diliazem)、ジソピラミド、エスモロール、フレカイニド、リドカイン、メキシレチン、モリシジン(moricizine)、フェニトイン、ナロカインアミド、N-アセチルプロカインアミド、プロパフェノン、プロプラノロール、キニジン、ソタロール、トカイニド、およびベラパミル)と組み合わせて投与される。

【1074】

別の実施形態において、本発明の治療剤は、利尿薬(例えば、炭酸脱水酵素阻害薬(例えば、アセタゾラミド、ジクロルフェナミド、およびメタゾルアミド)、浸透圧性利尿薬(例えば、グリセリン、イソソルビド、マンニトール、および尿素)、Na⁺-K⁺-2Cl⁻共輸送阻害利尿薬(例えば、フロセミド、ブメタニド、アゾセミド(azosemide)、ピレタニド、トリパミド、エタクリン酸、ムゾリミン(muzolimine)、およびトルセミド(torsemide))、チアジドおよびチアジド様利尿薬(例えば、ベンドロフルメサイアザイド、ベンズサイアザイド、クロロチアジド、ヒドロクロロチアジド、ヒドロフルメチアジド、メチルクロロチアジド、ポリチアジド、トリクロメチアジド(trichormethiazide)、クロルタリドン、インダパミド、メトラゾン、およびキネサゾン)、カリウム保持性利尿薬(例えば、アミロライドおよびトリアムテレン)、および鉍質コルチコイドレセプターアンタゴニスト(例えば、スピロノラクトン、カンレノン(canrenone)、およびカンレノエートカリウム(potassium canrenoate))と組み合わせて投与される。

【1075】

1つの実施形態において、本発明の治療剤は、内分泌物および/またはホルモンの不均衡障害のための処置剤と組み合わせて投与される。内分泌物および/またはホルモンの不均衡障害のための処置剤としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：^{1 2 7}I、ヨウ素の放射性同位元素（例えば、^{1 3 1}Iおよび^{1 2 3}I）；組換え成長ホルモン（例えば、HUMATROPE^{T M}（組換えソマトロピン））；成長ホルモンアナログ（例えば、PROTROPIN^{T M}（ソマトレム））；ドーパミンアゴニスト（例えば、PARLODEL^{T M}（プロモクリプチン））；ソマトスタチンアナログ（例えば、SANDOSTATIN^{T M}（オクトレオチド））；ゴナドトロピン調製物（例えば、PREGNYL^{T M}、A.P.L.^{T M} およびPROFASIT^{T M}（絨毛性ゴナドトロピン（CG））、PERGONAL^{T M}（メノトロピン）、およびMETRODIN^{T M}（尿性卵胞性刺激ホルモン（uFSH）））；合成ヒトゴナドトロピン放出ホルモン調製物（例えば、FACTREL^{T M} およびLUTREPULSE^{T M}（塩酸ゴナドレリン））；合成ゴナドトロピンアゴニスト（例えば、LUPRON^{T M}（酢酸ロイプロリド）、SUPPRELIN^{T M}（酢酸ヒストレリン（histrelin acetate））、SYNAREL^{T M}（酢酸ナファレリン（nafarelin acetate））、およびZOLADEX^{T M}（酢酸ゴセレリン（goserelin acetate）））；甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン合成調製物（例えば、RELEFACT TRH^{T M} およびTHYPINONE^{T M}（プロチレリン））；組換えヒトTSH（例えば、THYROGEN^{T M}）；甲状腺ホルモンの天然異性体のナトリウム塩の合成調製物（例えば、L-T₄^{T M}、SYNTHROID^{T M} およびLEVOTHROID^{T M}（レボチロキシナトリウム（levothyroxine sodium））、L-T₃^{T M}、CYTOMEL^{T M} およびTRIOSTAT^{T M}（リオチロインナトリウム（liothyroine sodium））、およびTHYROLAR^{T M}（リオトリックス））；抗甲状腺組成物（例えば、6-n-プロピルチオウラシル（プロピルチオウラシル）、1-メチル-2-メルカプトイミダゾールおよびTAPAZOLE^{T M}（メチマゾール）、NEO-MERCIAZOLE^{T M}（カルビマゾール））；アドレナリン作用性レセプターアンタゴニスト（例えば、プロプラノロールおよびエスモロール；Ca²⁺チャネル阻害剤；デキサメタゾンおよびヨウ素の放射線医学的造影剤（例えば、TELEPAQUE^{T M}（ヨーパン酸）およびORAGRAFIN^{T M}（イポダートナトリウム））。

10

20

30

【1076】

さらなる内分泌物および/またはホルモンの不均衡障害のための処置剤としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：エストロゲンまたは抱合卵胞ホルモン（例えば、ESTRACE^{T M}（エストラジオール）、ESTINYL^{T M}（エチニルエストラジオール）、PREMARIN^{T M}、ESTRATAB^{T M}、ORTHO-EST^{T M}、OGEN^{T M} およびエストロピペイト（estropipate）（エストロン）、ESTROVIS^{T M}（キネストロール）、ESTRADERM^{T M}（エストラジオール）、DELESTROGEN^{T M} およびVALERGEN^{T M}（吉草酸エストラジオール）、DEPO-ESTRADIOL CYPIONATE^{T M} およびESTROJECT LAT^{T M}（エストラジオールシピオネート））；抗エストロゲン（例えば、NOLVADEX^{T M}（タモキシフェン）、SEROPHENE^{T M} およびCLOMID^{T M}（クロミフェン））；プロゲスチン（例えば、DURALUTIN^{T M}（カプロン酸ヒドロキシプロゲステロン）（hydroxyprogesterone caproate））、MPA^{T M} およびDEPO-PROVERA^{T M}（酢酸メドロキシプロゲステロン）、PROVERA^{T M} およびCYCRIN^{T M}（MPA）、MEGACE^{T M}（酢酸メゲストロール）、NORLUTIN^{T M}（ノルエチンドロン）、ならびにNORLUTATE^{T M} およびAYGESTIN^{T M}（酢酸ノルエチンドロン））；プロゲステロンインプラント（例えば、NORPLANT SYSTEM^{T M}（ノルゲストレルの皮下移植））；抗黄体ホルモン（例えば、RU 486^{T M}（ミフェプリストン））；ホルモン避妊薬（例えば、ENOVID^{T M}（ノルエチノドレル+メストラノール）、PROGESTASERT^{T M}（プロゲステロンを放出する子宮内デバイス）、LOESTRIN^{T M}、BREVICO

40

50

N^{T M}、MODICON^{T M}、GENORAT^{T M}、NELONAT^{T M}、NORINYLT^{T M}、O V A C O N - 3 5^{T M} および O V A C O N - 5 0^{T M} (エチニルエストラジオール/ノルエチンドロン)、LEVLENT^{T M}、NORDETTE^{T M}、TRI-LEVLENT^{T M} および TRIPHASIL-21^{T M} (エチニルエストラジオール/レボノルゲストレル(levonorgestrel)) LO/OVRAL^{T M} および OVRAL^{T M} (エチニルエストラジオール/ノルゲストレル)、DEMULENT^{T M} (エチニルエストラジオール/二酢酸エチノジオール)、NORINYLT^{T M}、ORTHO-NOVUM^{T M}、NORETHINT^{T M}、GENORAT^{T M}、および NELOVA^{T M} (ノルエチンドロン/メストラノール)、DESOGEN^{T M} および ORTHO-CEPT^{T M} (エチニルエストラジオール/デソゲステレル(desogestrel))、ORTHO-CYCLEN^{T M} および ORTHO-TRICYCLEN^{T M} (エチニルエストラジオール/ノルゲステメート(norgestimate))、MICRONOR^{T M} および NOR-QD^{T M} (ノルエチンドロン)、および OVRETTE^{T M} (ノルゲストレル)。

10

20

30

40

50

【1077】

さらなる内分泌物および/またはホルモンの不均衡障害のための処置剤としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：テストステロンエステル(例えば、酢酸メテノロン(methenolone acetate)およびテストステロンアンデカノエート(undecanoate))；非経口および経口アンドロゲン(例えば、TESTOJECT-50^{T M} (テストステロン)、TESTEX^{T M} (プロピオン酸テストステロン)、DELAESTRYLT^{T M} (エナンタートテストステロン)、DEPO-TESTOSTERONE^{T M} (シピオネートテストステロン)、DANOCRINE^{T M} (ダナゾール)、HALOTESTINT^{T M} (フルオキシメステロン)、ORETON METHYLT^{T M}、TESTRED^{T M} および VIRILONT^{T M} (メチルテストステロン)、および OXANDRINT^{T M} (オキサンドロン))；テストステロン経皮的システム(例えば、TESTODERM^{T M}；アンドロゲンレセプターアンタゴニストおよび5-レダクターゼ阻害剤(例えば、ANDROCUR^{T M} (酢酸シプロテロン)、EULEXINT^{T M} (フルタミド)、および PROSCAR^{T M} (フィナステリド(finasteride)))；副腎皮質刺激ホルモン調製物(例えば、CORTROSYN^{T M} (コシントロピン))；副腎皮質ステロイドおよびこれらの合成アナログ(例えば、ACLOVATE^{T M} (ジプロピオン酸アルクロメタゾン)、CYCLOCORT^{T M} (アムシノニド)、BECLOVENT^{T M} および VANCERILT^{T M} (ジプロピオン酸ベクロメタゾン)、CELESTONE^{T M} (ベタメタゾン)、BENISONET^{T M} および UTICORT^{T M} (安息香酸ベタメタゾン)、DIPROSONET^{T M} (ジプロピオン酸ベタメタゾン)、CELESTONE PHOSPHATE^{T M} (ベタメタゾンリン酸ナトリウム塩)、CELESTONE SOLUSPANT^{T M} (ベタメタゾンリン酸ナトリウムおよび酢酸ベタメタゾン)、BETA-VAL^{T M} および VALISONET^{T M} (吉草酸塩ベタメタゾン)、TEMOVATE^{T M} (プロピオン酸クロベタゾール)、CLODERMT^{T M} (クロコルトロンピバレート)、CORTEF^{T M} および HYDROCORTONE^{T M} (コルチソル(ヒドロコルチゾン))、HYDROCORTONE ACETATE^{T M} (酢酸コルチソル(ヒドロコルチゾン))、LOCOID^{T M} (酪酸コルチソル(ヒドロコルチゾン))、HYDROCORTONE PHOSPHATE^{T M} (コルチソル(ヒドロコルチゾン)リン酸ナトリウム塩)、A-HYDROCORT^{T M} および SOLUCORTEF^{T M} (コルチソル(ヒドロコルチゾン)コハク酸ナトリウム塩)、WESTCORT^{T M} (吉草酸コルチソル(ヒドロコルチゾン))、CORTISON E ACETATE^{T M} (酢酸コルチゾン)、DESOWENT^{T M} および TRIDESILONT^{T M} (デソニド)、TOPICORT^{T M} (デスオキシメタゾン)、DECADRON^{T M} (デキサメタゾン)、DECADRON LAT^{T M} (酢酸デキサメタゾン)、DECADRON PHOSPHATE^{T M} および HEXADROL PHOSPHATE^{T M} (デキサメタゾンリン酸ナトリウム塩)、FLORONET^{T M} および MAXIFLOR^{T M} (酢酸ジフロラゾン)、FLORINEF ACETATE^{T M} (酢酸フルドロコ

ルチゾン)、AEROBIDTMおよびNASALIDETM(フルニソリド)、FLUONIDTMおよびSYNALARTM(フルオシノロンアセトニド)、LIDEXTM(フルオシノニド)、FLUOR-OPTMおよびFMLTM(フルオロメトロン)、CORDRANTM(フルランドレノリド)、HALOGTM(ハルシノニド)、HMSLIZUIFILMTM(メドリゾン)、MEDROLTM(メチルプレドニゾロン)、DEPO-MEDROLTMおよびMEDROL ACETATETM(酢酸メチルプレドニゾロン)、A-METHAPREDTMおよびSOLUMEDROLTM(メチルプレドニゾロンコハク酸ナトリウム塩)、ELOCONTM(モメタゾン(mometasone)フロエート)、HALDRONETM(酢酸パラメタゾン)、DELTA-CORTEFTM(プレドニゾロン)、ECONOPREDTM(酢酸プレドニゾロン)、HYDELTRASOLTM(プレドニゾロンリン酸ナトリウム塩)、HYDELTRA-T.B.ATM(プレドニゾロンテブテート)、DELTASONETM(プレドニゾン)、ARISTOCORTTMおよびKENACORTTM(triamcinolone)、KENALOGTM(triamcinolone acetonide)、ARISTOCORTTMおよびKENACORT DIACETATETM(トリアムシノロンジアセテート)、およびARISTOSPANTM(ヘキサアセトニド(hexacetonide)トリアムシノロン));副腎皮質ステロイドの生合成阻害剤および作用阻害剤(例えば、CYTADRENTM(アミノグルテチミド)、NIZORALTM(ケトコナゾール)、MODRASTANETM(トリロスタン)、およびMETOPIRONETM(メチラポン))。 10

【1078】

さらなる内分泌物および/またはホルモンの不均衡障害のための処置剤としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない:ウシ、ブタもしくはヒトインスリンまたはそれらの混合物;インスリンアナログ;組換えヒトインスリン(例えば、HUMULINTMおよびNOVOLINTM);経口低血糖症薬物(例えば、ORAMIDETMおよびORINASETM(トルブタミド)、DIABINESETM(クロルプロパミド)、TOLAMIDETMおよびTOLINASETM(トラザミド)、DYMELORTM(アセトヘキサミド)、グリベンクラミド(glibenclamide)、MICRONASETM、DIBETATMおよびGLYNASETM(グリブリド)、GLUCOTROLTM(グリピジド)、およびDIAMICRONTM(グリクラジド)、GLUCOPHAGETM(メトホルミン)、PRECOSETM(アカルボース)、AMARYLTM(グリメピライド)およびシグリタゾン(ciglitazone));(トリアゾリジネジオン(tirazolidinedione)(TZD)(例えば、ロシグリタゾン(rosiglitazone)、AVANDIATM(マレイン酸ロシグリタゾン)、ACTOSTM(ピオグリタゾン(pioglitazone)、およびトログリタゾン(trogliptazone));-グルコシダーゼ阻害剤;ウシもしくはブタのグルカゴン;ソマトスタチン(例えば、SANDOSTATINTM(オクテオチド(octreotide));ならびにジアゾキシド(例えば、PROGLYCEMTM(ジアゾキシド))。また他の実施形態において、本発明の治療剤は、1つ以上の以下:ピグアナイド抗糖尿病薬剤、グリタゾン抗糖尿病薬剤、およびスルホニル尿素抗糖尿病薬剤と組み合わせて投与される。 30 40

【1079】

1つの実施形態において、本発明の治療剤は、子宮運動性障害のための処置剤と組み合わせて投与される。子宮運動性障害のための処置剤としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない:エストロゲン薬物(例えば、抱合卵胞ホルモン(例えば、PREMARIN(登録商標)およびESTRATAB(登録商標))、エストラジオール(例えば、CLIMARA(登録商標)およびALORA(登録商標))、エストロピペイト(estropipate)、およびクロロトリアニセン;プロゲスチン薬物(例えば、AMEN(登録商標)(メドロキシプロゲステロン)、MICRONOR(登録商標)(酢酸ノルエチドロン(norethidrone))、PROMETRIUM(登録商標)プロ 50

ゲステロン，および酢酸メゲストロール）；およびエストロゲン/プロゲステロン併用治療（例えば、抱合卵胞ホルモン/メドロキシプロゲステロン（例えば、PREMPRO^{T M}）およびPREMPHASE（登録商標））および酢酸ノルエチドロン/エチニルエストラジオール（例えば、FEMHRT^{T M}）。

【1080】

さらなる実施形態において、本発明の治療剤は、鉄欠乏性貧血および低色性貧血のための処置に有効な薬物とともに投与され、これらの薬物としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：硫酸第一鉄（硫酸鉄、FEOSOL^{T M}）、フマル酸第一鉄（例えば、FEOSTAT^{T M}）、グルコン酸第一鉄（例えば、FERGON^{T M}）、多糖類-鉄複合体（例えば、NIFEREX^{T M}）、鉄デキストラン注入（例えば、INFED^{T M}）、硫酸銅、ピロキシジン（pyroxidine）、リボフラビン、ビタミンB₁₂、シアノコバラミン（cyanocobalamin）注入（例えば、REDISOL^{T M}、RUBRAMIN PC^{T M}）、ヒドロキソコバラミン、葉酸（例えば、FOLVITE^{T M}）、ロイコボリン（フォリン酸、5-CHOH4PteGlu、シトロボラム因子）またはWELLCOVORIN（ロイコボリンのカルシウム塩）、トランスフェリンまたはフェリチン。

10

【1081】

特定の実施形態において、本発明の治療剤は、精神障害を処置するために用いられる薬剤と組み合わせて投与される。本発明の治療剤とともに投与され得る精神障害のための処置剤としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：抗精神病薬（例えば、クロルプロマジン、クロルプロチキセン、クロザピン、フルフェナジン、ハロペリドール、ロクサピン、メソリダジン、モリンドン、オランザピン（olanzapine）、パーフェナジン、ピモジド、クエチアピン（quetiapine）、リスペリドン（risperidone）、チオリダジン、チオチキセン、トリフルオペラジン、およびトリフルプロマジン）、抗躁病薬（例えば、カルバマゼピン、ジバルブロックスナトリウム、炭酸リチウム、およびクエン酸リチウム）、抗うつ薬（例えば、アミトリプチリン、アモキサピン、ビュープロピオン、シタロプラム（citalopram）、クロミプラミン、デシプラミン、ドキセピン、フルボキサミン（fluvoxamine）、フルオキセチン、イミプラミン、イソカルボキサジド、マプロチリン、ミルタザピン（mirtazapine）、ネフォゾドン（nefazodone）、ノルトリプチリン、パロキセチン（paroxetine）、フェネルジン、プロトリプチリン、セルトラリン、トラニルシプロミン、トラゾドン、トリミプラミン、およびベンラファキシン（venlafaxine））、抗不安薬（例えば、アルプラゾラム、ブスピロン、クロルジアゼポキシド、クロラゼパート、ジアゼパム、ハラゼパム、ロラゼパム、オキサゼパム、およびプラゼパム）、ならびに興奮薬（例えば、d-アンフェタミン、メチルフェニデート、およびペモリン）。

20

30

【1082】

他の実施形態において、本発明の治療剤は、神経性疾患を処置するために使用される薬剤と組み合わせて投与される。本発明の治療剤とともに投与され得る神経薬としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：鎮痙薬（例えば、カルバマゼピン、クロナゼパム、エトスクシミド、フェノバルビタール、フェニトイン、プリミドン、バルプロ酸、ジバルブロックスナトリウム、フェルバメート、ガバペンチン（gabapentin）、ラモトリジン、レベチラセタム（levetiracetam）、オキシカルバゼピン（oxcarbazepine）、チアガピン（tiagabine）、トピラメイト（topiramate）、ゾニサミド（zonisamide）、ジアゼパム、ロラゼパム、およびクロナゼパム）、抗パーキンソン症候群薬（例えば、レボドパ/カルビドパ、セレジリン、アマンチジン（amantidine）、プロモクリプチン、ペルゴリド（pergolide）、ロピニロール（ropinirole）、プラミペキソール（pramipexole）、ベンズトロピン；ピペリデン；エトプロパジン；プロシクリジン；トリヘキシフェニジル、トルカポン（tolcapone））、およびALS治療剤（

40

50

例えば、リルゾール (riluzole)。

【1083】

別の実施形態において、本発明の治療剤は、血管拡張薬および/またはカルシウムチャネル遮断薬と組み合わせて投与される。本発明の治療剤とともに投与され得る血管拡張薬としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：アンギオテンシン変換酵素 (ACE) インヒビター (例えば、パパベリン、イソクスプリン、ベナゼプリル (benazepril)、カプトプリル、シラザプリル (cilazapril)、エナラプリル、エナラプリラート、ホシノプリル (fosinopril)、リジノプリル、モエキシプリル (moexipril)、ペリインドプリル (perindopril)、キナプリル (quinapril)、ラミプリル (ramipril)、スピラプリル (spirapril)、トランドラプリル (trandolapril)、およびナイリドリン)、ならびに硝酸塩 (例えば、イソソルビドジニトレート、イソソルビドモノニトレート、およびニトログリセリン)。本発明の治療剤と組合せて投与され得るカルシウムチャネル遮断薬の例としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：アムロジピン、ベプリジル (bepridil)、ジルチアゼム、フェロジピン、フルナリジン、イスラジピン (isradipine)、ニカルジピン、ニフェジピン、ニモジピン、およびベラパミル。

10

【1084】

特定の実施形態において、本発明の治療剤は、胃腸の障害のための処置剤と組み合わせて投与される。本発明の治療薬と共に投与され得る胃腸の障害のための処置剤としては以下が挙げられるがこれらに限定されない：H₂ ヒスタミンレセプターアンタゴニスト (例えば、TAGAMETTM (シメチジン)、ZANTACTM (ラニチジン)、PEPCIDTM (ファモチジン)、およびAXIDTM (ニザチジン))；H⁺, K⁺ ATPaseのインヒビター (例えば、PREVACIDTM (ランソプラゾール) およびPRILOSECTM (オメプラゾール))；ピスマス化合物 (例えば、PEPTO-BISMOLTM (次サリチル酸ピスマス) およびDE-NOLTM (次硝酸ピスマス))；種々の制酸薬；スクラルファート；プロスタグランジンアナログ (例えば、CYTOTECTM (ミソプロストール))；ムスカリン様コリン作用アンタゴニスト；緩下薬 (例えば、界面活性剤緩下薬、刺激性緩下薬、塩性緩下薬 (saline laxative) および浸透圧性緩下薬)；下痢止め薬剤 (例えば、LOMOTILTM (ジフェノキシラート)、MOTOFENTM (ジフェノキシシン)、およびIMODIUMTM (塩酸ロペラミド))、SANDOSTATINTM (オクトレオチド) のようなソマトスタチンの合成アナログ、制吐薬 (例えば、ZOFRANTM (オンダンセトロン)、KYTRILTM (塩酸グラニセトロン)、トロピセトロン (tropisetron)、ドラセトロン (dolasetron)、メトクロプラミド、クロルプロマジン、パーフェナジン、プロクロルペラジン、プロメタジン、チエチルペラジン、トリフルプロマジン、ドンペリドン、ハロペリドール、ドロペリドール、トリメトベンズアミド、デキサメタゾン、メチルプレドニゾン、ドロナビノールおよびナビロン)；D₂ アンタゴニスト (例えば、メトクロプラミド、トリメトベンズアミドおよびクロルプロマジン)；胆汁酸塩；ケノデオキシコール酸；ウルソデオキシコール酸；ならびにパンクレアチンおよびパンクレリパーゼのような膵臓酵素調製物。

20

30

40

【1085】

さらなる実施形態において、本発明の治療剤は、他の治療法または予防療法 (例えば、放射線療法) と組み合わせて投与される。

【1086】

(実施例11：ポリペプチドのレベル低下を処置する方法)

個体におけるポリペプチドの標準の発現レベルまたは正常発現レベルの低下により引き起こされる状態は、本発明のポリペプチドを好ましくは分泌形態および/または可溶性形態で投与することにより処置し得ることが理解される。従って、本発明はまた、このポリペプチドのレベルの増加が必要な個体の処置方法を提供する。この方法は、このような個体

50

に、このような個体においてこのポリペプチドの活性レベルを増加させる量のポリペプチドを含む薬学的組成物を投与する工程を包含する。

【1087】

例えば、ポリペプチドのレベルが低下した患者は、そのポリペプチドを、1日用量0.1~100 μ g/kgで6日間続けて服用する。好ましくは、このポリペプチドは分泌形態である。投与および処方物に基づく投薬計画の正確な詳細は、実施例10に提供されている。

【1088】

(実施例12:ポリペプチドのレベル上昇を処置する方法)

アンチセンス技術を使用して本発明のポリペプチドの産生を阻害する。この技術は、ガンのような様々な病因に起因する、好ましくは分泌形態のポリペプチドのレベルを低下させる方法の1つの例である。

【1089】

例えば、ポリペプチドのレベルが異常に上昇したと診断された患者に、アンチセンスポリヌクレオチドを、0.5、1.0、1.5、2.0および3.0mg/kg/日で21日間、静脈内投与する。この処置が十分に耐えられた場合は、7日間の休薬期間後に、この処置を繰り返す。本発明のアンチセンスポリヌクレオチドは、本明細書に記載されている技術および処方物(例えば、実施例10を参照のこと)を用いて、さもなければ当該分野で公知の技術および処方物を用いて処方され得る。

【1090】

(実施例13:遺伝子治療を使用する処置方法 - エキソピボ)

遺伝子治療の1つの方法は、ポリペプチドを発現し得る線維芽細胞を患者に移植する。一般に、線維芽細胞は、皮膚生検により被験者から得られる。得られた組織を組織培養培地中に配置し、小片に分割する。組織の小塊を組織培養フラスコの湿潤表面に置き、約10片を各フラスコに置く。このフラスコを倒置し、しっかりと閉め、そして、室温にて一晩放置する。室温にて24時間後、フラスコを反転させ、そして組織塊をフラスコの底に固定させたままにし、そして新鮮な培地(例えば、10% FBS、ペニシリンおよびストレプトマイシンを含有するHamのF12培地)を添加する。次に、フラスコを37 $^{\circ}$ Cで約1週間インキュベートする。

【1091】

この時点で、新鮮な培地を添加し、次いで数日ごとに取り換える。さらに二週間培養した後に、単層の線維芽細胞が出現する。この単層をトリプシン処理し、さらに大きなフラスコにスケールアップする。

【1092】

モロニー Maus 肉腫ウイルスの長末端反復が隣接するpMV-7(Kirschmeier, P.T.ら、DNA, 7:219-25(1988))をEcoRIおよびHindIIIで消化した後、続いて仔ウシ腸ホスファターゼで処理する。直鎖状ベクターをアガロースゲル上で分画し、そしてガラスビーズを使用して精製する。

【1093】

本発明のポリペプチドをコードするcDNAを、プライマーを用い、そして必要な場合、適切な制限部位および開始/終止コドンを含む、実施例1に記載のそれぞれ5'末端配列および3'末端配列に対応するPCRプライマーを使用して増幅し得る。好ましくは、この5'プライマーはEcoRI部位を含み、そしてこの3'プライマーはHindIII部位を含む。等量の、モロニー Maus 肉腫ウイルスの線状骨格および増幅したEcoRIおよびHindIIIフラグメントを、T4 DNAリガーゼの存在下で一緒に加える。得られた混合物を、この2つのフラグメントを連結するのに適した条件下で維持する。次に、連結混合物を使用し、細菌HB101を形質転換する。次に、この細菌を、カナマイシンを含む寒天上にプレーティングし、ベクターが正確に挿入された目的の遺伝子を有することを確認する。

【1094】

10

20

30

40

50

両種指向性 p A 3 1 7 または G P + a m 1 2 パッケージング細胞を、10% 仔ウシ血清 (C S)、ペニシリンおよびストレプトマイシンを含むダルベッコ改変イーグル培地 (D M E M) 中、組織培養でコンフルエントな密度まで増殖させる。次に、その遺伝子を含む M S V ベクターを培地に加え、そしてパッケージング細胞をこのベクターで形質導入する。このとき、このパッケージング細胞は、その遺伝子を含む感染性ウイルス粒子を産生する (ここで、このパッケージング細胞をプロデューサー細胞という)。

【1095】

形質導入されたプロデューサー細胞に新鮮な培地を添加し、次いでこの培地を 10 c m プレートのコンフルエントなプロデューサー細胞から採取する。感染性ウイルス粒子を含む使用済み培地を、ミリポアフィルターを通して濾過し、はがれたプロデューサー細胞を除去した後、この培地を使用して、線維芽細胞を感染させる。線維芽細胞のサブコンフルエントなプレートから培地を除去し、そしてプロデューサー細胞からの培地で速やかに置き換える。この培地を除去し、そして新鮮な培地と置き換える。ウイルスの力価が高ければ、実質的にすべての線維芽細胞が感染され、選択は必要ではない。力価が非常に低ければ、neo または his のような選択マーカーを有するレトロウイルスベクターを使用することが必要である。一旦、線維芽細胞が効率的に感染したなら、その線維芽細胞を分析し、タンパク質が産生されているか否かを決定する。

10

【1096】

次に、操作された線維芽細胞を、単独で、またはサイトデックス 3 マイクロキャリアビーズ上でコンフルエントまで増殖させた後のいずれかで、宿主に移植する。

20

【1097】

(実施例 14 : 内因性 B 7 様遺伝子を使用する遺伝子治療)

本発明に従う遺伝子治療の別の方法は、内因性 B 7 様遺伝子配列を、例えば、米国特許番号 5,641,670 (1997年6月24日発行) ; 国際公開番号 WO 96/29411 (1996年9月26日公開) ; 国際公開番号 WO 94/12650 (1994年8月4日公開) ; K o l l e r ら、P r o c . N a t l . A c a d . S c i . U S A , 86 : 8932 ~ 8935 (1989) ; および Z i j l s t r a ら、N a t u r e , 342 : 435 ~ 438 (1989) に記載されるように、相同組換えを介してプロモーターに作動可能に結合する工程を包含する。この方法は、その標的細胞中に存在するが、その細胞中では発現されないかまたは所望されるよりも低いレベルで発現される、遺伝子の活性化を包含する。

30

【1098】

プロモーターおよびターゲティング配列を含むポリヌクレオチド構築物を作製する。このターゲティング配列は、プロモーターに隣接する、内因性 B 7 様遺伝子の 5' 非コード配列に相同である。このターゲティング配列は、B 7 様遺伝子の 5' 末端に十分に近く、その結果、このプロモーターは、相同組換えの際にこの内因性配列に作動可能に連結される。このプロモーターおよびターゲティング配列を、PCR を使用して増幅し得る。好ましくは、この増幅したプロモーターは、5' 末端および 3' 末端上に異なる制限酵素部位を含む。好ましくは、第 1 のターゲティング配列の 3' 末端は、増幅したプロモーターの 5' 末端と同じ制限酵素部位を含み、そして第 2 のターゲティング配列の 5' 末端は、増幅したプロモーターの 3' 末端と同じ制限部位を含む。

40

【1099】

この増幅したプロモーターおよび増幅したターゲティング配列を、適切な制限酵素で消化し、続いてウシ腸ホスファターゼで処理する。消化したプロモーターおよび消化したターゲティング配列を、T4 DNA リガーゼの存在下で共に加える。得られる混合物を、これら 2 つのフラグメントの連結に適切な条件下で維持する。この構築物をアガロースゲル上でサイズ分画し、次いでフェノール抽出およびエタノール沈殿により精製する。

【1100】

この実施例において、このポリヌクレオチド構築物を、エレクトロポレーションを介して裸のポリヌクレオチドとして投与する。しかし、このポリヌクレオチド構築物はまた、ト

50

ランスフェクション促進剤（例えば、リポソーム、ウイルス配列、ウイルス粒子、沈殿剤など）とともに投与され得る。このような送達方法は、当該分野で公知である。

【1101】

一旦、細胞をトランスフェクトすると、相同組換えが生じて、このプロモーターがこの内因性B7様遺伝子配列に作動可能に連結される。これは、この細胞中におけるB7様ポリペプチドの発現を生じる。発現は、免疫学的染色または当該分野で公知の他の任意の方法により、検出され得る。

【1102】

線維芽細胞を、皮膚生検により被験体から得る。得られた組織を、DMEM + 10%ウシ胎仔血清中に配置する。対数増殖期または定常期初期の線維芽細胞を、トリプシン処理し、そしてプラスチックの表面から栄養培地でリンスする。細胞懸濁液のアリコートをし、計数のために取り出し、そして残りの細胞を遠心分離に供する。上清を吸引し、そしてペレットを5mlのエレクトロポレーション緩衝液（20mM HEPES pH7.3、137mM NaCl、5mM KCl、0.7mM Na₂HPO₄、6mMデキストロース）中に再懸濁する。この細胞を再遠心分離し、上清を吸引し、そして細胞をアセチル化ウシ血清アルブミン1mg/mlを含むエレクトロポレーション緩衝液に再懸濁する。この最終細胞懸濁物は、約 3×10^6 細胞/mlを含む。エレクトロポレーションを、再懸濁直後に実施すべきである。

10

【1103】

プラスミドDNAを、標準的技術に従って調製する。例えば、B7様遺伝子座に標的化するためのプラスミドを構築するために、プラスミドpUC18（MBI Fermentas、Amherst、NY）をHindIIIで消化する。CMVプロモーターを、5'末端にXbaI部位および3'末端にBamHI部位を備えてPCRにより増幅する。2つのB7様非コード遺伝子配列をPCRを介して増幅する：一方のB7様非コード配列（B7様フラグメント1）を、5'末端にHindIII部位および3'末端にXbaI部位を備えて増幅する；他方のB7様非コード配列（B7様フラグメント2）を、5'末端にBamHI部位および3'末端にHindIII部位を備えて増幅する。このCMVプロモーターおよびB7様フラグメントを、適切な酵素（CMVプロモーター-XbaIおよびBamHI；B7様フラグメント1-XbaI；B7様フラグメント2-BamHI）で消化し、そしてともに連結する。得られる連結生成物をHindIIIで消化し、そしてHindIIIで消化したpUC18プラスミドと連結する。

20

30

【1104】

プラスミドDNAを、0.4cmの電極ギャップを備える滅菌キュベット（Bio-Rad）に添加する。最終DNA濃度は、一般的に、少なくとも $120 \mu\text{g/ml}$ である。次いで、この細胞懸濁液の0.5ml（約 1.5×10^6 細胞を含む）をこのキュベットに添加し、そしてこの細胞懸濁液およびDNA溶液を、穏やかに混合する。エレクトロポレーションを、Gene-Pulsar装置（Bio-Rad）を用いて実施する。キャパシタンスおよび電圧を、それぞれ、 $960 \mu\text{F}$ および $250 \sim 300 \text{V}$ に設定する。電圧が増加すると、細胞の生存が減少するが、導入されたDNAをそのゲノム中に安定に組込む生存細胞の割合が劇的に増加する。これらのパラメーターの場合、パルス時間約 $14 \sim 20 \text{mSec}$ が観察されるはずである。

40

【1105】

エレクトロポレーションした細胞を、室温で約5分間維持し、次いで、このキュベットの中身を、滅菌した移動ピペットを用いて穏やかに取り出す。この細胞を、10cmのディッシュ中の、予め温めた栄養培地（15%ウシ血清を含むDMEM）10mlに直接加え、そして37°Cでインキュベートする。翌日、この培地を吸引し、そして10mlの新鮮な培地で置換し、そしてさらに16~24時間インキュベートする。

【1106】

次いで、操作された線維芽細胞を、宿主中に、単独か、またはサイトデックス（cytodex）3マイクロキャリア（microcarrier）ビーズ上でコンフルエントに

50

なるまで増殖させた後かのいずれかで、注入する。ここで、この線維芽細胞は、タンパク質産物を生成する。次いで、この線維芽細胞を、上記のような患者に導入し得る。

【1107】

(実施例15：遺伝子治療を使用する処置方法 - インビボ)

本発明の別の局面は、障害、疾患、および状態を処置するためにインビボ遺伝子治療方法を使用することである。この遺伝子治療法は、B7様ポリペプチドの発現を増大または減少させるための、動物への裸の核酸(DNA、RNA、およびアンチセンスDNAまたはRNA)B7様配列の導入に関する。B7様ポリヌクレオチドは、プロモーター、または標的組織によるB7様ポリペプチドの発現に必要な任意の他の遺伝子エレメントに、作動可能に連結され得る。このような遺伝子治療および送達の技術および方法は、当該分野で公知であり、例えば、WO90/11092、WO98/11779；米国特許第5693622号、同第5705151号、同第5580859号；Tabataら、Cardiovasc. Res. 35(3)：470-479(1997)；Chao J.ら、Pharmacol. Res. 35(6)：517-522(1997)；Wolff、Neuromuscul. Disord. 7(5)：314-318(1997)、Schwartzら、Gene Ther. 3(5)：405-411(1996)；Tsrumi Yら、Circulation 94(12)：3281-3290(1996)(本明細書中に参考として援用される)を参照のこと。

10

【1108】

B7様ポリヌクレオチド構築物は、注入可能な物質を動物の細胞に送達する任意の方法(例えば、組織(心臓、筋肉、皮膚、肺、肝臓、腸など)の間隙空間への注入)によって送達され得る。B7様ポリヌクレオチド構築物は、薬学的に受容可能な液体または水性キャリア中で送達され得る。

20

【1109】

用語「裸の」ポリヌクレオチド、DNAまたはRNAは、細胞への侵入を補助、促進、または容易にするように作用するいかなる送達ビヒクル(ウイルス配列、ウイルス粒子、リポソーム処方物、リポフェクチン、または沈澱剤などを含む)も含まない配列をいう。しかし、B7様ポリヌクレオチドはまた、当業者に周知の方法によって調製され得るリポソーム処方物(例えば、Felgnerら、Ann. NY Acad. Sci. 772：126-139(1995)およびAbdallahら、Biol. Cell 85(1)：1-7(1995)で教示されたもの)中で送達され得る。

30

【1110】

この遺伝子治療方法において使用されるB7様ポリヌクレオチドベクター構築物は、好ましくは、宿主ゲノムに組み込まれず、複製を可能にする配列も含まない構築物である。当業者に公知の任意の強力なプロモーターが、DNAの発現を駆動するために用いられ得る。他の遺伝子治療技術とは異なり、裸の核酸配列を標的細胞に導入する1つの主要な利点は、その細胞におけるポリヌクレオチド合成の一過性の性質である。研究によって、非複製DNA配列が細胞に導入されて、6ヶ月までの間の期間、所望のポリペプチドの産生を提供し得ることが示された。

【1111】

このポリヌクレオチド構築物は、動物内の組織(筋肉、皮膚、脳、肺、肝臓、脾臓、骨髄、胸腺、心臓、リンパ、血液、骨、軟骨、膵臓、腎臓、胆嚢、胃、腸、精巣、卵巣、子宮、直腸、神経系、眼、腺、および結合組織を包含する)の間隙空間に送達され得る。この組織の間隙空間は、細胞間液、ムコ多糖基質(器官組織の細網線維、血管または腔(chamber)の壁における弾性線維、線維性組織のコラーゲン線維間にある)、あるいは結合組織鞘性筋肉細胞内または骨の裂孔中の同じ基質を包含する。これは、同様に、循環の血漿およびリンパチャネルのリンパ液により占められた空間である。筋肉組織の間隙空間への送達は、以下に考察する理由のために好ましい。それらは、これらの細胞を含む組織への注入によって、好都合に送達され得る。それらは、好ましくは、分化した持続性の非分裂細胞に送達され、そしてその細胞において発現されるが、送達および発現は、非分

40

50

化細胞または完全には分化していない細胞（例えば、血液の幹細胞または皮膚線維芽細胞など）において達成され得る。インビボで、筋肉細胞は、ポリヌクレオチドを取り込み、そして発現するそれらの能力において、特に適格である。

【1112】

裸のB7様ポリヌクレオチド注入について、DNAまたはRNAの有効投薬量は、約0.05g/kg体重から約50mg/kg体重の範囲にある。好ましくは、この投薬量は、約0.005mg/kgから約20mg/kgであり、そしてより好ましくは、約0.05mg/kgから約5mg/kgである。もちろん、当業者が理解するように、この投薬量は、注入の組織部位に従って変化する。核酸配列の適切かつ有効な投薬量は、当業者によって容易に決定され得、そして処置される状態および投与経路に依存し得る。好ましい投与経路は、組織の間隙空間への非経口注入経路によってである。しかし、他の非経口経路もまた用いられ得、これには、例えば、特に肺または気管支組織、咽喉、または鼻の粘膜への送達のためのエアロゾル処方物の吸入が挙げられる。さらに、裸のB7様ポリヌクレオチド構築物が、血管形成術の間に、この手順において用いられるカテーテルによって動脈に送達され得る。

10

【1113】

インビボでの筋肉における注入B7様ポリヌクレオチドの用量応答効果を、以下のようにして決定する。B7様ポリペプチドをコードするmRNAの生成のための適切なB7様テンプレートDNAを、標準的な組換えDNA方法論に従って調製する。テンプレートDNA（これは環状または線状のいずれかであり得る）を裸のDNAとして使用するか、またはリボソームと複合体化するかのいずれかである。次いで、マウスの四頭筋に、種々の量のテンプレートDNAを注入する。

20

【1114】

5～6週齢の雌性および雄性のBalb/Cマウスに、0.3mlの2.5%Avertinを腹腔内注射することにより麻酔する。1.5cmの切開を大腿前部で行い、そして四頭筋を直接可視化する。B7様テンプレートDNAを、0.1mlのキャリアに入れて、1cc注射器で27ゲージ針を通して1分間にわたって、筋肉の遠位挿入部位から約0.5cmのところまで膝に、そして約0.2cmの深さで注入する。縫合を、将来の位置決定のために注入部位の上に配置し、そしてその皮膚をステンレス鋼クリップで閉じる。

【1115】

適切なインキュベーション時間（例えば、7日）後、筋肉抽出物を、四頭全体を切り出すことによって調製する。個々の四頭筋の5枚毎の15μm切片を、B7様タンパク質発現について組織化学的に染色する。B7様タンパク質発現についてのタイムコースを、異なるマウスからの四頭を異なる時間で採取すること以外は、同様な様式で行い得る。注入後の筋肉中のB7様DNAの持続性を、注入したマウスおよびコントロールマウスからの全細胞性DNAおよびHIRT上清を調製した後、サザンブロット分析によって決定し得る。マウスにおける上記実験の結果を、B7様の裸のDNAを用いて、ヒトおよび他の動物において適切な投薬量および他の処置パラメーターを外挿するために使用し得る。

30

【1116】

（実施例16：抗体の産生）

（a. ハイブリドーマ技術）

本発明の抗体は、種々の方法によって調製され得る。（Current Protocols, 第2章を参照のこと）。このような方法の1つの例として、B7様ポリペプチドを発現する細胞は、ポリクローナル抗体を含む血清の産生を誘導するために動物に投与される。好ましい方法において、B7様ポリペプチドの調製物が調製され、そして精製されて、天然の夾雑物を実質的に含まないようにされる。次いで、より大きな比活性のポリクローナル抗血清を生成するために、このような調製物は、動物に導入される。

40

【1117】

B7様ポリペプチドに対して特異的なモノクローナル抗体は、ハイブリドーマ技術を使用して調製される（Kohlerら、Nature 256:495(1975); Koh

50

lerら、Eur. J. Immunol. 6: 511 (1976); Kohlerら、Eur. J. Immunol. 6: 292 (1976); Hammerlingら: Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas, Elsevier, N.Y., 563-681頁(1981)。一般に、動物(好ましくはマウス)は、B7様ポリペプチドで、またはより好ましくは分泌されたB7様ポリペプチド発現細胞で免疫される。このようなポリペプチド発現細胞は、任意の適切な組織培養培地において、好ましくは10%ウシ胎仔血清(約56で不活化した)を補充し、そして約10g/lの非必須アミノ酸、約1,000U/mlのペニシリン、および約100μg/mlのストレプトマイシンを補充したEarle改変イーグル培地において培養される。

10

【1118】

このようなマウスの脾細胞を抽出し、そして適切な骨髓腫細胞株と融合する。任意の適切な骨髓腫細胞株は、本発明に従って用いられ得る;しかし、ATCCから入手可能な親骨髓腫細胞株(SP20)を利用することが好ましい。融合後、得られるハイブリドーマ細胞を、HAT培地において選択的に維持し、次いでWandsら(Gastroenterology 80: 225-232(1981))により記載されるように限界希釈によってクローニングする。次いで、このような選択を通して得られるハイブリドーマ細胞を、B7様ポリペプチドを結合し得る抗体を分泌するクローンを同定するためにアッセイする。

20

【1119】

あるいは、B7様ポリペプチドに結合し得るさらなる抗体を、抗イディオタイプ抗体を使用して2段階手順において生成し得る。このような方法は、抗体それ自体が抗原であり、それゆえ第二の抗体に結合する抗体を得ることが可能であるという事実を利用する。この方法に従って、タンパク質特異的抗体を使用して、動物(好ましくは、マウス)を免疫する。次いで、このような動物の脾細胞を使用して、ハイブリドーマ細胞を産生する。そして、このハイブリドーマ細胞は、抗体のB7様タンパク質特異的抗体に結合する能力がB7様ポリペプチドによってブロックされ得る抗体を産生するクローンを同定するためにスクリーニングされる。このような抗体は、B7様タンパク質特異的抗体に対する抗イディオタイプ抗体を含み、そして動物を免疫してさらなるB7様タンパク質特異的抗体の形成を誘導するために使用される。

30

【1120】

ヒトにおける抗体のインビボ使用のために、抗体は、「ヒト化」される。このような抗体は、上記のモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマ細胞に由来する遺伝的構築物を使用して産生され得る。キメラ抗体およびヒト化抗体を産生するための方法は当該分野で公知であり、そして本明細書中で議論される(総説については、Morrisson, Science 229: 1202(1985); Oiら、BioTechniques 4: 214(1986); Cabillyら、米国特許第4,816,567号; Taniguchiら、EP 171496; Morrissonら、EP 173494; Neubergerら、WO 8601533; Robinsonら、WO 8702671; Boulianneら、Nature 312: 643(1984); Neubergerら、Nature 314: 268(1985)を参照のこと)。

40

【1121】

(b.scFvsのライブラリーからのB7様ポリペプチドに対して指向される抗体フラグメントの単離)

ヒトPBLから単離した天然に存在するV遺伝子を、ドナーが曝され得たかまたは曝され得なかったB7様ポリペプチドに対する反応性を含む抗体フラグメントのライブラリーに構築する(例えば、米国特許第5,885,793号(その全体において本明細書に参考として援用される)を参照のこと)。

【1122】

(ライブラリーのレスキュー)

50

PCT公開WO 92/01047に記載のように、ヒトPBLのRNAからscFvsのライブラリーを構築する。抗体フラグメントを提示するファージをレスキューするため、ファージミドを保有する約109個のE. coliを用いて、50mlの2xTY(1%グルコースおよび100μg/mlのアンプシリンを含有する)(2xTY-AMP-GLU)を接種し、そして振盪しながら0.8のO.D.まで増殖させる。この培養物の5mlを用いて50mlの2xTY-AMP-GLUに接種し、2x10⁸TUの遺伝子3ヘルパー(M13 遺伝子III、PCT公開WO92/01047を参照のこと)を添加し、そして培養物を振盪なしで37で45分間インキュベートし、次いで振盪しながら37で45分間インキュベートする。この培養物を10分間4000rpmで遠心分離し、そしてペレットを2リットルの2xTY(100μg/mlアンプシリンおよび50μg/mlカナマイシンを含有する)中に再懸濁し、そして一晩増殖させる。ファージをPCT公開WO92/01047に記載のように調製する。

【1123】

M13 遺伝子IIIを以下のように調製する：M13 遺伝子IIIヘルパーファージは、遺伝子IIIタンパク質をコードしない。それゆえ、抗体フラグメントを提示するファージ(ファージミド)は、抗原に対するより大きい結合アフィニティを有する。ファージ形態形成の間、野生型遺伝子IIIタンパク質を供給するpUC19誘導体を保有する細胞においてヘルパーファージを増殖させることにより、感染性M13 遺伝子III粒子を作製する。培養物を振盪なしで37で1時間インキュベートし、次いで振盪しながら37でさらに1時間インキュベートする。細胞を遠心沈殿(IEC-Centra 8, 4000rpmで10分間)し、100μg/mlのアンプシリンおよび25μg/mlのカナマイシンを含有する2xTYプロス(2xTY-AMP-KAN)300ml中に再懸濁し、そして37で振盪しながら一晩増殖させる。ファージ粒子を、2回のPEG沈殿(Sambrookら、1990)により培養培地から精製および濃縮し、2ml PBSに再懸濁し、そして0.45μmのフィルター(Minisart NML; Sartorius)を通過させ、約10¹³形質導入単位/ml(アンプシリン耐性クローン)の最終濃度を得る。

【1124】

(ライブラリーのパニング)

Immunotubes(Nunc)を、本発明のポリペプチドの100μg/mlまたは10μg/mlのいずれかの4mlを用いてPBS中で一晩被膜する。チューブを2% Marvel-PBSを用いて37で2時間ブロックし、次いでPBS中で3回洗浄する。約10¹³TUのファージをチューブに適用し、そして、回転盤上で上下にタンプリングしながら室温で30分間インキュベートし、次いでさらに1.5時間静置しておく。チューブをPBS 0.1% Tween-20で10回、そしてPBSで10回洗浄する。1mlの100mMトリエチルアミンを添加し、そして回転盤上で15分間上下に回転させることによりファージを溶出し、その後この溶液を0.5mlの1.0M Tris-HCl, pH7.4で直ちに中和する。次いで、溶出したファージを細菌とともに37で30分間インキュベートすることにより、ファージを用いて、10mlの対数増殖中期のE. coli TG1に感染させる。次いで、E. coliを1%グルコースおよび100μg/mlアンプシリンを含有するTYEプレート上にプレートする。次いで、得られる細菌ライブラリーを、上記のように遺伝子3ヘルパーファージでレスキューし、次の回の選択のためのファージを調製する。次いで、このプロセスを、アフィニティ精製について全4回反復し、3回目および4回目にはチューブ洗浄をPBS、0.1% Tween-20で20回、そしてPBSで20回に増加する。

【1125】

(結合剤の特徴付け)

第3回目および4回目の選択からの溶出したファージを用いて、E. coli HB 2151を感染させ、そして可溶性scFvをアッセイのために単一コロニーから生成する(Marksら、1991)。50mM炭酸水素塩、pH9.6中の本発明のポリペプチ

ドの10pg/mlのいずれかで被膜したマイクロタイタープレートを用いてELISAを実施する。ELISA中の陽性クローンをPCRフィンガープリンティング(例えば、PCT公開WO92/01047を参照のこと)、次いで配列決定することによりさらに特徴付ける。これらのELISA陽性クローンはまた、当該分野において公知の技術(例えば、エピトープマッピング、結合親和性、レセプターシグナル形質導入、抗体/抗原結合をブロックするかまたは競合的に阻害する能力、および競合的アゴニスト活性または競合的アンタゴニスト活性など)によりさらに特徴付けられ得る。

【1126】

(実施例17: B7様ノックアウト動物)

内因性B7様遺伝子発現はまた、標的化された相同組換えを使用してB7様遺伝子および/またはそのプロモーターを不活性化あるいは「ノックアウトすることによって減少し得る(例えば、Smithiesら、Nature 317:230-234(1985); Thomas & Capecci、Cell 51:503-512(1987); Thompsonら、Cell 5:313-321(1989)を参照のこと;これらの各々は、その全体において本明細書中で参考として援用される)。例えば、内因性ポリヌクレオチド配列(この遺伝子のコード領域または調節領域のいずれか)と相同性のDNAに隣接される、本発明の変異体、非機能的なポリヌクレオチド(または完全に関連のないDNA配列)を、選択マーカーおよび/またはネガティブ選択マーカーを用いてまたは用いずに使用し、インビボで本発明のポリペプチドを発現する細胞をトランスフェクトし得る。別の実施形態において、当該分野で公知の技術を、目的の遺伝子を含むが、発現しない細胞中でノックアウトを作製するために使用する。標的化された相同組換えを介した、このDNA構築物の挿入は、標的化された遺伝子の不活化を生じる。このようなアプローチは、胚性幹細胞に対する改変が不活性化標的化された遺伝子を有する動物の子孫を作製するために使用され得る研究および農業分野に特に適する(例えば、Thomas & Capecci 1987およびThompson 1989、前出を参照のこと)。しかし、このアプローチは、当業者に明白な適切なウイルスベクターを使用して、組換えDNA構築物がインビボで要求された部位に直接投与されるか、または標的化される場合、ヒトにおける使用に慣用的に適合され得る。

【1127】

本発明のさらなる実施形態において、本発明のポリペプチドを発現するために遺伝子操作される細胞、あるいは本発明のポリペプチドを発現しないように遺伝子操作された細胞(例えば、ノックアウト)を、インビボで患者に投与する。このような細胞は、患者(すなわち、ヒトを含む動物)またはMHC適合性ドナーから入手され得、そしてこれらとしては、線維芽細胞、骨髄細胞、血球(例えば、リンパ球)、脂肪細胞、筋細胞、内皮細胞などが挙げられ得るが、これらに限定されない。この細胞を、例えば、形質導入(ウイルスベクター、および好ましくは細胞ゲノム中に導入遺伝子を組み込むベクターを使用する)、またはトランスフェクション手順(プラスミド、コスミド、YAC、裸のDNA、エレクトロポレーション、リポソームなどの使用を含むが、これらに限定されない)によって、細胞中に本発明のポリペプチドのコード配列を導入するために、あるいはこのコード配列および/または本発明のポリペプチドに結合している内因性の調節配列を中断するために、組換えDNA技術を使用してインビトロで遺伝子操作する。本発明のポリペプチドのコード配列を、強力な構成的プロモーターもしくは誘導性プロモーターまたはプロモーター/エンハンサーの制御下に配置し、B7様ポリペプチドの発現および好ましくは分泌を達成し得る。本発明のポリペプチドを発現および好ましくは分泌する操作した細胞を、例えば、循環中において、または腹腔内で患者中へ全身的に導入し得る。

【1128】

あるいは、この細胞をマトリックスに組み込み得、そして身体に移植し得る(例えば、遺伝子操作した線維芽細胞を、皮膚移植片の一部として移植し得る); 遺伝子操作した内皮細胞を、リンパ移植片または脈管移植片の一部として移植し得る(例えば、Andersonら、米国特許第5,399,349号; およびMulligan & Wilson 50

、米国特許第5,460,959号を参照のこと。これらの各々は、本明細書中でその全体が参考として援用される)。

【1129】

投与される細胞が非自己または非MHC適合性細胞である場合、それらを、この導入細胞に対する宿主免疫応答の発生を妨害する周知の技術を使用して投与し得る。例えば、この細胞をカプセル化形態で導入し得、この形態は、構成成分とすぐ隣の細胞外環境との交換を可能にするが、導入された細胞が宿主免疫系によって認識されることを可能にしない。

【1130】

本発明のノックアウト動物は、B7様ポリペプチドの生物学的機能の作製、異常なB7様発現に関連する状態および/または障害の研究、ならびにこのような状態および/または障害を寛解させるに有効な化合物のスクリーニングにおいて有用な動物モデル系を含むが、それらに限定されない用途を有する。

10

【1131】

(実施例18: B7様カウンターレセプター(Counter-Receptor)発現)

B7様分子のカウンターレセプターの発現を検出するために、T細胞上の活性化されたマーカーの発現を、CD25、CD40L、4-1BBおよびOX40に特異的なFITC結合体化mAbを用いて分析する。1回または二重に染色した細胞を、Becton-Dickinson FACScan(Mountain View, CA)を使用して分析する。

20

【1132】

(実施例19: T細胞の増殖およびサイトカインアッセイ)

T細胞増殖およびサイトカイン産生を測定するための方法は、以前に記載されている(Dong, Hら, Nat Med., 5:1365-9(1999))。簡略には、平底96ウェルプレートをまず、40または200ng/mlで、50μl/ウェルの抗CD3 mAbを用いて一晚4でコーティングし、引き続いてB7-H3 IgまたはコントロールIgを用いて37で4時間コーティングする。示された濃度のT細胞を72時間培養し、そして³H-TdRを、最後の18時間に、1μCi/ウェルで添加し、そして³H-TdR取り込みをMicrobeta Trilix液体シンチレーションカウンター(Wallac, Turku, Finland)で計数する。T細胞培養の48時間後に上清を集め、そしてDongらによって記載されるような適切なサンドイッチELISA(Pharmingenから購入したmAbを利用する)を用いてIL-2、IL-10、およびIFN-についてアッセイする。

30

【1133】

(実施例20: T細胞の増殖、同時刺激、および前刺激増殖アッセイ)

(休止PBLについての増殖アッセイ)

CD3誘導性の増殖アッセイをPBMCで実行し、そして³H-チミジンの取り込みにより測定する。このアッセイを以下のように実行する。96ウェルプレートを、CD3に対するmAb(HIT3a, Pharmingen)の100μl/ウェル、またはアイソタイプ適合のコントロールmAb(B33.1)(0.05Mの炭酸水素塩緩衝液(pH 9.5)中、1μg/ml)で4で1晩コートし、次いでPBSで3回洗浄する。PBMCを、ヒト末梢血からFicoll/Hypaque(F/H)勾配遠心分離により単離し、そして種々の濃度のB7様タンパク質の存在下で、10%FCSならびにペニシリンおよびストレプトマイシン(P/S)を含有するRPMI中、mAbでコートしたプレートの4通りのウェル(5×10⁴/ウェル)に添加する(総量200μl)。関連するタンパク質の緩衝液および培地のみがコントロールである。37での培養の48時間後、プレートを1000rpmで2分間回転させ、そして100μlの上清を除去し、そして、増殖に対する効果が観察される場合、IL-2(または他のサイトカイン)の測定のために-20で貯蔵した。ウェルに、0.5μCiの³H-チミジンを含有する100μlの培地を補充し、そして37で18~24時間培養する。ウェルを収集し、そして

40

50

³H-チミジンの取り込みを増殖の指標として用いた。抗CD3単独が増殖の陽性コントロールである。IL-2(100U/ml)をまた、増殖を増強するコントロールとして用いる。T細胞の増殖を誘導しないコントロール抗体を、B7様タンパク質の効果についての陰性コントロールとして使用する。

【1134】

あるいは、休止しているPBL(末梢血リンパ球)上での増殖アッセイを、³H-チミジンの取り込みにより測定する。このアッセイを以下のように実行する。PBMCをヒト末梢血から、F/H勾配遠心分離により単離し、そして10%FCS/RPMI中で一晚培養する。この一晚のインキュベーション期間によって、接着性細胞をプラスチックに接着させる。これは、アッセイにおけるより低いバックグラウンドをもたらす。なぜなら、抗原提示細胞として作用し得るか、または増殖因子を産生し得る細胞が少ないからである。翌日、非接着性細胞を集め、洗浄し、増殖アッセイ中で用いる。このアッセイを、最終容量200μl中で、 2×10^4 細胞/ウェルを用いて96ウェルプレート中で実施する。目的のB7様ポリペプチドを発現する上清を、30%の最終希釈で試験し、従って、60μlを、細胞を含有する140μlの培地に添加する。コントロール上清を同じ最終希釈で用い、そしてこれは以下のタンパク質を発現する：ベクターのみ(陰性コントロール)、IL-2、IFN、TNF、IL-10およびTR2。コントロール上清に加えて、組換えヒトIL-2をまた、最終濃度100ng/mlで用いる。培養の24時間後、各ウェルを1μCiの³H-チミジンでパルスする。次いで、細胞をパルスの20時間後に収集し、そして³H-チミジンの取り込みを増殖の指標として用いる。結果を3連のサンプルの平均±標準誤差として表す。

10

20

【1135】

(同時刺激アッセイ)

休止しているPBL(末梢血リンパ球)での同時刺激アッセイを、CD3およびCD28に対して固定された抗体の存在下で実施する。CD3の不変領域に特異的な抗体の使用は、抗原によりT細胞レセプターの刺激を通じて生じるT細胞活性化の誘導を模倣する。同時刺激シグナル(第2シグナル)の非存在下でのTCR(第1シグナル)の架橋は、増殖の非常に低い誘導を引き起こし、そして最終的には「アネルギー」の状態(この状態は、増殖がないことおよびサイトカイン産生をできないことによって特徴付けられる)を生じる。活性化ACP上で発現される同時刺激分子B7-1の作用を模倣する、CD28に対する抗体のような同時刺激シグナルの追加は、細胞生存およびIL-2の産生を含むT細胞応答の増強を生じる。従って、この型のアッセイにより、目的のタンパク質を発現する上清の添加によって引き起こされる、T細胞増殖に対する正の影響および負の影響の両方を検出できる。

30

【1136】

このアッセイを以下のように実施する。最終容量100μlで100ng/ml抗CD3および5μg/ml抗CD28を用いて、96ウェルプレートをコートし、そして4で一晚インキュベートする。使用前に、プレートをPBSで2回洗浄する。PBMCを、ヒト末梢血からF/H勾配遠心分離により単離し、そして10%FCS/RPMI中で一晚培養する。この一晚のインキュベーション期間によって、接着性細胞をプラスチックに接着させる。これは、アッセイにおけるより低いバックグラウンドをもたらす。なぜなら、抗原提示細胞として作用し得るか、または増殖因子を産生し得る細胞が少ないからである。翌日、非接着性細胞を集め、洗浄し、増殖アッセイにおいて用いる。このアッセイを、最終容量200μlで、 2×10^4 細胞/ウェルを用いて96ウェルプレート中で実施する。目的のB7様ポリペプチドを発現する上清を、30%の最終希釈で試験し、従って、60μlを、この細胞を含有する140μlの培地に添加する。コントロール上清を同じ最終希釈で用い、そしてこれは以下のタンパク質を発現する：ベクターのみ(陰性コントロール)、IL-2、IFN、TNF、IL-10およびTR2。コントロール上清に加えて、組換えヒトIL-2をまた、最終濃度10ng/mlで用いる。培養の24時間後、各ウェルを1μCiの³H-チミジンでパルスする。次いで、細胞をパルスの

40

50

20時間後に収集し、そして³H-チミジンの取り込みを増殖の指標として用いる。結果を3連のサンプルの平均±標準誤差として表す。

【1137】

(前活性化した休止しているT細胞の増殖アッセイ)

レクチンフィトヘマグルチニン(PHA)を用いて事前に活性化した細胞上で、前活性化した休止しているT細胞での増殖アッセイを実施する。レクチンは、TCRを含むT細胞表面糖タンパク質上の残基に結合し得るポリマー性植物タンパク質であり、そしてポリクロールアカチベータとして作用する。PBLをPHAで処理し、次いで低用量のIL-2類似エフェクターT細胞の存在下で培養する。これらの細胞は一般に、IL-2のような増殖因子によって誘導されたさらなる活性化に対してより感受性である。これは、高親和性IL-2レセプターの発現に起因する。このレセプターは、この集団が、ナイーブなT細胞上で効果を有する量の100分の1の量のIL-2に応答することを可能にする。従って、この型の細胞の使用は、休止している(ナイーブな)T細胞での増殖を誘導するのに十分でない、非常に低用量の未知の増殖因子の効果を検出し得る。

10

【1138】

このアッセイを以下のように実行する。PBMCを、ヒト末梢血からF/H勾配遠心分離により単離し、そして2μg/mlのPHAの存在下で、3日間培養する。次いでこの細胞を洗浄し、そして5ng/mlのヒト組換えIL-2の存在下で、3日間培養する。この細胞を洗浄して、飢餓培地(1%FCS/RPMI)中で16時間休息させ、その後増殖アッセイを開始する。細胞のアリコートはFACSによって分析して、T細胞(CD3陽性細胞)のパーセンテージを決定する;これは通常ドナーに依存して93~97%の間にわたる。このアッセイを、最終容量200μlで、2×10⁴細胞/ウェルを用いて96ウェルプレート中で実施する。目的のB7様ポリペプチドを発現する上清を、30%の最終希釈で試験し、従って、60μlを、細胞を含有する140μlの培地に添加する。コントロール上清を同じ最終希釈で用い、そしてこれは以下のタンパク質を発現する:ベクターのみ(陰性コントロール)、IL-2、IFN-、TNF-、IL-10およびTR2。コントロール上清に加えて、組換えヒトIL-2をまた、最終濃度10ng/mlで用いる。培養の24時間後、各ウェルを1μCiの³H-チミジンでパルスする。次いで、細胞をパルスの20時間後に収集し、そして³H-チミジンの取り込みを増殖の指標として用いる。結果を3連のサンプルの平均±標準誤差として表す。

20

30

【1139】

本実施例において記載される研究は、B7様タンパク質における活性を試験したが、当業者は、B7様ポリヌクレオチドの活性(例えば、遺伝子治療)、B7様のアゴニスト、および/またはアンタゴニストを試験するために、例示する研究を容易に改変し得る。

【1140】

本発明を、前述の説明および実施例に詳細に記載された以外の方法で実施し得ることは、明らかである。本発明の多数の改変およびバリエーションが、上記の教示を考慮して可能であり、従って、それは、添付の特許請求の範囲の範囲内である。

【1141】

発明の背景、詳細な説明および実施例において引用された各文書の全開示(特許、特許出願、学術文献、要約、実験室マニュアル、書籍または他の開示を含む)は、本明細書中に参考として援用される。さらに、本明細書とともに提出された配列表のハードコピーおよび対応するコンピューター読み出し可能形態は、その両方が本明細書中にその全体において参考として援用される。

40

【1142】

本発明の特定のB7様ポリヌクレオチドおよびポリペプチド(抗体を含む)は、米国仮出願番号60/215,135および60/225,266に開示されており、その明細書および配列表は、その全体において本明細書中に参考として援用される。

【1143】

【表14】

50

寄託された微生物または他の 生物学的材料に関する表示 (PCT規則13規則の2)			
A. 表示は明細書中下記の箇所で言及された微生物に関してなされた。 115頁, 表1			
B. 寄託物の表示		さらなる寄託物が追加の用紙に記載されている。 <input type="checkbox"/>	
寄託機関の名称: アメリカン タイプ カルチャー コレクション			
寄託機関の住所 (郵便番号および国を含む) アメリカ合衆国 バージニア 20110-2209, マナサス ユニバーシティ ブルーバード 10801			
寄託日 2000年8月7日		受託番号 PTA-2332	
C. 追加の表示 (なければ空白のまま)		この情報は追付の要旨に続く <input type="checkbox"/>	
D. 表示がなされた指定締結国 (全ての指定締結国に対する表示ではない場合) 欧州: EP0が求められる指定機関に関して、寄託された微生物の試料は、欧州特許を付与する旨の告示が公表されるまで、または特許出願が拒絶され、取り下げられ、もしくは取り下げられたものとみなされる日まで、請求人により指名された専門家に試料を分譲することによってのみ入手可能になる。(EPC規則28(4)) 以下の頁に続く			
E. 別に添付する表示物 (なければ空白のまま)			
下記の表示物は、追って国際事務局に提出する(表示物の一般的性質、例えば「寄託物の受託番号」の特定)			
受理官庁記入欄		国際事務局記入欄	
<input checked="" type="checkbox"/> この用紙は国際出願とともに受理された		<input type="checkbox"/> この用紙は以下の日付で国際事務局により受理された	
認定官		認定官	

PCT/RO/134改定様式 (2001年1月)

ATCC 受託番号 PTA - 2332
(カナダ)

出願人は、出願に基づきカナダ国特許が発行されるか、あるいは同出願が拒絶または放棄されて回復され得なくなるかもしくは取り下げられるまでは、特許庁長官 (Commissioner of Patents) が、長官により指名された独立の専門家に対してのみ出願中で言及された寄託済みの生物学的材料のサンプルの供与を許可する旨を請求し、出願人は、国際出願の公表のための規則上の準備が完了する前に、書面によりその旨を国際事務局に告知しなければならない。

10

20

30

40

50

【 1 1 4 4 】

(ノルウェー)

出願人はここにおいて、出願が（ノルウェー特許庁により）公開に付されるかあるいは公開を経ずにノルウェー特許庁による決定を受けるまでは、サンプルの供与は当該技術の専門家に対してのみ行われる旨を、請求する。この旨の請求は、ノルウェー特許法第 22 条および第 33 条（3）に基づき出願が公に利用可能にされる時点以前に、出願人によりノルウェー特許庁に対してなされるものとする。そのような請求が出願人によりなされた場合は、第三者によるサンプルの供与のいかなる請求においても、利用される専門家を表示するものとする。専門家は、ノルウェー特許庁により作成された公認専門家のリスト（*list of recognized experts*）に記載された任意の者か、あるいは、個々の場合において出願人により承認された任意の者であり得る。

10

【 1 1 4 5 】

(オーストラリア)

出願人はここにおいて、微生物のサンプルの供与は、特許の付与前において、あるいは出願の放棄（*lapsing*）、拒絶あるいは取り下げ前において、発明に対し利害関係を有さない当業者である対象者（*skilled addressee*）に対してのみ行われる旨を、告知するものである（オーストラリア国特許法第 3.25（3）号規定）。

【 1 1 4 6 】

(フィンランド)

出願人はここにおいて、出願が（特許および統制委員会（*National Board of Patents and Regulations*）により）公開に付されるかあるいは公開を経ずに国立特許および法規委員会による決定を受けるまでは、サンプルの供与は当該技術の専門家に対してのみ行われる旨を、請求する。

20

【 1 1 4 7 】

(英国)

出願人はここにおいて、微生物のサンプルは専門家に対してのみ利用可能にされる旨を、請求する。この旨の請求は、出願の国際公表のための規則上の準備が完了する前に、出願人により国際事務局に対してなされなければならない。

A T C C 受託番号 P T A - 6 2 9

(デンマーク)

出願人はここにおいて、出願が（デンマーク特許庁により）公開に付されるかあるいは公開を経ずにデンマーク特許庁による決定を受けるまでは、サンプルの供与は当該技術の専門家に対してのみ行われる旨を、請求する。この旨の請求は、デンマーク特許法第 22 条および第 33 条（3）に基づき出願が公に利用可能にされる時点以前に、出願人によりデンマーク特許庁に対してなされるものとする。そのような請求が出願人によりなされた場合は、第三者によるサンプルの供与のいかなる請求においても、利用される専門家を表示するものとする。専門家は、デンマーク特許庁により作成された公認専門家のリスト（*list of recognized experts*）に記載された任意の者か、あるいは、個々の場合において出願人により承認された任意の者であり得る。

30

【 1 1 4 8 】

(スウェーデン)

出願人はここにおいて、出願が（スウェーデン特許庁により）公開に付されるかあるいは公開を経ずにスウェーデン特許庁による決定を受けるまでは、サンプルの供与は当該技術の専門家に対してのみ行われる旨を、請求する。この旨の請求は、優先日から 16 ヶ月が経過するよりも前に、出願人により国際事務局に対してなされるものとする（好ましくは P C T Applicant's Guide の Volume I の annex Z に記載された書式 P C T / R O / 1 3 4 による）。そのような請求が出願人によりなされた場合は、第三者によるサンプルの供与のいかなる請求においても、利用される専門家を表示するものとする。専門家は、スウェーデン特許庁により作成された公認専門家のリスト（*list of recognized experts*）に記載された任意の者か、あ

40

50

るいは、個々の場合において出願人により承認された任意の者であり得る。

【1149】

(オランダ)

出願人はここにおいて、オランダ特許の発行日まで、あるいは出願が拒絶、取り下げあるいは放棄 (lapsed) される日までは、特許法 31F(1) の規定に基づき、微生物は専門家へのサンプル供与の形でのみ行われる旨を、請求する。この旨の請求は、オランダ王国特許法の第 22C 条または第 25 条に基づき出願が公に利用可能にされる日のうちいずれか早い方の日付よりも前に、出願人によりオランダ工業所有権局に対して提出されるものとする。

【図面の簡単な説明】

10

【図 1】

図 1 A ~ D は、B 7 - H 8 遺伝子に対応するヌクレオチド配列 (配列番号 2) および推定アミノ酸配列 (配列番号 14) を示す。

【図 2】

図 2 は、B 7 - H 8 タンパク質のアミノ酸配列 (配列番号 14) の分析を示す。領域、領域、ターン領域およびコイル領域; 親水性領域および疎水性領域; 両親媒性領域; 可撓性領域; 抗原性指標および表面可能性が示され、そしてこれら全ては、引用されるコンピュータアルゴリズムのデフォルト設定を用いて作製された。「抗原性指標または Jamesson-Wolf」グラフにおいて、陽性のピークは、このタンパク質の高い抗原性領域の位置 (すなわち、本発明のエピトープ保有ペプチドが入手され得る領域) を示す。これらのグラフによって規定されるドメインを含むか、あるいはこれらからなるポリペプチドが、本発明によって意図され、同様に、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドも意図される。

20

【図 3】

図 3 A ~ C は、B 7 - H 7 遺伝子に対応するヌクレオチド配列 (配列番号 3) および推定アミノ酸配列 (配列番号 15) を示す。

【図 4】

図 4 は、B 7 - H 7 タンパク質のアミノ酸配列 (配列番号 15) の分析を示す。領域、領域、ターン領域およびコイル領域; 親水性領域および疎水性領域; 両親媒性領域; 可撓性領域; 抗原性指標および表面可能性が示され、そしてこれら全ては、引用されるコンピュータアルゴリズムのデフォルト設定を用いて作製された。「抗原性指標または Jamesson-Wolf」グラフにおいて、陽性のピークは、このタンパク質の高い抗原性領域の位置 (すなわち、本発明のエピトープ保有ペプチドが入手され得る領域) を示す。これらのグラフによって規定されるドメインを含むか、あるいはこれらからなるポリペプチドが、本発明によって意図され、同様に、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドも意図される。

30

【図 5】

図 5 A ~ C は、B 7 - H 9 遺伝子に対応するヌクレオチド配列 (配列番号 4) および推定アミノ酸配列 (配列番号 16) を示す。

【図 6】

図 6 は、B 7 - H 9 タンパク質のアミノ酸配列 (配列番号 16) の分析を示す。領域、領域、ターン領域およびコイル領域; 親水性領域および疎水性領域; 両親媒性領域; 可撓性領域; 抗原性指標および表面可能性が示され、そしてこれら全ては、引用されるコンピュータアルゴリズムのデフォルト設定を用いて作製された。「抗原性指標または Jamesson-Wolf」グラフにおいて、陽性のピークは、このタンパク質の高い抗原性領域の位置 (すなわち、本発明のエピトープ保有ペプチドが入手され得る領域) を示す。これらのグラフによって規定されるドメインを含むか、あるいはこれらからなるポリペプチドが、本発明によって意図され、同様に、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドも意図される。

40

【図 7】

50

図 7 A ~ C は、B 7 - H 1 1 遺伝子に対応するヌクレオチド配列（配列番号 5）および推定アミノ酸配列（配列番号 17）を示す。

【図 8】

図 8 は、B 7 - H 1 1 タンパク質のアミノ酸配列（配列番号 17）の分析を示す。領域、領域、ターン領域およびコイル領域；親水性領域および疎水性領域；両親媒性領域；可撓性領域；抗原性指標および表面可能性が示され、そしてこれら全ては、引用されるコンピューターアルゴリズムのデフォルト設定を用いて作製された。「抗原性指標または Jameson - Wolf」グラフにおいて、陽性のピークは、このタンパク質の高い抗原性領域の位置（すなわち、本発明のエピトープ保有ペプチドが入手され得る領域）を示す。これらのグラフによって規定されるドメインを含むか、あるいはこれらからなるポリペプチドが、本発明によって意図され、同様に、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドも意図される。

10

【図 9】

図 9 A ~ B は、B 7 - H 1 0 遺伝子に対応するヌクレオチド配列（配列番号 6）および推定アミノ酸配列（配列番号 18）を示す。

【図 10】

図 10 は、B 7 - H 1 0 タンパク質のアミノ酸配列（配列番号 18）の分析を示す。領域、領域、ターン領域およびコイル領域；親水性領域および疎水性領域；両親媒性領域；可撓性領域；抗原性指標および表面可能性が示され、そしてこれら全ては、引用されるコンピューターアルゴリズムのデフォルト設定を用いて作製された。「抗原性指標または Jameson - Wolf」グラフにおいて、陽性のピークは、このタンパク質の高い抗原性領域の位置（すなわち、本発明のエピトープ保有ペプチドが入手され得る領域）を示す。これらのグラフによって規定されるドメインを含むか、あるいはこれらからなるポリペプチドが、本発明によって意図され、同様に、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドも意図される。

20

【図 11】

図 11 A ~ B は、B 7 - H 1 2 遺伝子に対応するヌクレオチド配列（配列番号 7）および推定アミノ酸配列（配列番号 19）を示す。

【図 12】

図 12 は、B 7 - H 1 2 タンパク質のアミノ酸配列（配列番号 19）の分析を示す。領域、領域、ターン領域およびコイル領域；親水性領域および疎水性領域；両親媒性領域；可撓性領域；抗原性指標および表面可能性が示され、そしてこれら全ては、引用されるコンピューターアルゴリズムのデフォルト設定を用いて作製された。「抗原性指標または Jameson - Wolf」グラフにおいて、陽性のピークは、このタンパク質の高い抗原性領域の位置（すなわち、本発明のエピトープ保有ペプチドが入手され得る領域）を示す。これらのグラフによって規定されるドメインを含むか、あるいはこれらからなるポリペプチドが、本発明によって意図され、同様に、これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドも意図される。

30

【図 13】

図 13 A ~ C は、B 7 - H 1 3 遺伝子に対応するヌクレオチド配列（配列番号 8）および推定アミノ酸配列（配列番号 20）を示す。

40

【図 14】

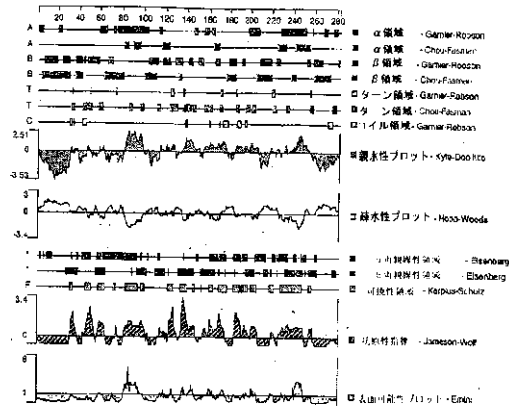
図 14 は、B 7 - H 1 3 タンパク質のアミノ酸配列（配列番号 20）の分析を示す。領域、領域、ターン領域およびコイル領域；親水性領域および疎水性領域；両親媒性領域；可撓性領域；抗原性指標および表面可能性が示され、そしてこれら全ては、引用されるコンピューターアルゴリズムのデフォルト設定を用いて作製された。「抗原性指標または Jameson - Wolf」グラフにおいて、陽性のピークは、このタンパク質の高い抗原性領域の位置（すなわち、本発明のエピトープ保有ペプチドが入手され得る領域）を示す。これらのグラフによって規定されるドメインを含むか、あるいはこれらからなるポリペプチドが、本発明によって意図され、同様に、これらのポリペプチドをコードするポリ

50

ヌクレオチドも意図される。

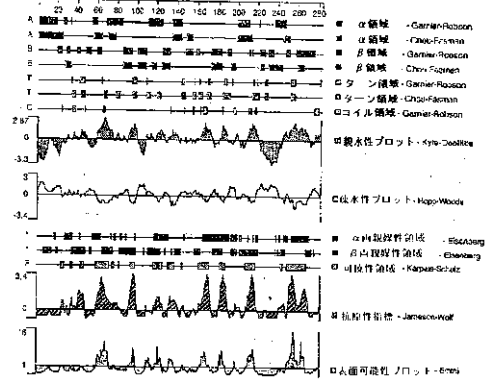
【 図 2 】

Figure 2



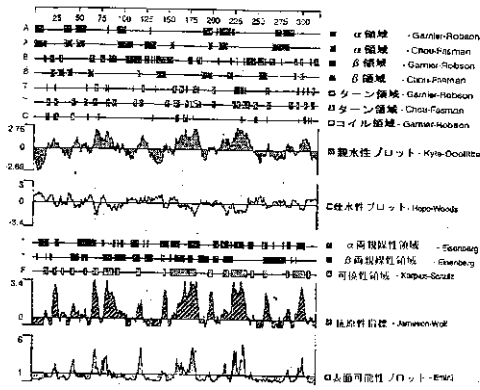
【 図 4 】

Figure 4



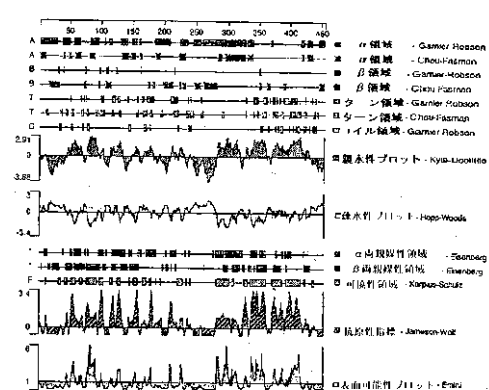
【 図 6 】

Figure 6



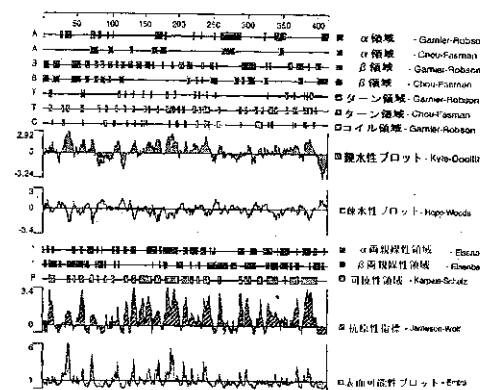
【 図 8 】

Figure 8



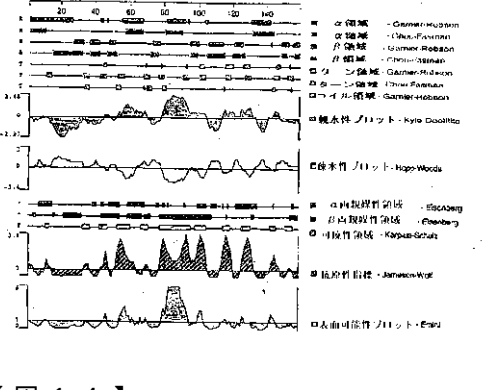
【 図 10 】

Figure 10



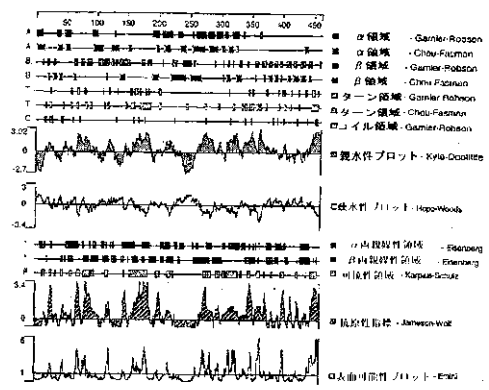
【 図 12 】

Figure 12



【 図 14 】

Figure 14



【国際公開パンフレット】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
10 January 2002 (10.01.2002)

PCT

(10) International Publication Number
WO 02/02587 A1

- (51) International Patent Classification: C07H 21/04.
C12N 15/10, 15/11, 15/12
- (21) International Application Number: PCT/US01/20917
- (22) International Filing Date: 29 June 2001 (29.06.2001)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data:
60/215,135 30 June 2000 (30.06.2000) US
60/225,266 14 August 2000 (14.08.2000) US
- (71) Applicant (for all designated States except US): HUMAN GENOME SCIENCES, INC. [US/US]; 9410 Key West Avenue, Rockville, MD 20850 (US).
- (72) Inventors: and
(75) Inventors/Applicants (for US only): FISCELLA, Michele [IT/US]; 6308 Rarhing Road, Beltsville, MD 20817 (US). NI, Jian [CN/US]; 17815 Fair Lady Way, Germantown, MD 20874 (US). RUBEN, Steven, M. [US/US]; 18528 Heritage Hills Drive, Olney, MD 20832 (US).
- (74) Agents: HOOVER, Kentley et al.; 9410 Key West Avenue, Rockville, MD 20850 (US).
- (81) Designated States (national): AP, AG, AI, AM, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NZ, NL, NT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.
- (84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SI, SZ, TZ, UG, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, EG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IL, LU, MC, NL, PL, SE, TR), OAPI patent (BF, BI, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GV, MI, MR, NI, SN, TD, TG).
- Published:
with international search report
before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments
with (any) indication(s) in relation to deposited biological material furnished under Rule 13bis separately from the description
with sequence listing part of description published separately in electronic form and available upon request from the International Bureau
- For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.



WO 02/02587 A1

(84) Title: B7 LIKE POLYNUCLEOTIDES, POLYPEPTIDES, AND ANTIBODIES

(57) Abstract: The present invention relates to novel human B7-like polypeptides and isolated nucleic acids containing the coding regions of the genes encoding such polypeptides. Also provided are vectors, host cells, antibodies, and recombinant methods for producing human B7 like polypeptides. The invention further relates to diagnostic and therapeutic methods useful for diagnosing and treating disorders related to these novel human B7 like polypeptides.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

B7-LIKE POLYNUCLEOTIDES, POLYPEPTIDES, AND ANTIBODIES

FIELD OF THE INVENTION

[1] The present invention relates to novel B7-like proteins. More specifically, isolated nucleic acid molecules are provided encoding novel B7-like polypeptides. Novel B7-like polypeptides and antibodies that bind to these polypeptides are provided. Also provided are vectors, host cells, and recombinant and synthetic methods for producing human B7-like polynucleotides and/or polypeptides. The invention further relates to diagnostic and therapeutic methods useful for diagnosing, treating, preventing and/or prognosing disorders related to these novel B7-like polypeptides. The invention further relates to screening methods for identifying agonists and antagonists of polynucleotides and polypeptides of the invention. The present invention further relates to methods and/or compositions for inhibiting the production and function of the polypeptides of the present invention.

BACKGROUND OF THE INVENTION

[2] Costimulatory interactions between the B7 family ligands and their receptors play critical roles in the growth, differentiation and death of T cells. Engagement of the T cell costimulator CD28 by either specific antibodies or its natural ligands B7-1 and B7-2 increases antigen-specific proliferation of CD4+ T cells, enhances production of cytokines, induces maturation of CD8+ effector T cells, and promotes T cell survival (Chambers, C.A., *et al.*, *Curr. Opin. Immunol.*, 9:396-404 (1997); Lenschow, D.I., *et al.*, *Annu. Rev. Immunol.*, 14:233-58 (1996); Chen, L., *et al.*, *Immunol. Today*, 14:483-86 (1993); Boise, L.H., *et al.*, *Curr. Opin. Immunol.*, 7:620-25 (1995)). Signaling through the homologous CTLA-4 receptor of B7-1 and B7-2 on activated T cells, however, is thought to deliver a negative signal that inhibits T cell proliferation, IL-2 production, and cell cycle progression (Krummel, M.F., *et al.*, *J. Exp. Med.*, 183:2533-540 (1996); Walunas, T.L., *et al.*, *J. Exp. Med.*, 183:2541-550 (1996)).

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[3] Although B7-1 and B7-2 share approximately 20% homology at the amino acid level, the two proteins share similar tertiary structure and costimulatory functions (Peach, R.L.J., *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 270:21181-187 (1995); Fargeas, C.A., *et al.*, *J. Exp. Med.*, 182:667-75 (1995); Bajorath, J., *et al.*, *Protein Sci.*, 3:2148-150 (1994); Guo, Y., *et al.*, *Mol. Immunol.*, 35:215-25 (1998)).

[4] Recent studies indicate that other members of the B7-CD28 family of proteins may also participate in the regulation of cellular and humoral immune responses. One of the new members is inducible costimulator (ICOS), a CD28-like receptor (Hutloff, A., *et al.*, *Nature*, 397:263-66 (1999)). While the natural ligand for ICOS has not been identified yet, a F44 monoclonal antibody (mAb) against ICOS costimulates T cell growth and increases secretion of several cytokines, including IL-10, IFN- γ , and IL-4, but not IL-2 (Hutloff, A., *et al.*, *Nature*, 397:263-66 (1999)).

[5] Another new B7 family member is mouse B7h, identified by Swallow and colleagues (Swallow, M.M., *et al.*, *Immunity*, 11:423-32 (1999)). B7h does not bind to CD28 and CTLA-4, and can costimulate T cell growth in the presence of antigenic signals. Surface expression of B7h can be up-regulated by TNF- α in 3T3 fibroblast cell lines, and the increase of B7h mRNA is also observed in non-lymphoid tissues exposed to LPS (Swallow, M.M., *et al.*, *Immunity*, 11:423-32 (1999)).

[6] A further recently reported novel member of the human B7 family of proteins is B7-H1 (Dong, H., *et al.*, *Nature Med.*, 5:1365-69 (1999)). B7-H1 shares approximately 20% identical amino acid sequence with B7-1 and B7-2 in the Ig V- and Ig C-like extracellular domains, but differs more profoundly from B7-1 and B7-2 in the cytoplasmic domain. Surface expression of B7-H1 can be detected in the majority of activated CD14⁺ macrophages, and in a fraction of activated T cells. B7-H1 costimulates T cell responses in the presence of the suboptimal doses of anti-CD3 mAb, enhances allogenic mixed lymphocyte responses, and preferentially induces IL-10 secretion from T cells (Dong, H., *et al.*, *Nature Med.*, 5:1365-69 (1999)).

[7] Activation of certain cells in the body, such as T cells, can result in the initiation of the inflammatory response, resulting in inflammation. Inflammation, which is characterized by redness, swelling, heat, and pain, is an essential immune response which occurs following tissue injury or infection. The initial event triggers an elaborate signaling cascade which results in increased local blood flow, blood clotting, and vascular permeability. These acute

WO 02/02587

PCT/US01/20917

changes facilitate the recruitment of phagocytic leukocytes to the site of injury or infection. Once at the affected site, the immune cells can begin to neutralize pathogens and contribute to tissue repair.

[8] Among the many protein classes involved in the inflammatory response are blood clotting factors, vasodilating substances (such as histamine and bradykinin), cell adhesion molecules, cytokines (such as interleukins and chemokines), and immune system effector cells (such as neutrophils, macrophages, and lymphocytes).

[9] Although the inflammatory response is an important defense mechanism against infection by foreign substances, inappropriate or excessive activation of inflammation can lead to tissue damage and even death. Medical conditions resulting from inflammation include, but are not limited to, inflammatory bowel disease, multiple sclerosis, arthritis, asthma, allergies, sarcoidosis, septic shock, gastrointestinal cancers, pancreatitis, dermatitis, gout, systemic lupus erythematosus, and Grave's disease. Inflammation is also a potentially life-threatening complication of cardiopulmonary bypass surgery, renal ischemia-reperfusion, and traumatic injury.

[10] Several steroidal and nonsteroidal drugs have been used to control inflammation or to provide symptomatic relief. However, these therapies can be accompanied by numerous side effects which limit their usefulness. Therefore, there is a continuing need for more effective and less toxic alternatives for modulating the inflammatory response.

[11] Thus, there is a further need for polypeptides that are involved in the costimulation of T-cells, since disturbances of such regulation may be involved in disorders relating to the immune system and/or inflammatory disorders. Therefore, there is a need for the identification and characterization of such human polypeptides and antagonists thereof which can play a role in detecting, preventing, ameliorating or correcting such disorders.

SUMMARY OF THE INVENTION

[12] The present invention includes isolated nucleic acid molecules comprising, or alternatively, consisting of a polynucleotide sequence disclosed in the sequence listing and/or contained in a human cDNA plasmid described in Table 1 and deposited with the American Type Culture Collection (ATCC). Fragments, variants, and derivatives of these nucleic acid molecules are also encompassed by the invention. The present invention also includes

WO 02/02587

PCT/US01/20917

isolated nucleic acid molecules comprising, or alternatively, consisting of, a polynucleotide encoding B7-like polypeptides. The present invention further includes B7-like polypeptides encoded by these polynucleotides. Further provided for are amino acid sequences comprising, or alternatively, consisting of, B7-like polypeptides as disclosed in the sequence listing and/or encoded by the human cDNA plasmids described in Table 1 and deposited with the ATCC. Antibodies that bind these polypeptides are also encompassed by the invention. Polypeptide fragments, variants, and derivatives of these amino acid sequences are also encompassed by the invention, as are polynucleotides encoding these polypeptides and antibodies that bind these polypeptides.

DETAILED DESCRIPTION

Tables

[13] Table 1 summarizes ATCC Deposits, Deposit dates, and ATCC designation numbers of deposits made with the ATCC in connection with the present application. Table 1 further summarizes the information pertaining to each "Gene No." described below, including cDNA plasmid identifier, the type of vector contained in the cDNA plasmid identifier, the nucleotide sequence identifier number, nucleotides contained in the disclosed sequence, the location of the 5' nucleotide of the start codon of the disclosed sequence, the amino acid sequence identifier number, and the last amino acid of the ORF encoded by the disclosed sequence.

[14] Table 2 indicates public ESTs, of which at least one, two, three, four, five, ten, or more of any one or more of these public EST sequences are optionally excluded from certain embodiments of the invention.

[15] Table 3 represents the Tabular data for Figure 2, relating to the amino acid analysis of the B7-H8 protein. Alpha, beta, turn and coil regions; hydrophilicity and hydrophobicity; amphipathic regions; flexible regions; antigenic index and surface probability are shown, and all were generated using the default settings of the recited computer algorithms. Polypeptides comprising, or alternatively consisting of, domains defined by these graphs are contemplated by the present invention, as are polynucleotides encoding these polypeptides.

[16] Table 4 represents the Tabular data for Figure 4, relating to the amino acid analysis of the B7-H7 protein. Alpha, beta, turn and coil regions; hydrophilicity and hydrophobicity;

WO 02/02587

PCT/US01/20917

amphipathic regions; flexible regions; antigenic index and surface probability are shown, and all were generated using the default settings of the recited computer algorithms. Polypeptides comprising, or alternatively consisting of, domains defined by these graphs are contemplated by the present invention, as are polynucleotides encoding these polypeptides.

[17] Table 5 represents the Tabular data for Figure 6, relating to the amino acid analysis of the B7-H9 protein. Alpha, beta, turn and coil regions; hydrophilicity and hydrophobicity; amphipathic regions; flexible regions; antigenic index and surface probability are shown, and all were generated using the default settings of the recited computer algorithms. Polypeptides comprising, or alternatively consisting of, domains defined by these graphs are contemplated by the present invention, as are polynucleotides encoding these polypeptides.

[18] Table 6 represents the Tabular data for Figure 8, relating to the amino acid analysis of the B7-1/11 protein. Alpha, beta, turn and coil regions; hydrophilicity and hydrophobicity; amphipathic regions; flexible regions; antigenic index and surface probability are shown, and all were generated using the default settings of the recited computer algorithms. Polypeptides comprising, or alternatively consisting of, domains defined by these graphs are contemplated by the present invention, as are polynucleotides encoding these polypeptides.

[19] Table 7 represents the Tabular data for Figure 10, relating to the amino acid analysis of the B7-H10 protein. Alpha, beta, turn and coil regions; hydrophilicity and hydrophobicity; amphipathic regions; flexible regions; antigenic index and surface probability are shown, and all were generated using the default settings of the recited computer algorithms. Polypeptides comprising, or alternatively consisting of, domains defined by these graphs are contemplated by the present invention, as are polynucleotides encoding these polypeptides.

[20] Table 8 represents the Tabular data for Figure 12, relating to the amino acid analysis of the B7-H12 protein. Alpha, beta, turn and coil regions; hydrophilicity and hydrophobicity; amphipathic regions; flexible regions; antigenic index and surface probability are shown, and all were generated using the default settings of the recited computer algorithms. Polypeptides comprising, or alternatively consisting of, domains defined by these graphs are contemplated by the present invention, as are polynucleotides encoding these polypeptides.

[21] Table 9 represents the Tabular data for Figure 14, relating to the amino acid analysis of the B7-H13 protein. Alpha, beta, turn and coil regions; hydrophilicity and

WO 02/02587

PCT/US01/20917

hydrophobicity; amphipathic regions; flexible regions; antigenic index and surface probability are shown, and all were generated using the default settings of the recited computer algorithms. Polypeptides comprising, or alternatively consisting of, domains defined by these graphs are contemplated by the present invention, as are polynucleotides encoding these polypeptides.

[22] Table 10 summarizes the expression profile of polynucleotides corresponding to the clones disclosed in Table 1. The first column provides a unique clone identifier, "cDNA Plasmid:V", for a cDNA clone related to each contig sequence disclosed in Table 1. Column 2, "Library Code" shows the expression profile of tissue and/or cell line libraries which express the polynucleotides of the invention. Each Library Code in column 2 represents a tissue/cell source identifier code corresponding to the Library Code and Library description provided in Table 12. Expression of these polynucleotides was not observed in the other tissues and/or cell libraries tested. One of skill in the art could routinely use this information to identify tissues which show a predominant expression pattern of the corresponding polynucleotide of the invention or to identify polynucleotides which show predominant and/or specific tissue expression.

[23] Table 11, column 1, provides a nucleotide sequence identifier, "SEQ ID NO:X," that matches a nucleotide SEQ ID NO:X disclosed in Table 1, column 5. Table 11, column 2, provides the chromosomal location, "Cytologic Band or Chromosome," of polynucleotides corresponding to SEQ ID NO:X. Chromosomal location was determined by finding exact matches to EST and cDNA sequences contained in the NCBI (National Center for Biotechnology Information) UniGene database.

[24] Table 12, column 1, provides the Library Code disclosed in Table 10, column 2. Column 2 provides a description of the tissue or cell source from which the corresponding library was derived. Library codes corresponding to diseased tissues are indicated in column 3 with the word "disease". The use of the word "disease" in column 3 is non-limiting. The tissue source of the library may be specific (e.g., a neoplasm), or may be disease-associated (e.g., a tissue sample from a normal portion of a diseased organ). Furthermore, libraries lacking the "disease" designation may still be derived from sources directly or indirectly involved in a disease state or disorder, and therefore may have a further utility in that disease state or disorder.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Figures

[25] Figures 1A-D show the nucleotide (SEQ ID NO: 2) and deduced amino acid sequence (SEQ ID NO: 14) corresponding to the B7-H8 gene.

[26] Figure 2 shows an analysis of the amino acid sequence of the B7-H8 protein (SEQ ID NO: 14). Alpha, beta, turn and coil regions; hydrophilicity and hydrophobicity; amphipathic regions; flexible regions; antigenic index and surface probability are shown, and all were generated using the default settings of the recited computer algorithms. In the "Antigenic Index or Jameson-Wolf" graph, the positive peaks indicate locations of the highly antigenic regions of the protein, i.e., regions from which epitope-bearing peptides of the invention can be obtained. Polypeptides comprising, or alternatively consisting of, domains defined by these graphs are contemplated by the present invention, as are polynucleotides encoding these polypeptides.

[27] Figures 3A-C show the nucleotide (SEQ ID NO: 3) and deduced amino acid sequence (SEQ ID NO: 15) corresponding to the B7-H7 gene.

[28] Figure 4 shows an analysis of the amino acid sequence of the B7-H7 protein (SEQ ID NO: 15). Alpha, beta, turn and coil regions; hydrophilicity and hydrophobicity; amphipathic regions; flexible regions; antigenic index and surface probability are shown, and all were generated using the default settings of the recited computer algorithms. In the "Antigenic Index or Jameson-Wolf" graph, the positive peaks indicate locations of the highly antigenic regions of the protein, i.e., regions from which epitope-bearing peptides of the invention can be obtained. Polypeptides comprising, or alternatively consisting of, domains defined by these graphs are contemplated by the present invention, as are polynucleotides encoding these polypeptides.

[29] Figures 5A-C show the nucleotide (SEQ ID NO: 4) and deduced amino acid sequence (SEQ ID NO: 16) corresponding to the B7-H9 gene.

[30] Figure 6 shows an analysis of the amino acid sequence of the B7-H9 protein (SEQ ID NO: 16). Alpha, beta, turn and coil regions; hydrophilicity and hydrophobicity; amphipathic regions; flexible regions; antigenic index and surface probability are shown, and all were generated using the default settings of the recited computer algorithms. In the "Antigenic Index or Jameson-Wolf" graph, the positive peaks indicate locations of the highly antigenic regions of the protein, i.e., regions from which epitope-bearing peptides of the invention can be obtained. Polypeptides comprising, or alternatively consisting of, domains

WO 02/02587

PCT/US01/20917

defined by these graphs are contemplated by the present invention, as are polynucleotides encoding these polypeptides.

[31] Figures 7A-C show the nucleotide (SEQ ID NO: 5) and deduced amino acid sequence (SEQ ID NO: 17) corresponding to the B7-H11 gene.

[32] Figure 8 shows an analysis of the amino acid sequence of the B7-H11 protein (SEQ ID NO: 17). Alpha, beta, turn and coil regions; hydrophilicity and hydrophobicity; amphipathic regions; flexible regions; antigenic index and surface probability are shown, and all were generated using the default settings of the recited computer algorithms. In the "Antigenic Index or Jameson-Wolf" graph, the positive peaks indicate locations of the highly antigenic regions of the protein, i.e., regions from which epitope-bearing peptides of the invention can be obtained. Polypeptides comprising, or alternatively consisting of, domains defined by these graphs are contemplated by the present invention, as are polynucleotides encoding these polypeptides.

[33] Figures 9A-B show the nucleotide (SEQ ID NO: 6) and deduced amino acid sequence (SEQ ID NO: 18) corresponding to the B7-H10 gene.

[34] Figure 10 shows an analysis of the amino acid sequence of the B7-H10 protein (SEQ ID NO: 18). Alpha, beta, turn and coil regions; hydrophilicity and hydrophobicity; amphipathic regions; flexible regions; antigenic index and surface probability are shown, and all were generated using the default settings of the recited computer algorithms. In the "Antigenic Index or Jameson-Wolf" graph, the positive peaks indicate locations of the highly antigenic regions of the protein, i.e., regions from which epitope-bearing peptides of the invention can be obtained. Polypeptides comprising, or alternatively consisting of, domains defined by these graphs are contemplated by the present invention, as are polynucleotides encoding these polypeptides.

[35] Figures 11A-B show the nucleotide (SEQ ID NO: 7) and deduced amino acid sequence (SEQ ID NO: 19) corresponding to the B7-H12 gene.

[36] Figure 12 shows an analysis of the amino acid sequence of the B7-H12 protein (SEQ ID NO: 19). Alpha, beta, turn and coil regions; hydrophilicity and hydrophobicity; amphipathic regions; flexible regions; antigenic index and surface probability are shown, and all were generated using the default settings of the recited computer algorithms. In the "Antigenic Index or Jameson-Wolf" graph, the positive peaks indicate locations of the highly antigenic regions of the protein, i.e., regions from which epitope-bearing peptides of the

WO 02/02587

PCT/US01/20917

invention can be obtained. Polypeptides comprising, or alternatively consisting of, domains defined by these graphs are contemplated by the present invention, as are polynucleotides encoding these polypeptides.

[37] Figures 13A-C show the nucleotide (SEQ ID NO: 8) and deduced amino acid sequence (SEQ ID NO: 20) corresponding to the B7-H13 gene.

[38] Figure 14 shows an analysis of the amino acid sequence of the B7-H13 protein (SEQ ID NO: 20). Alpha, beta, turn and coil regions; hydrophilicity and hydrophobicity; amphipathic regions; flexible regions; antigenic index and surface probability are shown, and all were generated using the default settings of the recited computer algorithms. In the "Antigenic Index or Jameson-Wolf" graph, the positive peaks indicate locations of the highly antigenic regions of the protein, i.e., regions from which epitope-bearing peptides of the invention can be obtained. Polypeptides comprising, or alternatively consisting of, domains defined by these graphs are contemplated by the present invention, as are polynucleotides encoding these polypeptides.

Definitions

[39] The following definitions are provided to facilitate understanding of certain terms used throughout this specification.

[40] In the present invention, "isolated" refers to material removed from its original environment (e.g., the natural environment if it is naturally occurring), and thus is altered "by the hand of man" from its natural state. For example, an isolated polynucleotide could be part of a vector or a composition of matter, or could be contained within a cell, and still be "isolated" because that vector, composition of matter, or particular cell is not the original environment of the polynucleotide. The term "isolated" does not refer to genomic or cDNA libraries, whole cell total or mRNA preparations, genomic DNA preparations (including those separated by electrophoresis and transferred onto blots), sheared whole cell genomic DNA preparations or other compositions where the art demonstrates no distinguishing features of the polynucleotide/sequences of the present invention.

[41] As used herein, a "polynucleotide" refers to a molecule having a nucleic acid sequence contained in SEQ ID NO:X (as described in column 5 of Table 1), or cDNA plasmid:V (as described in column 2 of Table 1 and contained within a pool of plasmids deposited with the ATCC in ATCC Deposit No:Z). For example, the polynucleotide can

WO 02/02587

PCT/US01/20917

contain the nucleotide sequence of the full length cDNA sequence, including the 5' and 3' untranslated sequences, the coding region, with or without a natural or artificial signal sequence, the protein coding region, as well as fragments, epitopes, domains, and variants of the nucleic acid sequence. Moreover, as used herein, a "polypeptide" refers to a molecule having an amino acid sequence encoded by a polynucleotide of the invention as broadly defined (obviously excluding poly-Phenylalanine or poly-Lysine peptide sequences which result from translation of a polyA tail of a sequence corresponding to a cDNA).

[42] In the present invention, a representative plasmid containing the sequence of SEQ ID NO:X was deposited with the American Type Culture Collection ("ATCC") and/or described in Table 1. As shown in Table 1, each plasmid is identified by a cDNA Plasmid Identifier and the ATCC Deposit Number (ATCC Deposit No:Z). Plasmids that were pooled and deposited as a single deposit have the same ATCC Deposit Number. The ATCC is located at 10801 University Boulevard, Manassas, Virginia 20110-2209, USA. The ATCC deposit was made pursuant to the terms of the Budapest Treaty on the international recognition of the deposit of microorganisms for purposes of patent procedure.

[43] A "polynucleotide" of the present invention also includes those polynucleotides capable of hybridizing, under stringent hybridization conditions, to sequences contained in SEQ ID NO:X, or the complement thereof (e.g., the complement of any one, two, three, four, or more of the polynucleotide fragments described herein) and/or sequences contained in cDNA plasmid:V (e.g., the complement of any one, two, three, four, or more of the polynucleotide fragments described herein). "Stringent hybridization conditions" refers to an overnight incubation at 42 degree C in a solution comprising 50% formamide, 5x SSC (750 mM NaCl, 75 mM trisodium citrate), 50 mM sodium phosphate (pH 7.6), 5x Denhardt's solution, 10% dextran sulfate, and 20 µg/ml denatured, sheared salmon sperm DNA, followed by washing the filters in 0.1x SSC at about 65 degree C.

[44] Also included within "polynucleotides" of the present invention are nucleic acid molecules that hybridize to the polynucleotides of the present invention at lower stringency hybridization conditions. Changes in the stringency of hybridization and signal detection are primarily accomplished through the manipulation of formamide concentration (lower percentages of formamide result in lowered stringency); salt conditions, or temperature. For example, lower stringency conditions include an overnight incubation at 37 degree C in a solution comprising 6X SSPE (20X SSPE = 3M NaCl; 0.2M NaH₂PO₄; 0.02M EDTA, pH

WO 02/02587

PCT/US01/20917

7.4), 0.5% SDS, 30% formamide, 100 µg/ml salmon sperm blocking DNA; followed by washes at 50 degree C with 1XSSPE, 0.1% SDS. In addition, to achieve even lower stringency, washes performed following stringent hybridization can be done at higher salt concentrations (e.g. 5X SSC).

[45] Note that variations in the above conditions may be accomplished through the inclusion and/or substitution of alternate blocking reagents used to suppress background in hybridization experiments. Typical blocking reagents include Denhardt's reagent, BLOTTO, heparin, denatured salmon sperm DNA, and commercially available proprietary formulations. The inclusion of specific blocking reagents may require modification of the hybridization conditions described above, due to problems with compatibility.

[46] Of course, a polynucleotide which hybridizes only to polyA+ sequences (such as any 3' terminal polyA+ tract of a cDNA shown in the sequence listing), or to a complementary stretch of T (or U) residues, would not be included in the definition of "polynucleotide," since such a polynucleotide would hybridize to any nucleic acid molecule containing a poly (A) stretch or the complement thereof (e.g., practically any double-stranded cDNA clone generated using oligo dT as a primer).

[47] The polynucleotides of the present invention can be composed of any polyribonucleotide or polydeoxyribonucleotide, which may be unmodified RNA or DNA or modified RNA or DNA. For example, polynucleotides can be composed of single- and double-stranded DNA, DNA that is a mixture of single- and double-stranded regions, single- and double-stranded RNA, and RNA that is mixture of single- and double-stranded regions, hybrid molecules comprising DNA and RNA that may be single-stranded or, more typically, double-stranded or a mixture of single- and double-stranded regions. In addition, the polynucleotide can be composed of triple-stranded regions comprising RNA or DNA or both RNA and DNA. A polynucleotide may also contain one or more modified bases or DNA or RNA backbones modified for stability or for other reasons. "Modified" bases include, for example, tritylated bases and unusual bases such as inosine. A variety of modifications can be made to DNA and RNA; thus, "polynucleotide" embraces chemically, enzymatically, or metabolically modified forms.

[48] In specific embodiments, the polynucleotides of the invention are at least 15, at least 30, at least 50, at least 100, at least 125, at least 500, or at least 1000 continuous nucleotides but are less than or equal to 300 kb, 200 kb, 100 kb, 50 kb, 15 kb, 10 kb, 7.5kb, 5

WO 02/02587

PCT/US01/20917

kb, 2.5 kb, 2.0 kb, or 1 kb, in length. In a further embodiment, polynucleotides of the invention comprise a portion of the coding sequences, as disclosed herein, but do not comprise all or a portion of any intron. In another embodiment, the polynucleotides comprising coding sequences do not contain coding sequences of a genomic flanking gene (i.e., 5' or 3' to the gene of interest in the genome). In other embodiments, the polynucleotides of the invention do not contain the coding sequence of more than 1000, 500, 250, 100, 50, 25, 20, 15, 10, 5, 4, 3, 2, or 1 genomic flanking gene(s).

[49] "SEQ ID NO:X" refers to a polynucleotide sequence described in column 5 of Table 1, while "SEQ ID NO:Y" refers to a polypeptide sequence described in column 10 of Table 1. SEQ ID NO:X is identified by an integer specified in column 6 of Table 1. The polypeptide sequence SEQ ID NO:Y is a translated open reading frame (ORF) encoded by polynucleotide SEQ ID NO:X. The polynucleotide sequences are shown in the sequence listing immediately followed by all of the polypeptide sequences. Thus, a polypeptide sequence corresponding to polynucleotide sequence SEQ ID NO:2 is the first polypeptide sequence shown in the sequence listing. The second polypeptide sequence corresponds to the polynucleotide sequence shown as SEQ ID NO:3, and so on.

[50] The polypeptides of the present invention can be composed of amino acids joined to each other by peptide bonds or modified peptide bonds, i.e., peptide isosteres, and may contain amino acids other than the 20 gene-encoded amino acids. The polypeptides may be modified by either natural processes, such as posttranslational processing, or by chemical modification techniques which are well known in the art. Such modifications are well described in basic texts and in more detailed monographs, as well as in a voluminous research literature. Modifications can occur anywhere in a polypeptide, including the peptide backbone, the amino acid side-chains and the amino or carboxyl termini. It will be appreciated that the same type of modification may be present in the same or varying degrees at several sites in a given polypeptide. Also, a given polypeptide may contain many types of modifications. Polypeptides may be branched, for example, as a result of ubiquitination, and they may be cyclic, with or without branching. Cyclic, branched, and branched cyclic polypeptides may result from posttranslational natural processes or may be made by synthetic methods. Modifications include acetylation, acylation, ADP-ribosylation, amidation, covalent attachment of flavin, covalent attachment of a heme moiety, covalent attachment of a nucleotide or nucleotide derivative, covalent attachment of a lipid or lipid derivative,

WO 02/02587

PCT/US01/20917

covalent attachment of phosphatidylinositol, cross-linking, cyclization, disulfide bond formation, demethylation, formation of covalent cross-links, formation of cysteine, formation of pyroglutamate, formylation, gamma-carboxylation, glycosylation, GPI anchor formation, hydroxylation, iodination, methylation, myristoylation, oxidation, pegylation, proteolytic processing, phosphorylation, prenylation, racemization, selenoylation, sulfation, transfer-RNA mediated addition of amino acids to proteins such as arginylation, and ubiquitination. (See, for instance, PROTEINS - STRUCTURE AND MOLECULAR PROPERTIES, 2nd Ed., T. E. Creighton, W. H. Freeman and Company, New York (1993); POSTTRANSLATIONAL COVALENT MODIFICATION OF PROTEINS, B. C. Johnson, Ed., Academic Press, New York, pgs. 1-12 (1983); Seifter et al., Meth Enzymol 182:626-646 (1990); Rattan et al., Ann NY Acad Sci 663:48-62 (1992)).

[51] The polypeptides of the invention can be prepared in any suitable manner. Such polypeptides include isolated naturally occurring polypeptides, recombinantly produced polypeptides, synthetically produced polypeptides, or polypeptides produced by a combination of these methods. Means for preparing such polypeptides are well understood in the art.

[52] The polypeptides may be in the form of the secreted protein, including the mature form, or may be a part of a larger protein, such as a fusion protein (see below). It is often advantageous to include an additional amino acid sequence which contains secretory or leader sequences, pro-sequences, sequences which aid in purification, such as multiple histidine residues, or an additional sequence for stability during recombinant production.

[53] The polypeptides of the present invention are preferably provided in an isolated form, and preferably are substantially purified. A recombinantly produced version of a polypeptide, including the secreted polypeptide, can be substantially purified using techniques described herein or otherwise known in the art, such as, for example, by the one-step method described in Smith and Johnson, Gene 67:31-40 (1988). Polypeptides of the invention also can be purified from natural, synthetic or recombinant sources using techniques described herein or otherwise known in the art, such as, for example, antibodies of the invention raised against the polypeptides of the present invention in methods which are well known in the art.

[54] By a polypeptide demonstrating a "functional activity" is meant, a polypeptide capable of displaying one or more known functional activities associated with a full-length

WO 02/02587

PCT/US01/20917

(complete) protein of the invention. Such functional activities include, but are not limited to, biological activity, antigenicity [ability to bind (or compete with a polypeptide for binding) to an anti-polypeptide antibody], immunogenicity (ability to generate antibody which binds to a specific polypeptide of the invention), ability to form multimers with polypeptides of the invention, and ability to bind to a receptor for a polypeptide.

[55] "A polypeptide having functional activity" refers to polypeptides exhibiting activity similar, but not necessarily identical to, an activity of a polypeptide of the present invention, including mature forms, as measured in a particular assay, such as, for example, a biological assay, with or without dose dependency. In the case where dose dependency does exist, it need not be identical to that of the polypeptide, but rather substantially similar to the dose-dependence in a given activity as compared to the polypeptide of the present invention (i.e., the candidate polypeptide will exhibit greater activity or not more than about 25-fold less and, preferably, not more than about tenfold less activity, and most preferably, not more than about three-fold less activity relative to the polypeptide of the present invention).

[56] The functional activity of the polypeptides, and fragments, variants derivatives, and analogs thereof, can be assayed by various methods.

[57] For example, in one embodiment where one is assaying for the ability to bind or compete with full-length polypeptide of the present invention for binding to an antibody to the full length polypeptide, various immunoassays known in the art can be used, including but not limited to, competitive and non-competitive assay systems using techniques such as radioimmunoassays, ELISA (enzyme linked immunosorbent assay), "sandwich" immunoassays, immunoradiometric assays, gel diffusion precipitation reactions, immunodiffusion assays, in situ immunoassays (using colloidal gold, enzyme or radioisotope labels, for example), western blots, precipitation reactions, agglutination assays (e.g., gel agglutination assays, hemagglutination assays), complement fixation assays, immunofluorescence assays, protein A assays, and immunoelectrophoresis assays, etc. In one embodiment, antibody binding is detected by detecting a label on the primary antibody. In another embodiment, the primary antibody is detected by detecting binding of a secondary antibody or reagent to the primary antibody. In a further embodiment, the secondary antibody is labeled. Many means are known in the art for detecting binding in an immunoassay and are within the scope of the present invention.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[58] In another embodiment, where a ligand is identified, or the ability of a polypeptide fragment, variant or derivative of the invention to multimerize is being evaluated, binding can be assayed, e.g., by means well-known in the art, such as, for example, reducing and non-reducing gel chromatography, protein affinity chromatography, and affinity blotting. See generally, Phizicky, E., et al., *Microbiol. Rev.* 59:94-123 (1995). In another embodiment, physiological correlates polypeptide of the present invention binding to its substrates (signal transduction) can be assayed.

[59] In addition, assays described herein (see Examples) and otherwise known in the art may routinely be applied to measure the ability of polypeptides of the present invention and fragments, variants derivatives and analogs thereof to elicit polypeptide related biological activity (either in vitro or in vivo). Other methods will be known to the skilled artisan and are within the scope of the invention.

FEATURES OF PROTEIN ENCODED BY GENE NO: 1

[60] For purposes of this application, this gene and its corresponding translation product are known as the B7-H8 gene and B7-H8 protein. This protein is believed to reside as a cell-surface molecule, and the transmembrane domain of this protein is believed to approximately embody the following preferred amino acid residues: SKASLCVSSFFAISWALLPL (SEQ ID NO: 26). Polynucleotides encoding these polypeptides are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind one or more of these peptides. As one skilled in the art would understand, the transmembrane domain was predicted using computer analysis, and the transmembrane domain may vary by one, two, three, four, five, six, seven, eight, nine, and/or ten amino acids from the N and C-termini of the predicted transmembrane domain. The B7-H8 gene shares sequence homology with members of the B7 family of ligands (i.e., B7-1 (See Genbank Accession AAF25807)). These proteins and their corresponding receptors play vital roles in the growth, differentiation, activation, proliferation and death of T cells. For example, some members of this family (i.e., B7-1) are involved in costimulation of the T cell response, as well as inducing increased cytokine production, while other family members are involved in the negative regulation of the T cell response. Therefore, agonists and antagonists, such as antibodies or small molecules directed against translation products of the B7-H8 gene are useful for treating T cell mediated immune system

WO 02/02587

PCT/US01/20917

disorders, as well as disorders of other immune system cells, such as for example, neutrophils, macrophage, and leukocytes.

[61] Preferred polypeptides of the present invention comprise, or alternatively consist of, one or both of the immunogenic epitopes shown in SEQ ID NO: 14 as residues: Lys-84 to Glu-95 and Ser-243 to Ser-249. Polynucleotides encoding these polypeptides are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind one or more of these polypeptides. Moreover, fragments and variants of these polypeptides (e.g., fragments as described herein, polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to these polypeptides and polypeptides encoded by the polynucleotide which hybridizes, under stringent conditions, to the polynucleotide encoding these polypeptides, or the complement thereof) are encompassed by the invention. Antibodies that bind these fragments and variants of the invention are also encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these fragments and variants are also encompassed by the invention.

[62] In nonexclusive embodiments, polypeptides of the invention comprise, or alternatively consist of, an amino acid sequence selected from the group consisting of:

[63] The extracellular domain of the B7-H8 protein:
 MASLGQLFWSIISIIILAGAIALIGFGISGRHSITVTTVASAGNIGEDGILSCTFEPDIKL
 SDIVIQLKEGVLGLVHEFKEGKDELSEQDEMFRGRTAVFADQVIVGNASRLKKNV
 QLTDAGTYKCYITTSKGGKGNANLEYKTGAISMPEVNVVDYNASSETLRCEAPRWFPQP
 TVVWASQVDQGANFSEVSNFSFELNSENVTMKVVSVLYNVTINNTYSCMIENDIAK
 ATGDIKVTSEIKRRSHLQLLN (SEQ ID NO: 27),

[64] The mature extracellular domain of the B7-H8 protein:
 LIIGFGISGRHSITVTTVASAGNIGEDGILSCTFEPDIKLSDIVIQLKEGVLGLVHEFKE
 GKDELSEQDEMFRGRTAVFADQVIVGNASRLKKNVQLTDAGTYKCYITTSKGGKGNAN
 NLEYKTGAISMPEVNVVDYNASSETLRCEAPRWFPQPTVVWASQVDQGANFSEVSNF
 SFELNSENVTMKVVSVLYNVTINNTYSCMIENDIAKATGDIKVTSEIKRRSHLQLLN
 (SEQ ID NO: 28), and/or

[65] The leader sequence of the B7-H8 protein: MASLGQLFWSIISIIILAGAI (SEQ ID NO: 29). Polynucleotides encoding these polypeptides are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind one or more of these polypeptides. Moreover, fragments and variants of these polypeptides (e.g., fragments as described herein, polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to these polypeptides and

WO 02/02587

PCT/US01/20917

polypeptides encoded by the polynucleotide which hybridizes, under stringent conditions, to the polynucleotide encoding these polypeptides, or the complement thereof) are encompassed by the invention. Antibodies that bind these fragments and variants of the invention are also encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these fragments and variants are also encompassed by the invention.

[66] Also preferred are polypeptides comprising, or alternatively consisting of, fragments of the mature extracellular portion of the B7-H8 protein demonstrating functional activity (SEQ ID NO: 28). Fragments and/or variants of these polypeptides, such as, for example, fragments and/or variants as described herein, are encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these polypeptides (including fragments and/or variants) are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind these polypeptides.

[67] By functional activity is meant, a polypeptide fragment capable of displaying one or more known functional activities associated with the full-length (complete) B7-H8 protein. Such functional activities include, but are not limited to, biological activity (e.g., T cell costimulatory activity, ability to bind ICOS, CD28 or CTLA4, and ability to induce or inhibit cytokine production), antigenicity [ability to bind (or compete with a B7-H8 polypeptide for binding) to an anti-B7-H8 antibody], immunogenicity (ability to generate antibody which binds to a B7-H8 polypeptide), ability to form multimers with B7-H8 polypeptides of the invention, and ability to bind to a receptor for a B7-H8 polypeptide.

[68] Figures 1A-D show the nucleotide (SEQ ID NO: 2) and deduced amino acid sequence (SEQ ID NO: 14) corresponding to this gene. Figure 2 shows an analysis of the amino acid sequence (SEQ ID NO: 14). Alpha, beta, turn and coil regions; hydrophilicity and hydrophobicity; amphipathic regions; flexible regions; antigenic index and surface probability are shown, and all were generated using the default settings of the recited computer algorithms. In the "Antigenic Index or Jameson-Wolf" graph, the positive peaks indicate locations of the highly antigenic regions of the protein, i.e., regions from which epitope-bearing peptides of the invention can be obtained. Polypeptides comprising, or alternatively consisting of, domains defined by these graphs are contemplated by the present invention, as are polynucleotides encoding these polypeptides. The data presented in Figure 2 are also represented in tabular form in Table 3. The columns are labeled with the headings "Res", "Position", and Roman Numerals I-XIV. The column headings refer to the following features of the amino acid sequence presented in Figure 2, and Table 3: "Res": amino acid

WO 02/02587

PCT/US01/20917

residue of SEQ ID NO: 14 and Figures 1A-D; "Position": position of the corresponding residue within SEQ ID NO: 14 and Figures 1A-D; I: Alpha, Regions - Garnier-Robson; II: Alpha, Regions - Chou-Fasman; III: Beta, Regions - Garnier-Robson; IV: Beta, Regions - Chou-Fasman; V: Turn, Regions - Garnier-Robson; VI: Turn, Regions - Chou-Fasman; VII: Coil, Regions - Garnier-Robson; VIII: Hydrophilicity Plot - Kyte-Doolittle; IX: Hydrophobicity Plot - Hopp-Woods; X: Alpha, Amphipathic Regions - Eisenberg; XI: Beta, Amphipathic Regions - Eisenberg; XII: Flexible Regions - Karplus-Schulz; XIII: Antigenic Index - Jameson-Wolf; and XIV: Surface Probability Plot - Emini. Preferred embodiments of the invention in this regard include fragments that comprise, or alternatively consisting of, one or more of the following regions: alpha-helix and alpha-helix forming regions ("alpha-regions"), beta-sheet and beta-sheet forming regions ("beta-regions"), turn and turn-forming regions ("turn-regions"), coil and coil-forming regions ("coil-regions"), hydrophilic regions, hydrophobic regions, alpha amphipathic regions, beta amphipathic regions, flexible regions, surface-forming regions and high antigenic index regions. The data representing the structural or functional attributes of the protein set forth in Figure 2 and/or Table 3, as described above, was generated using the various modules and algorithms of the DNA*STAR set on default parameters. In a preferred embodiment, the data presented in columns VIII, IX, XIII, and XIV of Table 3 can be used to determine regions of the protein which exhibit a high degree of potential for antigenicity. Regions of high antigenicity are determined from the data presented in columns VIII, IX, XIII, and/or XIV by choosing values which represent regions of the polypeptide which are likely to be exposed on the surface of the polypeptide in an environment in which antigen recognition may occur in the process of initiation of an immune response. Certain preferred regions in these regards are set out in Figure 2, but may, as shown in Table 3, be represented or identified by using tabular representations of the data presented in Figure 2. The DNA*STAR computer algorithm used to generate Figure 2 (set on the original default parameters) was used to present the data in Figure 2 in a tabular format (See Table 3). The tabular format of the data in Figure 2 (See Table 3) is used to easily determine specific boundaries of a preferred region.

[69] The present invention is further directed to fragments of the polynucleotide sequences described herein. By a fragment of, for example, the polynucleotide sequence of a deposited cDNA or the nucleotide sequence shown in SEQ ID NO: 2, is intended polynucleotide fragments at least about 15nt, and more preferably at least about 20 nt, at least

WO 02/02587

PCT/US01/20917

about 25nt, still more preferably at least about 30 nt, at least about 35nt, and even more preferably, at least about 40 nt in length, at least about 45nt in length, at least about 50nt in length, at least about 60nt in length, at least about 70nt in length, at least about 80nt in length, at least about 90nt in length, at least about 100nt in length, at least about 125nt in length, at least about 150nt in length, at least about 175nt in length, which are useful as diagnostic probes and primers as discussed herein. Of course, larger fragments 200-1500 nt in length are also useful according to the present invention, as are fragments corresponding to most, if not all, of the nucleotide sequence of a deposited cDNA or as shown in SEQ ID NO: 2. By a fragment at least 20 nt in length, for example, is intended fragments which include 20 or more contiguous bases from the nucleotide sequence of a deposited cDNA or the nucleotide sequence as shown in SEQ ID NO: 2. In this context "about" includes the particularly recited size, an sizes larger or smaller by several (5, 4, 3, 2, or 1) nucleotides, at either terminus or at both termini. Representative examples of polynucleotide fragments of the invention include, for example, fragments that comprise, or alternatively, consist of, a sequence from about nucleotide 1 to about 50, from about 51 to about 100, from about 101 to about 150, from about 151 to about 200, from about 201 to about 250, from about 251 to about 300, from about 301 to about 350, from about 351 to about 400, from about 401 to about 450, from about 451 to about 500, and from about 501 to about 550, and from about 551 to about 600, from about 601 to about 650, from about 651 to about 700, from about 701 to about 750, from about 751 to about 800, and from about 801 to about 860, of SEQ ID NO: 2, or the complementary strand thereto, or the cDNA contained in a deposited clone. In this context "about" includes the particularly recited ranges, and ranges larger or smaller by several (5, 4, 3, 2, or 1) nucleotides, at either terminus or at both termini. In additional embodiments, the polynucleotides of the invention encode functional attributes of the corresponding protein.

[70] Preferred polypeptide fragments of the invention comprise, or alternatively consist of, the secreted protein having a continuous series of deleted residues from the amino or the carboxy terminus, or both. Particularly, N-terminal deletions of the polypeptide can be described by the general formula m-282 where m is an integer from 2 to 277, where m corresponds to the position of the amino acid residue identified in SEQ ID NO: 14. More in particular, the invention provides polynucleotides encoding polypeptides comprising, or alternatively consisting of, an amino acid sequence selected from the group: A-2 to K-282; S-3 to K-282; L-4 to K-282; G-5 to K-282; Q-6 to K-282; I-7 to K-282; L-8 to K-282; F-9 to K-

WO 02/02587

PCT/US01/20917

282; W-10 to K-282; S-11 to K-282; I-12 to K-282; I-13 to K-282; S-14 to K-282; I-15 to K-282; I-16 to K-282; I-17 to K-282; I-18 to K-282; L-19 to K-282; A-20 to K-282; G-21 to K-282; A-22 to K-282; I-23 to K-282; A-24 to K-282; L-25 to K-282; I-26 to K-282; I-27 to K-282; G-28 to K-282; F-29 to K-282; G-30 to K-282; I-31 to K-282; S-32 to K-282; G-33 to K-282; R-34 to K-282; H-35 to K-282; S-36 to K-282; I-37 to K-282; T-38 to K-282; V-39 to K-282; T-40 to K-282; T-41 to K-282; V-42 to K-282; A-43 to K-282; S-44 to K-282; A-45 to K-282; G-46 to K-282; N-47 to K-282; I-48 to K-282; G-49 to K-282; E-50 to K-282; D-51 to K-282; G-52 to K-282; I-53 to K-282; L-54 to K-282; S-55 to K-282; C-56 to K-282; T-57 to K-282; I-58 to K-282; E-59 to K-282; P-60 to K-282; D-61 to K-282; I-62 to K-282; K-63 to K-282; L-64 to K-282; S-65 to K-282; D-66 to K-282; I-67 to K-282; V-68 to K-282; I-69 to K-282; Q-70 to K-282; W-71 to K-282; L-72 to K-282; K-73 to K-282; E-74 to K-282; G-75 to K-282; V-76 to K-282; L-77 to K-282; G-78 to K-282; L-79 to K-282; V-80 to K-282; H-81 to K-282; E-82 to K-282; F-83 to K-282; K-84 to K-282; E-85 to K-282; G-86 to K-282; K-87 to K-282; D-88 to K-282; E-89 to K-282; L-90 to K-282; S-91 to K-282; E-92 to K-282; Q-93 to K-282; D-94 to K-282; E-95 to K-282; M-96 to K-282; F-97 to K-282; R-98 to K-282; G-99 to K-282; R-100 to K-282; T-101 to K-282; A-102 to K-282; V-103 to K-282; F-104 to K-282; A-105 to K-282; D-106 to K-282; Q-107 to K-282; V-108 to K-282; I-109 to K-282; V-110 to K-282; G-111 to K-282; N-112 to K-282; A-113 to K-282; S-114 to K-282; L-115 to K-282; R-116 to K-282; L-117 to K-282; K-118 to K-282; N-119 to K-282; V-120 to K-282; Q-121 to K-282; L-122 to K-282; T-123 to K-282; D-124 to K-282; A-125 to K-282; G-126 to K-282; T-127 to K-282; Y-128 to K-282; K-129 to K-282; C-130 to K-282; Y-131 to K-282; I-132 to K-282; I-133 to K-282; T-134 to K-282; S-135 to K-282; K-136 to K-282; G-137 to K-282; K-138 to K-282; G-139 to K-282; N-140 to K-282; A-141 to K-282; N-142 to K-282; L-143 to K-282; E-144 to K-282; Y-145 to K-282; K-146 to K-282; T-147 to K-282; G-148 to K-282; A-149 to K-282; F-150 to K-282; S-151 to K-282; M-152 to K-282; P-153 to K-282; E-154 to K-282; V-155 to K-282; N-156 to K-282; V-157 to K-282; D-158 to K-282; Y-159 to K-282; N-160 to K-282; A-161 to K-282; S-162 to K-282; S-163 to K-282; E-164 to K-282; T-165 to K-282; L-166 to K-282; R-167 to K-282; C-168 to K-282; E-169 to K-282; A-170 to K-282; P-171 to K-282; R-172 to K-282; W-173 to K-282; F-174 to K-282; P-175 to K-282; Q-176 to K-282; P-177 to K-282; T-178 to K-282; V-179 to K-282; V-180 to K-282; W-181 to K-282; A-182 to K-282; S-183 to K-282; Q-184 to K-282; V-185 to K-282; D-186 to K-282; Q-187 to K-282; G-188 to K-282; A-189 to K-282; N-190

WO 02/02587

PCT/US01/20917

to K-282; F-191 to K-282; S-192 to K-282; E-193 to K-282; V-194 to K-282; S-195 to K-282; N-196 to K-282; T-197 to K-282; S-198 to K-282; F-199 to K-282; E-200 to K-282; L-201 to K-282; N-202 to K-282; S-203 to K-282; E-204 to K-282; N-205 to K-282; V-206 to K-282; T-207 to K-282; M-208 to K-282; K-209 to K-282; V-210 to K-282; V-211 to K-282; S-212 to K-282; V-213 to K-282; L-214 to K-282; Y-215 to K-282; N-216 to K-282; V-217 to K-282; T-218 to K-282; I-219 to K-282; N-220 to K-282; N-221 to K-282; T-222 to K-282; Y-223 to K-282; S-224 to K-282; C-225 to K-282; M-226 to K-282; I-227 to K-282; E-228 to K-282; N-229 to K-282; D-230 to K-282; I-231 to K-282; A-232 to K-282; K-233 to K-282; A-234 to K-282; T-235 to K-282; G-236 to K-282; D-237 to K-282; I-238 to K-282; K-239 to K-282; V-240 to K-282; T-241 to K-282; E-242 to K-282; S-243 to K-282; E-244 to K-282; I-245 to K-282; K-246 to K-282; R-247 to K-282; R-248 to K-282; S-249 to K-282; H-250 to K-282; L-251 to K-282; Q-252 to K-282; L-253 to K-282; L-254 to K-282; N-255 to K-282; S-256 to K-282; K-257 to K-282; A-258 to K-282; S-259 to K-282; L-260 to K-282; C-261 to K-282; V-262 to K-282; S-263 to K-282; S-264 to K-282; F-265 to K-282; F-266 to K-282; A-267 to K-282; I-268 to K-282; S-269 to K-282; W-270 to K-282; A-271 to K-282; L-272 to K-282; L-273 to K-282; P-274 to K-282; L-275 to K-282; S-276 to K-282; and/or P-277 to K-282 of SEQ ID NO: 14. Polynucleotides encoding these polypeptides are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind one or more of these polypeptides. Moreover, fragments and variants of these polypeptides (e.g., fragments as described herein, polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to these polypeptides and polypeptides encoded by the polynucleotide which hybridizes, under stringent conditions, to the polynucleotide encoding these polypeptides, or the complement thereof) are encompassed by the invention. Antibodies that bind these fragments and variants of the invention are also encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these fragments and variants are also encompassed by the invention.

[71] Accordingly, the present invention further provides polypeptides having one or more residues deleted from the carboxy terminus of the amino acid sequence of the polypeptide shown in Figures 1A-D (SEQ ID NO: 14), as described by the general formula 1-n, where n is an integer from 7 to 281, where n corresponds to the position of the amino acid residue identified in SEQ ID NO: 14. Additionally, the invention provides polynucleotides encoding polypeptides comprising, or alternatively consisting of, an amino acid sequence

WO 02/02587

PCT/US01/20917

selected from the following group of C-terminal deletions: M-1 to L-281; M-1 to M-280; M-1 to L-279; M-1 to Y-278; M-1 to P-277; M-1 to S-276; M-1 to L-275; M-1 to P-274; M-1 to L-273; M-1 to L-272; M-1 to A-271; M-1 to W-270; M-1 to S-269; M-1 to I-268; M-1 to A-267; M-1 to F-266; M-1 to F-265; M-1 to S-264; M-1 to S-263; M-1 to V-262; M-1 to C-261; M-1 to L-260; M-1 to S-259; M-1 to A-258; M-1 to K-257; M-1 to S-256; M-1 to N-255; M-1 to L-254; M-1 to L-253; M-1 to Q-252; M-1 to L-251; M-1 to H-250; M-1 to S-249; M-1 to R-248; M-1 to R-247; M-1 to K-246; M-1 to L-245; M-1 to E-244; M-1 to S-243; M-1 to E-242; M-1 to T-241; M-1 to V-240; M-1 to K-239; M-1 to I-238; M-1 to D-237; M-1 to G-236; M-1 to T-235; M-1 to A-234; M-1 to K-233; M-1 to A-232; M-1 to I-231; M-1 to D-230; M-1 to N-229; M-1 to E-228; M-1 to I-227; M-1 to M-226; M-1 to C-225; M-1 to S-224; M-1 to Y-223; M-1 to T-222; M-1 to N-221; M-1 to N-220; M-1 to I-219; M-1 to T-218; M-1 to V-217; M-1 to N-216; M-1 to Y-215; M-1 to L-214; M-1 to V-213; M-1 to S-212; M-1 to V-211; M-1 to V-210; M-1 to K-209; M-1 to M-208; M-1 to T-207; M-1 to V-206; M-1 to N-205; M-1 to E-204; M-1 to S-203; M-1 to N-202; M-1 to L-201; M-1 to E-200; M-1 to F-199; M-1 to S-198; M-1 to T-197; M-1 to N-196; M-1 to S-195; M-1 to V-194; M-1 to E-193; M-1 to S-192; M-1 to F-191; M-1 to N-190; M-1 to A-189; M-1 to G-188; M-1 to Q-187; M-1 to D-186; M-1 to V-185; M-1 to Q-184; M-1 to S-183; M-1 to A-182; M-1 to W-181; M-1 to V-180; M-1 to V-179; M-1 to T-178; M-1 to P-177; M-1 to Q-176; M-1 to P-175; M-1 to F-174; M-1 to W-173; M-1 to R-172; M-1 to P-171; M-1 to A-170; M-1 to E-169; M-1 to C-168; M-1 to R-167; M-1 to L-166; M-1 to T-165; M-1 to E-164; M-1 to S-163; M-1 to S-162; M-1 to A-161; M-1 to N-160; M-1 to Y-159; M-1 to D-158; M-1 to V-157; M-1 to N-156; M-1 to V-155; M-1 to F-154; M-1 to P-153; M-1 to M-152; M-1 to S-151; M-1 to F-150; M-1 to A-149; M-1 to G-148; M-1 to T-147; M-1 to K-146; M-1 to Y-145; M-1 to F-144; M-1 to L-143; M-1 to N-142; M-1 to A-141; M-1 to N-140; M-1 to G-139; M-1 to K-138; M-1 to G-137; M-1 to K-136; M-1 to S-135; M-1 to T-134; M-1 to I-133; M-1 to I-132; M-1 to Y-131; M-1 to C-130; M-1 to K-129; M-1 to Y-128; M-1 to T-127; M-1 to G-126; M-1 to A-125; M-1 to D-124; M-1 to T-123; M-1 to L-122; M-1 to Q-121; M-1 to V-120; M-1 to N-119; M-1 to K-118; M-1 to L-117; M-1 to R-116; M-1 to L-115; M-1 to S-114; M-1 to A-113; M-1 to N-112; M-1 to G-111; M-1 to V-110; M-1 to I-109; M-1 to V-108; M-1 to Q-107; M-1 to D-106; M-1 to A-105; M-1 to F-104; M-1 to V-103; M-1 to A-102; M-1 to T-101; M-1 to R-100; M-1 to G-99; M-1 to R-98; M-1 to F-97; M-1 to M-96; M-1 to E-95; M-1 to D-94; M-1 to Q-93; M-1 to E-92; M-1 to S-91; M-1 to L-

WO 02/02587

PCT/US01/20917

90; M-1 to E-89; M-1 to D-88; M-1 to K-87; M-1 to G-86; M-1 to E-85; M-1 to K-84; M-1 to F-83; M-1 to E-82; M-1 to H-81; M-1 to V-80; M-1 to L-79; M-1 to G-78; M-1 to L-77; M-1 to V-76; M-1 to G-75; M-1 to B-74; M-1 to K-73; M-1 to L-72; M-1 to W-71; M-1 to Q-70; M-1 to I-69; M-1 to V-68; M-1 to I-67; M-1 to D-66; M-1 to S-65; M-1 to L-64; M-1 to K-63; M-1 to I-62; M-1 to D-61; M-1 to P-60; M-1 to E-59; M-1 to F-58; M-1 to T-57; M-1 to C-56; M-1 to S-55; M-1 to L-54; M-1 to I-53; M-1 to G-52; M-1 to D-51; M-1 to E-50; M-1 to G-49; M-1 to I-48; M-1 to N-47; M-1 to G-46; M-1 to A-45; M-1 to S-44; M-1 to A-43; M-1 to V-42; M-1 to T-41; M-1 to T-40; M-1 to V-39; M-1 to T-38; M-1 to I-37; M-1 to S-36; M-1 to H-35; M-1 to R-34; M-1 to G-33; M-1 to S-32; M-1 to I-31; M-1 to G-30; M-1 to R-29; M-1 to G-28; M-1 to I-27; M-1 to I-26; M-1 to L-25; M-1 to A-24; M-1 to I-23; M-1 to A-22; M-1 to G-21; M-1 to A-20; M-1 to L-19; M-1 to I-18; M-1 to I-17; M-1 to I-16; M-1 to I-15; M-1 to S-14; M-1 to I-13; M-1 to I-12; M-1 to S-11; M-1 to W-10; M-1 to F-9; M-1 to L-8; and/or M-1 to I-7 of SEQ ID NO: 14. Polynucleotides encoding these polypeptides are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind one or more of these polypeptides. Moreover, fragments and variants of these polypeptides (e.g., fragments as described herein, polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to these polypeptides and polypeptides encoded by the polynucleotide which hybridizes, under stringent conditions, to the polynucleotide encoding these polypeptides, or the complement thereof) are encompassed by the invention. Antibodies that bind these fragments and variants of the invention are also encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these fragments and variants are also encompassed by the invention.

[72] Also as mentioned above, even if deletion of one or more amino acids from the C-terminus of a protein results in modification or loss of one or more biological functions of the protein (e.g., ability to inhibit the Mixed Lymphocyte Reaction), other functional activities (e.g., biological activities, ability to multimerize, ability to bind receptor, ability to induce antibodies, ability to bind antibodies) may still be retained. For example, the ability of the shortened polypeptide to induce and/or bind to antibodies which recognize the complete or mature forms of the polypeptide generally will be retained when less than the majority of the residues of the complete or mature polypeptide are removed from the C-terminus. Whether a particular polypeptide lacking C-terminal residues of a complete polypeptide retains such immunologic activities can readily be determined by routine methods described herein and

WO 02/02587

PCT/US01/20917

otherwise known in the art. It is not unlikely that a polypeptide with a large number of deleted C-terminal amino acid residues may retain some biological or immunogenic activities. In fact, peptides composed of as few as six amino acid residues may often evoke an immune response.

[73] More in particular, the invention provides polynucleotides encoding polypeptides comprising, or alternatively consisting of, an amino acid sequence selected from the group of N-terminal deletions of the mature extracellular portion of the B7-H8 protein (SEQ ID NO: 28): I-26 to N-255; I-27 to N-255; G-28 to N-255; F-29 to N-255; G-30 to N-255; I-31 to N-255; S-32 to N-255; G-33 to N-255; R-34 to N-255; H-35 to N-255; S-36 to N-255; I-37 to N-255; T-38 to N-255; V-39 to N-255; T-40 to N-255; T-41 to N-255; V-42 to N-255; A-43 to N-255; S-44 to N-255; A-45 to N-255; G-46 to N-255; N-47 to N-255; I-48 to N-255; G-49 to N-255; E-50 to N-255; D-51 to N-255; G-52 to N-255; I-53 to N-255; L-54 to N-255; S-55 to N-255; C-56 to N-255; T-57 to N-255; F-58 to N-255; E-59 to N-255; P-60 to N-255; D-61 to N-255; I-62 to N-255; K-63 to N-255; L-64 to N-255; S-65 to N-255; D-66 to N-255; I-67 to N-255; V-68 to N-255; I-69 to N-255; Q-70 to N-255; W-71 to N-255; L-72 to N-255; K-73 to N-255; E-74 to N-255; G-75 to N-255; V-76 to N-255; L-77 to N-255; G-78 to N-255; L-79 to N-255; V-80 to N-255; H-81 to N-255; E-82 to N-255; F-83 to N-255; K-84 to N-255; E-85 to N-255; G-86 to N-255; K-87 to N-255; D-88 to N-255; F-89 to N-255; I-90 to N-255; S-91 to N-255; E-92 to N-255; Q-93 to N-255; D-94 to N-255; E-95 to N-255; M-96 to N-255; F-97 to N-255; R-98 to N-255; G-99 to N-255; R-100 to N-255; T-101 to N-255; A-102 to N-255; V-103 to N-255; F-104 to N-255; A-105 to N-255; D-106 to N-255; Q-107 to N-255; V-108 to N-255; I-109 to N-255; V-110 to N-255; G-111 to N-255; N-112 to N-255; A-113 to N-255; S-114 to N-255; L-115 to N-255; R-116 to N-255; L-117 to N-255; K-118 to N-255; N-119 to N-255; V-120 to N-255; Q-121 to N-255; L-122 to N-255; T-123 to N-255; D-124 to N-255; A-125 to N-255; G-126 to N-255; T-127 to N-255; Y-128 to N-255; K-129 to N-255; C-130 to N-255; Y-131 to N-255; I-132 to N-255; I-133 to N-255; T-134 to N-255; S-135 to N-255; K-136 to N-255; G-137 to N-255; K-138 to N-255; G-139 to N-255; N-140 to N-255; A-141 to N-255; N-142 to N-255; L-143 to N-255; E-144 to N-255; Y-145 to N-255; K-146 to N-255; T-147 to N-255; G-148 to N-255; A-149 to N-255; F-150 to N-255; S-151 to N-255; M-152 to N-255; P-153 to N-255; E-154 to N-255; V-155 to N-255; N-156 to N-255; V-157 to N-255; D-158 to N-255; Y-159 to N-255; N-160 to N-255; A-161 to N-255; S-162 to N-255; S-163 to N-255; E-164 to N-255; T-165 to N-255; L-166 to

WO 02/02587

PCT/US01/20917

N-255; R-167 to N-255; C-168 to N-255; E-169 to N-255; A-170 to N-255; P-171 to N-255; R-172 to N-255; W-173 to N-255; F-174 to N-255; P-175 to N-255; Q-176 to N-255; P-177 to N-255; T-178 to N-255; V-179 to N-255; V-180 to N-255; W-181 to N-255; A-182 to N-255; S-183 to N-255; Q-184 to N-255; V-185 to N-255; D-186 to N-255; Q-187 to N-255; G-188 to N-255; A-189 to N-255; N-190 to N-255; F-191 to N-255; S-192 to N-255; E-193 to N-255; V-194 to N-255; S-195 to N-255; N-196 to N-255; T-197 to N-255; S-198 to N-255; F-199 to N-255; E-200 to N-255; L-201 to N-255; N-202 to N-255; S-203 to N-255; E-204 to N-255; N-205 to N-255; V-206 to N-255; T-207 to N-255; M-208 to N-255; K-209 to N-255; V-210 to N-255; V-211 to N-255; S-212 to N-255; V-213 to N-255; L-214 to N-255; Y-215 to N-255; N-216 to N-255; V-217 to N-255; T-218 to N-255; I-219 to N-255; N-220 to N-255; N-221 to N-255; T-222 to N-255; Y-223 to N-255; S-224 to N-255; C-225 to N-255; M-226 to N-255; I-227 to N-255; E-228 to N-255; N-229 to N-255; D-230 to N-255; I-231 to N-255; A-232 to N-255; K-233 to N-255; A-234 to N-255; T-235 to N-255; G-236 to N-255; D-237 to N-255; I-238 to N-255; K-239 to N-255; V-240 to N-255; T-241 to N-255; E-242 to N-255; S-243 to N-255; E-244 to N-255; I-245 to N-255; K-246 to N-255; R-247 to N-255; R-248 to N-255; S-249 to N-255; and/or H-250 to N-255 of SEQ ID NO: 14. Polynucleotides encoding these polypeptides are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind one or more of these polypeptides. Moreover, fragments and variants of these polypeptides (e.g., fragments as described herein, polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to these polypeptides and polypeptides encoded by the polynucleotide which hybridizes, under stringent conditions, to the polynucleotide encoding these polypeptides, or the complement thereof) are encompassed by the invention. Antibodies that bind these fragments and variants of the invention are also encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these fragments and variants are also encompassed by the invention.

[74] Additionally, the invention provides polynucleotides encoding polypeptides comprising, or alternatively consisting of, an amino acid sequence selected from the group of C-terminal deletions of the mature extracellular portion of the B7-H8 protein (SEQ ID NO: 28): L-25 to L-254; L-25 to L-253; L-25 to Q-252; L-25 to L-251; L-25 to H-250; L-25 to S-249; L-25 to R-248; L-25 to R-247; L-25 to K-246; L-25 to I-245; L-25 to E-244; L-25 to S-243; L-25 to E-242; L-25 to T-241; L-25 to V-240; L-25 to K-239; L-25 to I-238; L-25 to D-237; L-25 to G-236; L-25 to T-235; L-25 to A-234; L-25 to K-233; L-25 to A-232; L-25 to I-

WO 02/02587

PCT/US01/20917

231; L-25 to D-230; L-25 to N-229; L-25 to E-228; L-25 to I-227; L-25 to M-226; L-25 to C-225; L-25 to S-224; L-25 to Y-223; L-25 to T-222; L-25 to N-221; L-25 to N-220; L-25 to I-219; L-25 to T-218; L-25 to V-217; L-25 to N-216; L-25 to Y-215; L-25 to L-214; L-25 to V-213; L-25 to S-212; L-25 to V-211; L-25 to V-210; L-25 to K-209; L-25 to M-208; L-25 to T-207; L-25 to V-206; L-25 to N-205; L-25 to E-204; L-25 to S-203; L-25 to N-202; L-25 to L-201; L-25 to E-200; L-25 to F-199; L-25 to S-198; L-25 to T-197; L-25 to N-196; L-25 to S-195; L-25 to V-194; L-25 to E-193; L-25 to S-192; L-25 to F-191; L-25 to N-190; L-25 to A-189; L-25 to G-188; L-25 to Q-187; L-25 to D-186; L-25 to V-185; L-25 to Q-184; L-25 to S-183; L-25 to A-182; L-25 to W-181; L-25 to V-180; L-25 to V-179; L-25 to T-178; L-25 to P-177; L-25 to Q-176; L-25 to P-175; L-25 to F-174; L-25 to W-173; L-25 to R-172; L-25 to P-171; L-25 to A-170; L-25 to E-169; L-25 to C-168; L-25 to R-167; L-25 to L-166; L-25 to T-165; L-25 to E-164; L-25 to S-163; L-25 to S-162; L-25 to A-161; L-25 to N-160; L-25 to Y-159; L-25 to D-158; L-25 to V-157; L-25 to N-156; L-25 to V-155; L-25 to E-154; L-25 to P-153; L-25 to M-152; L-25 to S-151; L-25 to F-150; L-25 to A-149; L-25 to G-148; L-25 to T-147; L-25 to K-146; L-25 to Y-145; L-25 to E-144; L-25 to L-143; L-25 to N-142; L-25 to A-141; L-25 to N-140; L-25 to G-139; L-25 to K-138; L-25 to G-137; L-25 to K-136; L-25 to S-135; L-25 to T-134; L-25 to I-133; L-25 to I-132; L-25 to Y-131; L-25 to C-130; L-25 to K-129; L-25 to Y-128; L-25 to T-127; L-25 to G-126; L-25 to A-125; L-25 to D-124; L-25 to T-123; L-25 to L-122; L-25 to Q-121; L-25 to V-120; L-25 to N-119; L-25 to K-118; L-25 to L-117; L-25 to R-116; L-25 to L-115; L-25 to S-114; L-25 to A-113; L-25 to N-112; L-25 to G-111; L-25 to V-110; L-25 to I-109; L-25 to V-108; L-25 to Q-107; L-25 to D-106; L-25 to A-105; L-25 to F-104; L-25 to V-103; L-25 to A-102; L-25 to T-101; L-25 to R-100; L-25 to G-99; L-25 to R-98; L-25 to F-97; L-25 to M-96; L-25 to E-95; L-25 to D-94; L-25 to Q-93; L-25 to E-92; L-25 to S-91; L-25 to L-90; L-25 to E-89; L-25 to D-88; L-25 to K-87; L-25 to G-86; L-25 to E-85; L-25 to K-84; L-25 to F-83; L-25 to E-82; L-25 to H-81; L-25 to V-80; L-25 to L-79; L-25 to G-78; L-25 to L-77; L-25 to V-76; L-25 to G-75; L-25 to E-74; L-25 to K-73; L-25 to L-72; L-25 to W-71; L-25 to Q-70; L-25 to I-69; L-25 to V-68; L-25 to I-67; L-25 to D-66; L-25 to S-65; L-25 to L-64; L-25 to K-63; L-25 to I-62; L-25 to D-61; L-25 to P-60; L-25 to E-59; L-25 to F-58; L-25 to T-57; L-25 to C-56; L-25 to S-55; L-25 to L-54; L-25 to I-53; L-25 to G-52; L-25 to D-51; L-25 to E-50; L-25 to G-49; L-25 to I-48; L-25 to N-47; L-25 to G-46; L-25 to A-45; L-25 to S-44; L-25 to A-43; L-25 to V-42; L-25 to T-41; L-25 to T-40; L-25 to V-39; L-25 to T-38; L-25 to I-37; L-25 to S-36; L-25 to H-35; L-25 to R-

WO 02/02587

PCT/US01/20917

34; L-25 to G-33; L-25 to S-32; and/or L-25 to I-31 of SEQ ID NO: 14. Polynucleotides encoding these polypeptides are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind one or more of these polypeptides. Moreover, fragments and variants of these polypeptides (e.g., fragments as described herein, polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to these polypeptides and polypeptides encoded by the polynucleotide which hybridizes, under stringent conditions, to the polynucleotide encoding these polypeptides, or the complement thereof) are encompassed by the invention. Antibodies that bind these fragments and variants of the invention are also encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these fragments and variants are also encompassed by the invention.

[75] In addition, any of the above listed N- or C-terminal deletions can be combined to produce a N- and C-terminal deleted polypeptide. The invention also provides polypeptides comprising, or alternatively consisting of, one or more amino acids deleted from both the amino and the carboxyl termini, which may be described generally as having residues m-n of SEQ ID NO: 14, where n and m are integers as described above. Fragments and/or variants of these polypeptides, such as, for example, fragments and/or variants as described herein, are encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these polypeptides (including fragments and/or variants) are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind these polypeptides.

[76] The present invention is also directed to proteins containing polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% or 99% identical to a polypeptide sequence set forth herein as m-n. In preferred embodiments, the application is directed to proteins containing polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% or 99% identical to polypeptides having the amino acid sequence of the specific N- and C-terminal deletions recited herein. Fragments and/or variants of these polypeptides, such as, for example, fragments and/or variants as described herein, are encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these polypeptides (including fragments and/or variants) are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind these polypeptides.

[77] Also included are polynucleotide sequences encoding a polypeptide consisting of a portion of the complete amino acid sequence encoded by a cDNA clone contained in ATCC Deposit No. PTA-2332, where this portion excludes any integer of amino acid residues from 1 to about 276 amino acids from the amino terminus of the complete amino acid sequence

WO 02/02587

PCT/US01/20917

encoded by a cDNA clone contained in ATCC Deposit No. PTA-2332, or any integer of amino acid residues from 1 to about 276 amino acids from the carboxy terminus, or any combination of the above amino terminal and carboxy terminal deletions, of the complete amino acid sequence encoded by the cDNA clone contained in ATCC Deposit No. PTA-2332. Polypeptides encoded by these polynucleotides also are encompassed by the invention.

[78] As described herein or otherwise known in the art, the polynucleotides of the invention have uses that include, but are not limited to, serving as probes or primers in chromosome identification, chromosome mapping, and linkage analysis.

[79] It has been discovered that this gene is expressed in dendritic cells, T cells, and infant brain tissue.

[80] Polynucleotides, translation products and antibodies corresponding to this gene are useful as reagents for differential identification of immune system tissue(s) or cell type(s) present in a biological sample and for diagnosis of diseases and conditions which include, but are not limited to, diseases and/or disorders involving immune system activation, stimulation and/or surveillance, particularly involving T cells, in addition to other immune system cells such as dendritic cells, neutrophils, and leukocytes, as well as for diseases and/or disorders of the neural system. Similarly, polypeptides and antibodies directed to these polypeptides are useful in providing immunological probes for differential identification of the tissue(s) or cell type(s). Particularly contemplated are the use of antibodies directed against the extracellular portion of this protein which act as antagonists for the activity of the B7-H3 protein. Such antagonistic antibodies would be useful for the prevention and/or inhibition of such biological activities as are disclosed herein (e.g. T cell modulated activities).

[81] For a number of disorders of the above tissues or cells, particularly of the immune system, expression of this gene at significantly higher or lower levels may be routinely detected in certain tissues or cell types (e.g., immune, neural, cancerous and wounded tissues) or bodily fluids (e.g., lymph, serum, plasma, urine, synovial fluid and spinal fluid) or another tissue or cell sample taken from an individual having such a disorder, relative to the standard gene expression level, i.e., the expression level in healthy tissue or bodily fluid from an individual not having the disorder.

[82] The tissue distribution in immune cells (e.g., T-cells, dendritic cells), and the homology to members of the B7 family of ligands, indicates that the polynucleotides, translation products and antibodies corresponding to this gene are useful for the diagnosis,

WO 02/02587

PCT/US01/20917

detection and/or treatment of diseases and/or disorders involving immune system activation, stimulation and/or surveillance, particularly as relating to T cells, neutrophils, dendritic cells, leukocytes, and other immune system cells. In particular, the translation product of the B7-H8 gene may be involved in the costimulation of T cells, binding to ICOS, and/or may play a role in modulation of the expression of particular cytokines, for example.

[83] More generally, the tissue distribution in immune system cells indicates that this gene product may be involved in the regulation of cytokine production, antigen presentation, or other processes that may also suggest a usefulness in the treatment of cancer (e.g. by boosting immune responses). Since the gene is expressed in cells of immune system origin, polynucleotides, translation products and antibodies corresponding to this gene may show utility as a tumor marker and/or immunotherapy targets for immune system cells and tissues.

[84] Polynucleotides, translation products and antibodies corresponding to this gene may be also used as an agent for immunological disorders including arthritis, asthma, immune deficiency diseases such as AIDS, leukemia, rheumatoid arthritis, inflammatory bowel disease, sepsis, acne, and psoriasis. In addition, this gene product may have commercial utility in the expansion of stem cells and committed progenitors of various blood lineages, and in the differentiation and/or proliferation of various cell types. Furthermore, the protein may also be used to determine biological activity, to raise antibodies, as tissue markers, to isolate cognate ligands or receptors, to identify agents that modulate their interactions, in addition to its use as a nutritional supplement.

[85] Expression within infant brain tissue suggests that polynucleotides, translation products and antibodies corresponding to this clone are useful for the detection and/or treatment of neurodegenerative disease states and behavioural disorders such as Alzheimers Disease, Parkinsons Disease, Huntingtons Disease, Tourette Syndrome, schizophrenia, mania, dementia, paranoia, obsessive compulsive disorder, panic disorder, learning disabilities, ALS, psychoses, autism, and altered behaviors, including disorders in feeding, sleep patterns, balance, and perception. In addition, the gene or gene product may also play a role in the treatment and/or detection of developmental disorders associated with the developing embryo, or sexually-linked disorders. Additionally, polynucleotides, translation products and antibodies corresponding to this gene may show utility as a tumor marker and/or immunotherapy targets for the above listed tissues.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

FEATURES OF PROTEIN ENCODED BY GENE NO: 2

[86] For purposes of this application, this gene and its corresponding translation product are known as the B7-H7 gene and B7-H7 protein. This protein is believed to reside as a cell-surface molecule, and the transmembrane domain of this protein is believed to approximately embody the following preferred amino acid residues: PTWLLHIEFSCILAFIFATVIALRKQLC (SEQ ID NO: 30). Polynucleotides encoding these polypeptides are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind one or more of these peptides. As one skilled in the art would understand, the transmembrane domain was predicted using computer analysis, and the transmembrane domain may vary by one, two, three, four, five, six, seven, eight, nine, and/or ten amino acids from the N and C-termini of the predicted transmembrane domain.

[87] The B7-H7 gene shares sequence homology with members of the B7 family of ligands (i.e., B7-H1 (See Genbank Accession AAF25807)). These proteins and their corresponding receptors play vital roles in the growth, differentiation, activation, proliferation and death of T cells. For example, some members of this family (i.e., B7-H1) are involved in costimulation of the T cell response, as well as inducing increased cytokine production, while other family members are involved in the negative regulation of the T cell response. Therefore, agonists and antagonists such as antibodies or small molecules directed against the B7-H7 gene are useful for treating T cell mediated immune system disorders, as well as disorders of other immune system cells, such as for example, neutrophils, macrophage, and leukocytes.

[88] Preferred polypeptides of the present invention comprise, or alternatively consist of, one, two, three, four, five, six, seven, or all seven of the immunogenic epitopes of the B7-H7 protein shown in SEQ ID NO: 15 as residues: Lys-61 to Arg-72, Arg-95 to Tyr-109, Ala-121 to Ile-126, Asn-163 to Gly-172, Lys-183 to Asn-189, Ser-211 to His-218, and Leu-251 to Val-269. Polynucleotides encoding these polypeptides are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind one or more of these polypeptides. Moreover, fragments and variants of these polypeptides (e.g., fragments as described herein, polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to these polypeptides and polypeptides encoded by the polynucleotide which hybridizes, under stringent conditions, to the polynucleotide encoding these polypeptides, or the complement thereof) are encompassed by the invention. Antibodies that bind these fragments and variants of the invention are also

WO 02/02587

PCT/US01/20917

encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these fragments and variants are also encompassed by the invention.

[89] In additional nonexclusive embodiments, polypeptides of the invention comprise, or alternatively consist of, an amino acid sequence selected from the group consisting of:

[90] The extracellular domain of the B7-H7 protein:
MIFLLMLSLELQLHQIAALFTVTVPKELYIEHGNSVTECNFDTGSHVNLGAITASL
QKVENDTSPHRERATLLEEQLPLGKASFHIPQVQRDEGQYQCIIYGVAWDYKYLTLKVKASYRKINTHLKVPET
DEVELTCQATGYPLAEVSWPNVSVPAANTSHSRTPPEGLYQVTSVLRRLKPPPGRNFSCVFNWTHVRELTLASIDLQSQMEPRTH (SEQ ID NO: 31),

[91] The mature extracellular domain of the B7-H7 protein:
LFTVTVPKELYIEHGNSVTECNFDTGSHVNLGAITASLQKVENDTSPHRERATLLEEQLPLGKASFHIPQVQRDEGQYQCIIYGVAWDYKYLTLKVKASYRKINTHLKVPET
DEVELTCQATGYPLAEVSWPNVSVPAANTSHSRTPPEGLYQVTSVLRRLKPPPGRNFSCVFNWTHVRELTLASIDLQSQMEPRTH (SEQ ID NO: 32), and/or

[92] The leader sequence of the B7-H7 protein: MIFLLMLSLELQLHQIAA (SEQ ID NO: 33).

[93] Polynucleotides encoding these polypeptides are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind one or more of these polypeptides. Moreover, fragments and variants of these polypeptides (e.g., fragments as described herein, polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to these polypeptides and polypeptides encoded by the polynucleotide which hybridizes, under stringent conditions, to the polynucleotide encoding these polypeptides, or the complement thereof) are encompassed by the invention. Antibodies that bind these fragments and variants of the invention are also encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these fragments and variants are also encompassed by the invention.

[94] In specific embodiments, polypeptides of the invention comprise, or alternatively consist of, an amino acid sequence selected from the pair of immunoglobulin-like regions of the B7-H7 protein:

ELYIEHGNSVTECNFDTGSHVNLGAITASLQKVENDTSPHRERATLLEEQLPLGKASFHIPQVQRDEGQYQCIIYGVAWDYKYLTLKVK (SEQ ID NO: 34) and/or
SYRKINTHLKVPETDEVELTCQATGYPLAEVSWPNVSVPAANTSHSRTPPEGLYQVTSVLRRLKPPPGRNFSCVFNWTHVRELTLASIDLQSQMEP (SEQ ID NO: 35). Polynucleotides

WO 02/02587

PCT/US01/20917

encoding these polypeptides are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind one or more of these polypeptides. Moreover, fragments and variants of these polypeptides (e.g., fragments as described herein, polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to these polypeptides and polypeptides encoded by the polynucleotide which hybridizes, under stringent conditions, to the polynucleotide encoding these polypeptides, or the complement thereof) are encompassed by the invention. Antibodies that bind these fragments and variants of the invention are also encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these fragments and variants are also encompassed by the invention.

[95] Also preferred are polypeptides comprising, or alternatively consisting of, fragments of the mature extracellular portion of the B7-H7 protein demonstrating functional activity (SEQ ID NO: 32). Fragments and/or variants of these polypeptides, such as, for example, fragments and/or variants as described herein, are encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these polypeptides (including fragments and/or variants) are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind these polypeptides.

[96] By functional activity is meant, a polypeptide fragment capable of displaying one or more known functional activities associated with the full-length (complete) B7-H7 protein. Such functional activities include, but are not limited to, biological activity (e.g., T cell costimulatory activity, ability to bind ICOS, CD28 or CTLA4, and ability to induce or inhibit cytokine production), antigenicity [ability to bind (or compete with a B7-H7 polypeptide for binding) to an anti-B7-H7 antibody], immunogenicity (ability to generate antibody which binds to a B7-H7 polypeptide), ability to form multimers with B7-H7 polypeptides of the invention, and ability to bind to a receptor for a B7-H7 polypeptide.

[97] Figures 3A-C show the nucleotide (SEQ ID NO: 3) and deduced amino acid sequence (SEQ ID NO: 15) corresponding to this gene.

[98] Figure 4 shows an analysis of the amino acid sequence (SEQ ID NO: 15). Alpha, beta, turn and coil regions; hydrophilicity and hydrophobicity; amphipathic regions; flexible regions; antigenic index and surface probability are shown, and all were generated using the default settings of the recited computer algorithms. In the "Antigenic Index or Jameson-Wolf" graph, the positive peaks indicate locations of the highly antigenic regions of the protein, i.e., regions from which epitope-bearing peptides of the invention can be obtained. Polypeptides comprising, or alternatively consisting of, domains defined by these graphs are

WO 02/02587

PCT/US01/20917

contemplated by the present invention, as are polynucleotides encoding these polypeptides. The data presented in Figure 4 are also represented in tabular form in Table 4. The columns are labeled with the headings "Res", "Position", and Roman Numerals I-XIV. The column headings refer to the following features of the amino acid sequence presented in Figure 4, and Table 4: "Res": amino acid residue of SEQ ID NO: 15 and Figures 3A-C; "Position": position of the corresponding residue within SEQ ID NO: 15 and Figures 3A-C; I: Alpha, Regions - Garnier-Robson; II: Alpha, Regions - Chou-Fasman; III: Beta, Regions - Garnier-Robson; IV: Beta, Regions - Chou-Fasman; V: Turn, Regions - Garnier-Robson; VI: Turn, Regions - Chou-Fasman; VII: Coil, Regions - Garnier-Robson; VIII: Hydrophilicity Plot - Kyte-Doolittle; IX: Hydrophobicity Plot - Hopp-Woods; X: Alpha, Amphipathic Regions - Eisenberg; XI: Beta, Amphipathic Regions - Eisenberg; XII: Flexible Regions - Karplus-Schulz; XIII: Antigenic Index - Jameson-Wolf; and XIV: Surface Probability Plot - Emini. Preferred embodiments of the invention in this regard include fragments that comprise, or alternatively consisting of, one or more of the following regions: alpha-helix and alpha-helix forming regions ("alpha-regions"), beta-sheet and beta-sheet forming regions ("beta-regions"), turn and turn-forming regions ("turn-regions"), coil and coil-forming regions ("coil-regions"), hydrophilic regions, hydrophobic regions, alpha amphipathic regions, beta amphipathic regions, flexible regions, surface-forming regions and high antigenic index regions. The data representing the structural or functional attributes of the protein set forth in Figure 4 and/or Table 4, as described above, was generated using the various modules and algorithms of the DNA*STAR set on default parameters. In a preferred embodiment, the data presented in columns VIII, IX, XIII, and XIV of Table 4 can be used to determine regions of the protein which exhibit a high degree of potential for antigenicity. Regions of high antigenicity are determined from the data presented in columns VIII, IX, XIII, and/or XIV by choosing values which represent regions of the polypeptide which are likely to be exposed on the surface of the polypeptide in an environment in which antigen recognition may occur in the process of initiation of an immune response. Certain preferred regions in these regards are set out in Figure 4, but may, as shown in Table 4, be represented or identified by using tabular representations of the data presented in Figure 4. The DNA*STAR computer algorithm used to generate Figure 4 (set on the original default parameters) was used to present the data in Figure 4 in a tabular format (See Table 4). The tabular format of the data

WO 02/02587

PCT/US01/20917

in Figure 4 (See Table 4) is used to easily determine specific boundaries of a preferred region.

[99] The present invention is further directed to fragments of the polynucleotide sequences described herein. By a fragment of, for example, the polynucleotide sequence of a deposited cDNA or the nucleotide sequence shown in SEQ ID NO: 3, is intended polynucleotide fragments at least about 15nt, and more preferably at least about 20 nt, at least about 25nt, still more preferably at least about 30 nt, at least about 35nt, and even more preferably, at least about 40 nt in length, at least about 45nt in length, at least about 50nt in length, at least about 60nt in length, at least about 70nt in length, at least about 80nt in length, at least about 90nt in length, at least about 100nt in length, at least about 125nt in length, at least about 150nt in length, at least about 175nt in length, which are useful as diagnostic probes and primers as discussed herein. Of course, larger fragments 200-1500 nt in length are also useful according to the present invention, as are fragments corresponding to most, if not all, of the nucleotide sequence of a deposited cDNA or as shown in SEQ ID NO: 3. By a fragment at least 20 nt in length, for example, is intended fragments which include 20 or more contiguous bases from the nucleotide sequence of a deposited cDNA or the nucleotide sequence as shown in SEQ ID NO: 3. In this context "about" includes the particularly recited size, an sizes larger or smaller by several (5, 4, 3, 2, or 1) nucleotides, at either terminus or at both termini. Representative examples of polynucleotide fragments of the invention include, for example, fragments that comprise, or alternatively, consist of, a sequence from about nucleotide 1 to about 50, from about 51 to about 100, from about 101 to about 150, from about 151 to about 200, from about 201 to about 250, from about 251 to about 300, from about 301 to about 350, from about 351 to about 400, from about 401 to about 450, from about 451 to about 500, and from about 501 to about 550, and from about 551 to about 600, from about 601 to about 650, from about 651 to about 700, from about 701 to about 750, from about 751 to about 800, and from about 801 to about 860, of SEQ ID NO: 3, or the complementary strand thereto, or the cDNA contained in a deposited clone. In this context "about" includes the particularly recited ranges, and ranges larger or smaller by several (5, 4, 3, 2, or 1) nucleotides, at either terminus or at both termini. In additional embodiments, the polynucleotides of the invention encode functional attributes of the corresponding protein.

[100] Preferred polypeptide fragments of the invention comprise, or alternatively consist of, the secreted protein having a continuous series of deleted residues from the amino or the

WO 02/02587

PCT/US01/20917

carboxy terminus, or both. Particularly, N-terminal deletions of the polypeptide can be described by the general formula m-283 where m is an integer from 2 to 278, where m corresponds to the position of the amino acid residue identified in SEQ ID NO: 15. More in particular, the invention provides polynucleotides encoding polypeptides comprising, or alternatively consisting of, an amino acid sequence selected from the group: I-2 to G-283; F-3 to G-283; L-4 to G-283; L-5 to G-283; L-6 to G-283; M-7 to G-283; L-8 to G-283; S-9 to G-283; L-10 to G-283; E-11 to G-283; L-12 to G-283; Q-13 to G-283; L-14 to G-283; H-15 to G-283; Q-16 to G-283; L-17 to G-283; A-18 to G-283; A-19 to G-283; L-20 to G-283; F-21 to G-283; T-22 to G-283; V-23 to G-283; T-24 to G-283; V-25 to G-283; P-26 to G-283; K-27 to G-283; E-28 to G-283; L-29 to G-283; Y-30 to G-283; I-31 to G-283; I-32 to G-283; E-33 to G-283; H-34 to G-283; G-35 to G-283; S-36 to G-283; N-37 to G-283; V-38 to G-283; T-39 to G-283; L-40 to G-283; E-41 to G-283; C-42 to G-283; N-43 to G-283; F-44 to G-283; D-45 to G-283; T-46 to G-283; G-47 to G-283; S-48 to G-283; H-49 to G-283; V-50 to G-283; N-51 to G-283; L-52 to G-283; G-53 to G-283; A-54 to G-283; I-55 to G-283; T-56 to G-283; A-57 to G-283; S-58 to G-283; L-59 to G-283; Q-60 to G-283; K-61 to G-283; V-62 to G-283; E-63 to G-283; N-64 to G-283; D-65 to G-283; T-66 to G-283; S-67 to G-283; P-68 to G-283; H-69 to G-283; R-70 to G-283; F-71 to G-283; R-72 to G-283; A-73 to G-283; T-74 to G-283; L-75 to G-283; L-76 to G-283; E-77 to G-283; B-78 to G-283; Q-79 to G-283; L-80 to G-283; P-81 to G-283; L-82 to G-283; G-83 to G-283; K-84 to G-283; A-85 to G-283; S-86 to G-283; F-87 to G-283; H-88 to G-283; I-89 to G-283; P-90 to G-283; Q-91 to G-283; V-92 to G-283; Q-93 to G-283; V-94 to G-283; R-95 to G-283; D-96 to G-283; E-97 to G-283; G-98 to G-283; Q-99 to G-283; Y-100 to G-283; Q-101 to G-283; C-102 to G-283; I-103 to G-283; I-104 to G-283; I-105 to G-283; Y-106 to G-283; G-107 to G-283; V-108 to G-283; A-109 to G-283; W-110 to G-283; D-111 to G-283; Y-112 to G-283; K-113 to G-283; Y-114 to G-283; L-115 to G-283; T-116 to G-283; L-117 to G-283; K-118 to G-283; V-119 to G-283; K-120 to G-283; A-121 to G-283; S-122 to G-283; Y-123 to G-283; R-124 to G-283; K-125 to G-283; I-126 to G-283; N-127 to G-283; T-128 to G-283; H-129 to G-283; I-130 to G-283; L-131 to G-283; K-132 to G-283; V-133 to G-283; P-134 to G-283; E-135 to G-283; T-136 to G-283; D-137 to G-283; E-138 to G-283; V-139 to G-283; E-140 to G-283; L-141 to G-283; T-142 to G-283; C-143 to G-283; Q-144 to G-283; A-145 to G-283; T-146 to G-283; G-147 to G-283; Y-148 to G-283; P-149 to G-283; L-150 to G-283; A-151 to G-283; E-152 to G-283; V-153 to G-283; S-154 to G-283; W-155 to G-283; P-156 to G-283; N-

WO 02/02587

PCT/US01/20917

157 to G-283; V-158 to G-283; S-159 to G-283; V-160 to G-283; P-161 to G-283; A-162 to G-283; N-163 to G-283; T-164 to G-283; S-165 to G-283; H-166 to G-283; S-167 to G-283; R-168 to G-283; T-169 to G-283; P-170 to G-283; E-171 to G-283; G-172 to G-283; L-173 to G-283; Y-174 to G-283; Q-175 to G-283; V-176 to G-283; T-177 to G-283; S-178 to G-283; V-179 to G-283; L-180 to G-283; R-181 to G-283; L-182 to G-283; K-183 to G-283; P-184 to G-283; P-185 to G-283; P-186 to G-283; G-187 to G-283; R-188 to G-283; N-189 to G-283; F-190 to G-283; S-191 to G-283; C-192 to G-283; V-193 to G-283; F-194 to G-283; W-195 to G-283; N-196 to G-283; T-197 to G-283; H-198 to G-283; V-199 to G-283; R-200 to G-283; E-201 to G-283; L-202 to G-283; T-203 to G-283; L-204 to G-283; A-205 to G-283; S-206 to G-283; I-207 to G-283; D-208 to G-283; L-209 to G-283; Q-210 to G-283; S-211 to G-283; Q-212 to G-283; M-213 to G-283; E-214 to G-283; P-215 to G-283; R-216 to G-283; T-217 to G-283; H-218 to G-283; P-219 to G-283; T-220 to G-283; W-221 to G-283; L-222 to G-283; L-223 to G-283; H-224 to G-283; I-225 to G-283; F-226 to G-283; I-227 to G-283; P-228 to G-283; S-229 to G-283; C-230 to G-283; I-231 to G-283; I-232 to G-283; A-233 to G-283; F-234 to G-283; I-235 to G-283; F-236 to G-283; I-237 to G-283; A-238 to G-283; T-239 to G-283; V-240 to G-283; I-241 to G-283; A-242 to G-283; L-243 to G-283; R-244 to G-283; K-245 to G-283; Q-246 to G-283; L-247 to G-283; C-248 to G-283; Q-249 to G-283; K-250 to G-283; L-251 to G-283; Y-252 to G-283; S-253 to G-283; S-254 to G-283; K-255 to G-283; D-256 to G-283; T-257 to G-283; T-258 to G-283; K-259 to G-283; R-260 to G-283; P-261 to G-283; V-262 to G-283; T-263 to G-283; T-264 to G-283; T-265 to G-283; K-266 to G-283; R-267 to G-283; E-268 to G-283; V-269 to G-283; N-270 to G-283; S-271 to G-283; A-272 to G-283; V-273 to G-283; N-274 to G-283; L-275 to G-283; N-276 to G-283; L-277 to G-283; and/or W-278 to G-283 of SEQ ID NO: 15. Polynucleotides encoding these polypeptides are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind one or more of these polypeptides. Moreover, fragments and variants of these polypeptides (e.g., fragments as described herein, polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to these polypeptides and polypeptides encoded by the polynucleotide which hybridizes, under stringent conditions, to the polynucleotide encoding these polypeptides, or the complement thereof) are encompassed by the invention. Antibodies that bind these fragments and variants of the invention are also encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these fragments and variants are also encompassed by the invention.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[101] Accordingly, the present invention further provides polypeptides having one or more residues deleted from the carboxy terminus of the amino acid sequence of the polypeptide shown in Figures 3A-C (SEQ ID NO: 15), as described by the general formula 1-n, where n is an integer from 7 to 282, where n corresponds to the position of the amino acid residue identified in SEQ ID NO: 15. Additionally, the invention provides polynucleotides encoding polypeptides comprising, or alternatively consisting of, an amino acid sequence selected from the following group of C-terminal deletions: M-1 to P-282; M-1 to E-281; M-1 to W-280; M-1 to S-279; M-1 to W-278; M-1 to L-277; M-1 to N-276; M-1 to L-275; M-1 to N-274; M-1 to V-273; M-1 to A-272; M-1 to S-271; M-1 to N-270; M-1 to V-269; M-1 to E-268; M-1 to R-267; M-1 to K-266; M-1 to T-265; M-1 to T-264; M-1 to T-263; M-1 to V-262; M-1 to P-261; M-1 to R-260; M-1 to K-259; M-1 to T-258; M-1 to T-257; M-1 to D-256; M-1 to K-255; M-1 to S-254; M-1 to S-253; M-1 to Y-252; M-1 to L-251; M-1 to K-250; M-1 to Q-249; M-1 to C-248; M-1 to L-247; M-1 to Q-246; M-1 to K-245; M-1 to R-244; M-1 to L-243; M-1 to A-242; M-1 to I-241; M-1 to V-240; M-1 to T-239; M-1 to A-238; M-1 to I-237; M-1 to F-236; M-1 to I-235; M-1 to F-234; M-1 to A-233; M-1 to I-232; M-1 to I-231; M-1 to C-230; M-1 to S-229; M-1 to P-228; M-1 to L-227; M-1 to F-226; M-1 to I-225; M-1 to H-224; M-1 to L-223; M-1 to L-222; M-1 to W-221; M-1 to T-220; M-1 to P-219; M-1 to H-218; M-1 to T-217; M-1 to R-216; M-1 to P-215; M-1 to E-214; M-1 to M-213; M-1 to Q-212; M-1 to S-211; M-1 to Q-210; M-1 to L-209; M-1 to D-208; M-1 to I-207; M-1 to S-206; M-1 to A-205; M-1 to L-204; M-1 to T-203; M-1 to L-202; M-1 to E-201; M-1 to R-200; M-1 to V-199; M-1 to H-198; M-1 to T-197; M-1 to N-196; M-1 to W-195; M-1 to F-194; M-1 to V-193; M-1 to C-192; M-1 to S-191; M-1 to F-190; M-1 to N-189; M-1 to R-188; M-1 to G-187; M-1 to P-186; M-1 to P-185; M-1 to P-184; M-1 to K-183; M-1 to L-182; M-1 to R-181; M-1 to L-180; M-1 to V-179; M-1 to S-178; M-1 to T-177; M-1 to V-176; M-1 to Q-175; M-1 to Y-174; M-1 to L-173; M-1 to G-172; M-1 to E-171; M-1 to P-170; M-1 to T-169; M-1 to R-168; M-1 to S-167; M-1 to H-166; M-1 to S-165; M-1 to T-164; M-1 to N-163; M-1 to A-162; M-1 to P-161; M-1 to V-160; M-1 to S-159; M-1 to V-158; M-1 to N-157; M-1 to P-156; M-1 to W-155; M-1 to S-154; M-1 to V-153; M-1 to E-152; M-1 to A-151; M-1 to L-150; M-1 to P-149; M-1 to Y-148; M-1 to G-147; M-1 to T-146; M-1 to A-145; M-1 to Q-144; M-1 to C-143; M-1 to T-142; M-1 to L-141; M-1 to E-140; M-1 to V-139; M-1 to E-138; M-1 to D-137; M-1 to T-136; M-1 to E-135; M-1 to P-134; M-1 to V-133; M-1 to K-132; M-1 to L-131; M-1 to I-130; M-1 to H-129; M-1 to T-

WO 02/02587

PCT/US01/20917

128; M-1 to N-127; M-1 to I-126; M-1 to K-125; M-1 to R-124; M-1 to Y-123; M-1 to S-122; M-1 to A-121; M-1 to K-120; M-1 to V-119; M-1 to K-118; M-1 to L-117; M-1 to T-116; M-1 to L-115; M-1 to Y-114; M-1 to K-113; M-1 to Y-112; M-1 to D-111; M-1 to W-110; M-1 to A-109; M-1 to V-108; M-1 to G-107; M-1 to Y-106; M-1 to I-105; M-1 to I-104; M-1 to I-103; M-1 to C-102; M-1 to Q-101; M-1 to Y-100; M-1 to Q-99; M-1 to G-98; M-1 to E-97; M-1 to D-96; M-1 to R-95; M-1 to V-94; M-1 to Q-93; M-1 to V-92; M-1 to Q-91; M-1 to P-90; M-1 to I-89; M-1 to H-88; M-1 to F-87; M-1 to S-86; M-1 to A-85; M-1 to K-84; M-1 to G-83; M-1 to L-82; M-1 to P-81; M-1 to L-80; M-1 to Q-79; M-1 to E-78; M-1 to E-77; M-1 to L-76; M-1 to L-75; M-1 to T-74; M-1 to A-73; M-1 to R-72; M-1 to E-71; M-1 to R-70; M-1 to H-69; M-1 to P-68; M-1 to S-67; M-1 to T-66; M-1 to D-65; M-1 to N-64; M-1 to E-63; M-1 to V-62; M-1 to K-61; M-1 to Q-60; M-1 to L-59; M-1 to S-58; M-1 to A-57; M-1 to T-56; M-1 to I-55; M-1 to A-54; M-1 to G-53; M-1 to L-52; M-1 to N-51; M-1 to V-50; M-1 to H-49; M-1 to S-48; M-1 to G-47; M-1 to T-46; M-1 to D-45; M-1 to F-44; M-1 to N-43; M-1 to C-42; M-1 to E-41; M-1 to L-40; M-1 to T-39; M-1 to V-38; M-1 to N-37; M-1 to S-36; M-1 to G-35; M-1 to H-34; M-1 to E-33; M-1 to I-32; M-1 to I-31; M-1 to Y-30; M-1 to L-29; M-1 to E-28; M-1 to K-27; M-1 to P-26; M-1 to V-25; M-1 to T-24; M-1 to V-23; M-1 to T-22; M-1 to F-21; M-1 to L-20; M-1 to A-19; M-1 to A-18; M-1 to I-17; M-1 to Q-16; M-1 to H-15; M-1 to L-14; M-1 to Q-13; M-1 to L-12; M-1 to E-11; M-1 to L-10; M-1 to S-9; M-1 to L-8; and/or M-1 to M-7 of SEQ ID NO: 15. Polynucleotides encoding these polypeptides are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind one or more of these polypeptides. Moreover, fragments and variants of these polypeptides (e.g., fragments as described herein, polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to these polypeptides and polypeptides encoded by the polynucleotide which hybridizes, under stringent conditions, to the polynucleotide encoding these polypeptides, or the complement thereof) are encompassed by the invention. Antibodies that bind these fragments and variants of the invention are also encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these fragments and variants are also encompassed by the invention.

[102] Also as mentioned above, even if deletion of one or more amino acids from the C-terminus of a protein results in modification or loss of one or more biological functions of the protein (e.g., ability to inhibit the Mixed Lymphocyte Reaction), other functional activities (e.g., biological activities, ability to multimerize, ability to bind receptor, ability to generate

WO 02/02587

PCT/US01/20917

antibodies, ability to bind antibodies) may still be retained. For example, the ability of the shortened polypeptide to induce and/or bind to antibodies which recognize the complete or mature forms of the polypeptide generally will be retained when less than the majority of the residues of the complete or mature polypeptide are removed from the C-terminus. Whether a particular polypeptide lacking C-terminal residues of a complete polypeptide retains such immunologic activities can readily be determined by routine methods described herein and otherwise known in the art. It is not unlikely that a polypeptide with a large number of deleted C-terminal amino acid residues may retain some biological or immunogenic activities. In fact, peptides composed of as few as six amino acid residues may often evoke an immune response.

[103] More in particular, the invention provides polynucleotides encoding polypeptides comprising, or alternatively consisting of, an amino acid sequence selected from the group of N-terminal deletions of the mature extracellular portion of the B7-H7 protein (SEQ ID NO: 32): F-21 to H-218; T-22 to H-218; V-23 to H-218; T-24 to H-218; V-25 to H-218; P-26 to H-218; K-27 to H-218; E-28 to H-218; L-29 to H-218; Y-30 to H-218; I-31 to H-218; I-32 to H-218; E-33 to H-218; H-34 to H-218; G-35 to H-218; S-36 to H-218; N-37 to H-218; V-38 to H-218; T-39 to H-218; L-40 to H-218; E-41 to H-218; C-42 to H-218; N-43 to H-218; F-44 to H-218; D-45 to H-218; T-46 to H-218; G-47 to H-218; S-48 to H-218; H-49 to H-218; V-50 to H-218; N-51 to H-218; L-52 to H-218; G-53 to H-218; A-54 to H-218; I-55 to H-218; T-56 to H-218; A-57 to H-218; S-58 to H-218; L-59 to H-218; Q-60 to H-218; K-61 to H-218; V-62 to H-218; E-63 to H-218; N-64 to H-218; D-65 to H-218; T-66 to H-218; S-67 to H-218; P-68 to H-218; H-69 to H-218; R-70 to H-218; E-71 to H-218; R-72 to H-218; A-73 to H-218; T-74 to H-218; L-75 to H-218; L-76 to H-218; E-77 to H-218; E-78 to H-218; Q-79 to H-218; L-80 to H-218; P-81 to H-218; L-82 to H-218; G-83 to H-218; K-84 to H-218; A-85 to H-218; S-86 to H-218; F-87 to H-218; H-88 to H-218; I-89 to H-218; P-90 to H-218; Q-91 to H-218; V-92 to H-218; Q-93 to H-218; V-94 to H-218; R-95 to H-218; D-96 to H-218; E-97 to H-218; G-98 to H-218; Q-99 to H-218; Y-100 to H-218; Q-101 to H-218; C-102 to H-218; I-103 to H-218; L-104 to H-218; I-105 to H-218; Y-106 to H-218; G-107 to H-218; V-108 to H-218; A-109 to H-218; W-110 to H-218; D-111 to H-218; Y-112 to H-218; K-113 to H-218; Y-114 to H-218; L-115 to H-218; T-116 to H-218; L-117 to H-218; K-118 to H-218; V-119 to H-218; K-120 to H-218; A-121 to H-218; S-122 to H-218; Y-123 to H-218; R-124 to H-218; K-125 to H-218; I-126 to H-218; N-127 to H-218; T-128 to H-218; H-

WO 02/02587

PCT/US01/20917

129 to H-218; I-130 to H-218; L-131 to H-218; K-132 to H-218; V-133 to H-218; P-134 to H-218; E-135 to H-218; T-136 to H-218; D-137 to H-218; E-138 to H-218; V-139 to H-218; E-140 to H-218; L-141 to H-218; T-142 to H-218; C-143 to H-218; Q-144 to H-218; A-145 to H-218; T-146 to H-218; G-147 to H-218; Y-148 to H-218; P-149 to H-218; L-150 to H-218; A-151 to H-218; E-152 to H-218; V-153 to H-218; S-154 to H-218; W-155 to H-218; P-156 to H-218; N-157 to H-218; V-158 to H-218; S-159 to H-218; V-160 to H-218; P-161 to H-218; A-162 to H-218; N-163 to H-218; T-164 to H-218; S-165 to H-218; H-166 to H-218; S-167 to H-218; R-168 to H-218; T-169 to H-218; P-170 to H-218; E-171 to H-218; G-172 to H-218; L-173 to H-218; Y-174 to H-218; Q-175 to H-218; V-176 to H-218; T-177 to H-218; S-178 to H-218; V-179 to H-218; L-180 to H-218; R-181 to H-218; L-182 to H-218; K-183 to H-218; P-184 to H-218; F-185 to H-218; P-186 to H-218; G-187 to H-218; R-188 to H-218; N-189 to H-218; F-190 to H-218; S-191 to H-218; C-192 to H-218; V-193 to H-218; F-194 to H-218; W-195 to H-218; N-196 to H-218; T-197 to H-218; H-198 to H-218; V-199 to H-218; R-200 to H-218; E-201 to H-218; L-202 to H-218; T-203 to H-218; L-204 to H-218; A-205 to H-218; S-206 to H-218; I-207 to H-218; D-208 to H-218; L-209 to H-218; Q-210 to H-218; S-211 to H-218; Q-212 to H-218; and/or M-213 to H-218 of SEQ ID NO: 15. Polynucleotides encoding these polypeptides are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind one or more of these polypeptides. Moreover, fragments and variants of these polypeptides (e.g., fragments as described herein, polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to these polypeptides and polypeptides encoded by the polynucleotide which hybridizes, under stringent conditions, to the polynucleotide encoding these polypeptides, or the complement thereof) are encompassed by the invention. Antibodies that bind these fragments and variants of the invention are also encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these fragments and variants are also encompassed by the invention.

[104] Additionally, the invention provides polynucleotides encoding polypeptides comprising, or alternatively consisting of, an amino acid sequence selected from the group of C-terminal deletions of the mature extracellular portion of the B7-H7 protein (SEQ ID NO: 32): L-20 to T-217; L-20 to R-216; L-20 to P-215; L-20 to E-214; L-20 to M-213; L-20 to Q-212; L-20 to S-211; L-20 to Q-210; L-20 to L-209; L-20 to D-208; L-20 to I-207; L-20 to S-206; L-20 to A-205; L-20 to L-204; L-20 to T-203; L-20 to L-202; L-20 to E-201; L-20 to R-200; L-20 to V-199; L-20 to H-198; L-20 to T-197; L-20 to N-196; L-20 to W-195; L-20 to

WO 02/02587

PCT/US01/20917

F-194; L-20 to V-193; L-20 to C-192; L-20 to S-191; L-20 to F-190; L-20 to N-189; L-20 to R-188; L-20 to G-187; L-20 to P-186; L-20 to P-185; L-20 to P-184; L-20 to K-183; L-20 to L-182; L-20 to R-181; L-20 to L-180; L-20 to V-179; L-20 to S-178; L-20 to T-177; L-20 to V-176; L-20 to Q-175; L-20 to Y-174; L-20 to L-173; L-20 to G-172; L-20 to E-171; L-20 to P-170; L-20 to T-169; L-20 to R-168; L-20 to S-167; L-20 to H-166; L-20 to S-165; L-20 to T-164; L-20 to N-163; L-20 to A-162; L-20 to P-161; L-20 to V-160; L-20 to S-159; L-20 to V-158; L-20 to N-157; L-20 to P-156; L-20 to W-155; L-20 to S-154; L-20 to V-153; L-20 to E-152; L-20 to A-151; L-20 to L-150; L-20 to P-149; L-20 to Y-148; L-20 to G-147; L-20 to T-146; L-20 to A-145; L-20 to Q-144; L-20 to C-143; L-20 to T-142; L-20 to L-141; L-20 to E-140; L-20 to V-139; L-20 to E-138; L-20 to D-137; L-20 to T-136; L-20 to E-135; L-20 to P-134; L-20 to V-133; L-20 to K-132; L-20 to L-131; L-20 to I-130; L-20 to H-129; L-20 to T-128; L-20 to N-127; L-20 to I-126; L-20 to K-125; L-20 to R-124; L-20 to Y-123; L-20 to S-122; L-20 to A-121; L-20 to K-120; L-20 to V-119; L-20 to K-118; L-20 to L-117; L-20 to T-116; L-20 to L-115; L-20 to Y-114; L-20 to K-113; L-20 to Y-112; L-20 to D-111; L-20 to W-110; L-20 to A-109; L-20 to V-108; L-20 to G-107; L-20 to Y-106; L-20 to I-105; L-20 to I-104; L-20 to I-103; L-20 to C-102; L-20 to Q-101; L-20 to Y-100; L-20 to Q-99; L-20 to G-98; L-20 to E-97; L-20 to D-96; L-20 to R-95; L-20 to V-94; L-20 to Q-93; L-20 to V-92; L-20 to Q-91; L-20 to P-90; L-20 to I-89; L-20 to H-88; L-20 to F-87; L-20 to S-86; L-20 to A-85; L-20 to K-84; L-20 to G-83; L-20 to L-82; L-20 to P-81; L-20 to L-80; L-20 to Q-79; L-20 to E-78; L-20 to E-77; L-20 to L-76; L-20 to L-75; L-20 to T-74; L-20 to A-73; L-20 to R-72; L-20 to E-71; L-20 to R-70; L-20 to H-69; L-20 to P-68; L-20 to S-67; L-20 to T-66; L-20 to D-65; L-20 to N-64; L-20 to E-63; L-20 to V-62; L-20 to K-61; L-20 to Q-60; L-20 to L-59; L-20 to S-58; L-20 to A-57; L-20 to T-56; L-20 to I-55; L-20 to A-54; L-20 to G-53; L-20 to L-52; L-20 to N-51; L-20 to V-50; L-20 to H-49; L-20 to S-48; L-20 to G-47; L-20 to T-46; L-20 to D-45; L-20 to F-44; L-20 to N-43; L-20 to C-42; L-20 to E-41; L-20 to L-40; L-20 to T-39; L-20 to V-38; L-20 to N-37; L-20 to S-36; L-20 to G-35; L-20 to H-34; L-20 to E-33; L-20 to I-32; L-20 to I-31; L-20 to Y-30; L-20 to L-29; L-20 to E-28; L-20 to K-27; and/or L-20 to P-26 of SEQ ID NO: 15. Polynucleotides encoding these polypeptides are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind one or more of these polypeptides. Moreover, fragments and variants of these polypeptides (e.g., fragments as described herein, polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to these polypeptides and polypeptides encoded by the polynucleotide which hybridizes, under

WO 02/02587

PCT/US01/20917

stringent conditions, to the polynucleotide encoding these polypeptides, or the complement thereof) are encompassed by the invention. Antibodies that bind these fragments and variants of the invention are also encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these fragments and variants are also encompassed by the invention.

[105] In addition, any of the above listed N- or C-terminal deletions can be combined to produce a N- and C-terminal deleted polypeptide. The invention also provides polypeptides comprising, or alternatively consisting of, one or more amino acids deleted from both the amino and the carboxyl termini, which may be described generally as having residues m-n of SEQ ID NO: 15, where n and m are integers as described above. Fragments and/or variants of these polypeptides, such as, for example, fragments and/or variants as described herein, are encompassed by the invention.

[106] Polynucleotides encoding these polypeptides (including fragments and/or variants) are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind these polypeptides. The present invention is also directed to proteins containing polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% or 99% identical to a polypeptide sequence set forth herein as m-n. In preferred embodiments, the application is directed to proteins containing polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% or 99% identical to polypeptides having the amino acid sequence of the specific N- and C-terminal deletions recited herein. Fragments and/or variants of these polypeptides, such as, for example, fragments and/or variants as described herein, are encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these polypeptides (including fragments and/or variants) are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind these polypeptides.

[107] Also included are polynucleotide sequences encoding a polypeptide consisting of a portion of the complete amino acid sequence encoded by a cDNA clone contained in ATCC Deposit No. PTA-2332, where this portion excludes any integer of amino acid residues from 1 to about 277 amino acids from the amino terminus of the complete amino acid sequence encoded by a cDNA clone contained in ATCC Deposit No. PTA-2332, or any integer of amino acid residues from 1 to about 277 amino acids from the carboxy terminus, or any combination of the above amino terminal and carboxy terminal deletions, of the complete amino acid sequence encoded by the cDNA clone contained in ATCC Deposit No. PTA-2332. Polypeptides encoded by these polynucleotides also are encompassed by the invention.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[108] As described herein or otherwise known in the art, the polynucleotides of the invention have uses that include, but are not limited to, serving as probes or primers in chromosome identification, chromosome mapping, and linkage analysis.

[109] It has been discovered that this gene is expressed in dendritic cells, T cells, heart, lung, liver, spleen, and lymph node tissues.

[110] Polynucleotides, translation products and antibodies corresponding to this gene are useful as reagents for differential identification of immune system tissue(s) or cell type(s) present in a biological sample and for diagnosis of diseases and conditions which include, but are not limited to, diseases and/or disorders involving immune system activation, stimulation and/or surveillance, particularly involving T cells, in addition to other immune system cells such as dendritic cells, neutrophils, and leukocytes.

[111] Similarly, polypeptides and antibodies directed to these polypeptides are useful in providing immunological probes for differential identification of the tissue(s) or cell type(s). Particularly contemplated are the use of antibodies directed against the extracellular portion of this protein which act as antagonists for the activity of the B7-H7 protein. Such antagonistic antibodies would be useful for the prevention and/or inhibition of such biological activities as are disclosed herein (e.g. T cell modulated activities).

[112] For a number of disorders of the above tissues or cells, particularly of the immune system, expression of this gene at significantly higher or lower levels may be routinely detected in certain tissues or cell types (e.g., immune, neural, cancerous and wounded tissues) or bodily fluids (e.g., lymph, serum, plasma, urine, synovial fluid and spinal fluid) or another tissue or cell sample taken from an individual having such a disorder, relative to the standard gene expression level, i.e., the expression level in healthy tissue or bodily fluid from an individual not having the disorder.

[113] The tissue distribution in immune cells (e.g., T-cells, dendritic cells), and the homology to members of the B7 family of ligands, indicates that the polynucleotides, translation products and antibodies corresponding to this gene are useful for the diagnosis, detection and/or treatment of diseases and/or disorders involving immune system activation, stimulation and/or surveillance, particularly as relating to T cells, neutrophils, dendritic cells, leukocytes, and other immune system cells. In particular, the translation product of the B7-H7 gene may be involved in the costimulation of T cells, binding to ICOS, and/or may play a role in modulation of the expression of particular cytokines, for example.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[114] More generally, the tissue distribution in immune system cells indicates that this gene product may be involved in the regulation of cytokine production, antigen presentation, or other processes that may also suggest a usefulness in the treatment of cancer (e.g. by boosting immune responses). Since the gene is expressed in cells of immune origin, polynucleotides, translation products and antibodies corresponding to this gene may show utility as a tumor marker and/or immunotherapy targets for the above listed tissues.

[115] Polynucleotides, translation products and antibodies corresponding to this gene may be also used as an agent for immunological disorders including arthritis, asthma, immune deficiency diseases such as AIDS, leukemia, rheumatoid arthritis, inflammatory bowel disease, sepsis, acne, and psoriasis. In addition, this gene product may have commercial utility in the expansion of stem cells and committed progenitors of various blood lineages, and in the differentiation and/or proliferation of various cell types. Additionally, polynucleotides, translation products and antibodies corresponding to this gene may show utility as a tumor marker and/or immunotherapy targets for the above listed tissues. Furthermore, the protein may also be used to determine biological activity, to raise antibodies, as tissue markers, to isolate cognate ligands or receptors, to identify agents that modulate their interactions, in addition to its use as a nutritional supplement.

[116] In addition, the tissue distribution in heart and liver tissues indicates that polynucleotides, translation products and antibodies corresponding to this gene are useful for the diagnosis, detection and or treatment of diseases and/or disorders of the cardiovascular and hepatic systems. Expression within heart tissue suggests that polynucleotides, translation products and antibodies corresponding to this clone are useful for the diagnosis and treatment of conditions and pathologies of the cardiovascular system, such as heart disease, restenosis, atherosclerosis, stroke, angina, thrombosis, and wound healing. Expression within liver tissue suggests that polynucleotides, translation products and antibodies corresponding to this clone are useful for the detection and treatment of liver disorders and cancers (e.g., hepatoblastoma, jaundice, hepatitis, liver metabolic diseases and conditions that are attributable to the differentiation of hepatocyte progenitor cells). In addition the expression in fetus would suggest a useful role for the protein product in developmental abnormalities, fetal deficiencies, pre-natal disorders and various wound-healing models and/or tissue trauma.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

FEATURES OF PROTEIN ENCODED BY GENE NO: 3

[117] For purposes of this application, this gene and its corresponding translation product are known as the B7-H9 gene and B7-H9 protein. The B7-H9 gene shares sequence homology with members of the B7 family of ligands (i.e., B7-1 (See Genbank Accession 507873)). These proteins and their corresponding receptors play vital roles in the growth, differentiation, activation, proliferation, and death of T cells. For example, some members of this family (i.e., B7-H1) are involved in costimulation of the T cell response, as well as inducing increased cytokine production, while other family members are involved in the negative regulation of the T cell response. Therefore, agonists and antagonists such as antibodies or small molecules directed against the B7-H9 gene are useful for treating T cell mediated immune system disorders.

[118] Preferred polypeptides of the present invention comprise, or alternatively consist of, one, two, three, four, five, or all five of the immunogenic epitopes of the B7-H9 protein shown in SEQ ID NO: 16 as residues: Tyr-67 to Pro-74, Ser-117 to Glu-123, Pro-161 to Met-185, Gly-224 to His-242, and Thr-299 to Trp-307. Polynucleotides encoding these polypeptides are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind one or more of these polypeptides. Moreover, fragments and variants of these polypeptides (e.g., fragments as described herein, polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to these polypeptides and polypeptides encoded by the polynucleotide which hybridizes, under stringent conditions, to the polynucleotide encoding these polypeptides, or the complement thereof) are encompassed by the invention. Antibodies that bind these fragments and variants of the invention are also encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these fragments and variants are also encompassed by the invention.

[119] In additional nonexclusive embodiments, polypeptides of the invention comprise, or alternatively consist of, one or both of the following amino acid sequences:

[120] The mature region of the B7-H9 protein:
 QWQVFGPDKPVQALVGEDAAFSCFLSPKTNAEAMEVRFPRGQFSSVVHLYRDGKD
 QPFMQMPQYQGRITKLVKDSLAEGRISLRLENITVLDAGLYGCRISQSYQKAIWEL
 QVSA LGSVPLSIAGYVDRDIQLLCSSGWFFRPTAKWKGPQGDLSTDSRTNRDMH
 GLFDVEISLTVQENAGSISCSMRHAFHSREVESRVQIGDWRRKHGQAGKRKYSSSHI

WO 02/02587

PCT/US01/20917

YDSFPLSFMDFYLRPVGPCRAKLVMGTLKQLQILGEVHFVEKPHISLLQISGGSTLTK
KGPWFSPFPCALFPT (SEQ ID NO: 36), and

[121] The leader sequence of the B7-H9 protein: MALMLSLVLSLLKLGSG (SEQ ID NO: 37). Polynucleotides encoding these polypeptides are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind one or more of these polypeptides. Moreover, fragments and variants of these polypeptides (e.g., fragments as described herein, polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to these polypeptides and polypeptides encoded by the polynucleotide which hybridizes, under stringent conditions, to the polynucleotide encoding these polypeptides, or the complement thereof) are encompassed by the invention. Antibodies that bind these fragments and variants of the invention are also encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these fragments and variants are also encompassed by the invention.

[122] Also preferred are polypeptides comprising, or alternatively consisting of, fragments of the B7-H9 protein demonstrating functional activity (SEQ ID NO: 16). Polynucleotides encoding these polypeptides are also encompassed by the invention. By functional activity is meant, a polypeptide fragment capable of displaying one or more known functional activities associated with the full-length (complete) B7-H9 protein. Such functional activities include, but are not limited to, biological activity (e.g., T cell costimulatory activity, ability to bind ICOS, CD28 or CTLA4, and ability to induce or inhibit cytokine production), antigenicity [ability to bind (or compete with a B7-H9 polypeptide for binding) to an anti-B7-H9 antibody], immunogenicity (ability to generate antibody which binds to a B7-H9 polypeptide), ability to form multimers with B7-H9 polypeptides of the invention, and ability to bind to a receptor for a B7-H9 polypeptide.

[123] Figures 5A-C show the nucleotide (SEQ ID NO: 4) and deduced amino acid sequence (SEQ ID NO: 16) corresponding to this gene.

[124] Figure 6 shows an analysis of the amino acid sequence (SEQ ID NO: 16). Alpha, beta, turn and coil regions; hydrophilicity and hydrophobicity; amphipathic regions; flexible regions; antigenic index and surface probability are shown, and all were generated using the default settings of the recited computer algorithms. In the "Antigenic Index or Jameson-Wolf" graph, the positive peaks indicate locations of the highly antigenic regions of the protein, i.e., regions from which epitope-bearing peptides of the invention can be obtained. Polypeptides comprising, or alternatively consisting of, domains defined by these graphs are

WO 02/02587

PCT/US01/20917

contemplated by the present invention, as are polynucleotides encoding these polypeptides. The data presented in Figure 6 are also represented in tabular form in Table 5. The columns are labeled with the headings "Res", "Position", and Roman Numerals I-XIV. The column headings refer to the following features of the amino acid sequence presented in Figure 6, and Table 5: "Res": amino acid residue of SEQ ID NO: 16 and Figures 5A-C; "Position": position of the corresponding residue within SEQ ID NO: 16 and Figures 5A-C; I: Alpha, Regions - Garnier-Robson; II: Alpha, Regions - Chou-Fasman; III: Beta, Regions - Garnier-Robson; IV: Beta, Regions - Chou-Fasman; V: Turn, Regions - Garnier-Robson; VI: Turn, Regions - Chou-Fasman; VII: Coil, Regions - Garnier-Robson; VIII: Hydrophilicity Plot - Kyte-Doolittle; IX: Hydrophobicity Plot - Hopp-Woods; X: Alpha, Amphipathic Regions - Eisenberg; XI: Beta, Amphipathic Regions - Eisenberg; XII: Flexible Regions - Karplus-Schulz; XIII: Antigenic Index - Jameson-Wolf; and XIV: Surface Probability Plot - Emini. Preferred embodiments of the invention in this regard include fragments that comprise, or alternatively consisting of, one or more of the following regions: alpha-helix and alpha-helix forming regions ("alpha-regions"), beta-sheet and beta-sheet forming regions ("beta-regions"), turn and turn-forming regions ("turn-regions"), coil and coil-forming regions ("coil-regions"), hydrophilic regions, hydrophobic regions, alpha amphipathic regions, beta amphipathic regions, flexible regions, surface-forming regions and high antigenic index regions. The data representing the structural or functional attributes of the protein set forth in Figure 6 and/or Table 5, as described above, was generated using the various modules and algorithms of the DNA*STAR set on default parameters. In a preferred embodiment, the data presented in columns VIII, IX, XIII, and XIV of Table 5 can be used to determine regions of the protein which exhibit a high degree of potential for antigenicity. Regions of high antigenicity are determined from the data presented in columns VIII, IX, XIII, and/or XIV by choosing values which represent regions of the polypeptide which are likely to be exposed on the surface of the polypeptide in an environment in which antigen recognition may occur in the process of initiation of an immune response. Certain preferred regions in these regards are set out in Figure 6, but may, as shown in Table 5, be represented or identified by using tabular representations of the data presented in Figure 6. The DNA*STAR computer algorithm used to generate Figure 6 (set on the original default parameters) was used to present the data in Figure 6 in a tabular format (See Table 5). The tabular format of the data

WO 02/02587

PCT/US01/20917

in Figure 6 (See Table 5) is used to easily determine specific boundaries of a preferred region.

[125] The present invention is further directed to fragments of the polynucleotide sequences described herein. By a fragment of, for example, the polynucleotide sequence of a deposited cDNA or the nucleotide sequence shown in SEQ ID NO: 4, is intended polynucleotide fragments at least about 15nt, and more preferably at least about 20 nt, at least about 25nt, still more preferably at least about 30 nt, at least about 35nt, and even more preferably, at least about 40 nt in length, at least about 45nt in length, at least about 50nt in length, at least about 60nt in length, at least about 70nt in length, at least about 80nt in length, at least about 90nt in length, at least about 100nt in length, at least about 125nt in length, at least about 150nt in length, at least about 175nt in length, which are useful as diagnostic probes and primers as discussed herein. Of course, larger fragments 200-1500 nt in length are also useful according to the present invention, as are fragments corresponding to most, if not all, of the nucleotide sequence of a deposited cDNA or as shown in SEQ ID NO: 4. By a fragment at least 20 nt in length, for example, is intended fragments which include 20 or more contiguous bases from the nucleotide sequence of a deposited cDNA or the nucleotide sequence as shown in SEQ ID NO: 4. In this context "about" includes the particularly recited size, an sizes larger or smaller by several (5, 4, 3, 2, or 1) nucleotides, at either terminus or at both termini. Representative examples of polynucleotide fragments of the invention include, for example, fragments that comprise, or alternatively, consist of, a sequence from about nucleotide 1 to about 50, from about 51 to about 100, from about 101 to about 150, from about 151 to about 200, from about 201 to about 250, from about 251 to about 300, from about 301 to about 350, from about 351 to about 400, from about 401 to about 450, from about 451 to about 500, and from about 501 to about 550, and from about 551 to about 600, from about 601 to about 650, from about 651 to about 700, from about 701 to about 750, from about 751 to about 800, and from about 801 to about 860, of SEQ ID NO: 4, or the complementary strand thereto, or the cDNA contained in a deposited clone. In this context "about" includes the particularly recited ranges, and ranges larger or smaller by several (5, 4, 3, 2, or 1) nucleotides, at either terminus or at both termini. In additional embodiments, the polynucleotides of the invention encode functional attributes of the corresponding protein.

[126] Preferred polypeptide fragments of the invention comprise, or alternatively consist of, the secreted protein having a continuous series of deleted residues from the amino or the

WO 02/02587

PCT/US01/20917

carboxy terminus, or both. Particularly, N-terminal deletions of the polypeptide can be described by the general formula m-318 where m is an integer from 2 to 313, where m corresponds to the position of the amino acid residue identified in SEQ ID NO: 16. More in particular, the invention provides polynucleotides encoding polypeptides comprising, or alternatively consisting of, an amino acid sequence selected from the group: A-2 to T-318; L-3 to T-318; M-4 to T-318; L-5 to T-318; S-6 to T-318; L-7 to T-318; V-8 to T-318; L-9 to T-318; S-10 to T-318; L-11 to T-318; L-12 to T-318; K-13 to T-318; L-14 to T-318; G-15 to T-318; S-16 to T-318; G-17 to T-318; Q-18 to T-318; W-19 to T-318; Q-20 to T-318; V-21 to T-318; F-22 to T-318; G-23 to T-318; P-24 to T-318; D-25 to T-318; K-26 to T-318; P-27 to T-318; V-28 to T-318; Q-29 to T-318; A-30 to T-318; L-31 to T-318; V-32 to T-318; G-33 to T-318; E-34 to T-318; D-35 to T-318; A-36 to T-318; A-37 to T-318; F-38 to T-318; S-39 to T-318; C-40 to T-318; F-41 to T-318; L-42 to T-318; S-43 to T-318; P-44 to T-318; K-45 to T-318; T-46 to T-318; N-47 to T-318; A-48 to T-318; E-49 to T-318; A-50 to T-318; M-51 to T-318; E-52 to T-318; V-53 to T-318; R-54 to T-318; F-55 to T-318; F-56 to T-318; R-57 to T-318; G-58 to T-318; Q-59 to T-318; F-60 to T-318; S-61 to T-318; S-62 to T-318; V-63 to T-318; V-64 to T-318; H-65 to T-318; L-66 to T-318; Y-67 to T-318; R-68 to T-318; D-69 to T-318; G-70 to T-318; K-71 to T-318; D-72 to T-318; Q-73 to T-318; P-74 to T-318; F-75 to T-318; M-76 to T-318; Q-77 to T-318; M-78 to T-318; P-79 to T-318; Q-80 to T-318; Y-81 to T-318; Q-82 to T-318; G-83 to T-318; R-84 to T-318; T-85 to T-318; K-86 to T-318; L-87 to T-318; V-88 to T-318; K-89 to T-318; D-90 to T-318; S-91 to T-318; I-92 to T-318; A-93 to T-318; E-94 to T-318; G-95 to T-318; R-96 to T-318; L-97 to T-318; S-98 to T-318; L-99 to T-318; R-100 to T-318; L-101 to T-318; E-102 to T-318; N-103 to T-318; I-104 to T-318; T-105 to T-318; V-106 to T-318; L-107 to T-318; D-108 to T-318; A-109 to T-318; G-110 to T-318; L-111 to T-318; Y-112 to T-318; G-113 to T-318; C-114 to T-318; R-115 to T-318; I-116 to T-318; S-117 to T-318; S-118 to T-318; Q-119 to T-318; S-120 to T-318; Y-121 to T-318; Y-122 to T-318; Q-123 to T-318; K-124 to T-318; A-125 to T-318; I-126 to T-318; W-127 to T-318; E-128 to T-318; L-129 to T-318; Q-130 to T-318; V-131 to T-318; S-132 to T-318; A-133 to T-318; L-134 to T-318; G-135 to T-318; S-136 to T-318; V-137 to T-318; P-138 to T-318; L-139 to T-318; I-140 to T-318; S-141 to T-318; I-142 to T-318; A-143 to T-318; G-144 to T-318; Y-145 to T-318; V-146 to T-318; D-147 to T-318; R-148 to T-318; D-149 to T-318; I-150 to T-318; Q-151 to T-318; L-152 to T-318; L-153 to T-318; C-154 to T-318; Q-155 to T-318; S-156 to T-318; S-157 to T-318; G-158 to T-318; W-159 to T-318; F-

WO 02/02587

PCT/US01/20917

160 to T-318; P-161 to T-318; R-162 to T-318; P-163 to T-318; T-164 to T-318; A-165 to T-318; K-166 to T-318; W-167 to T-318; K-168 to T-318; G-169 to T-318; P-170 to T-318; Q-171 to T-318; G-172 to T-318; Q-173 to T-318; D-174 to T-318; L-175 to T-318; S-176 to T-318; T-177 to T-318; D-178 to T-318; S-179 to T-318; R-180 to T-318; T-181 to T-318; N-182 to T-318; R-183 to T-318; D-184 to T-318; M-185 to T-318; H-186 to T-318; G-187 to T-318; L-188 to T-318; F-189 to T-318; D-190 to T-318; V-191 to T-318; E-192 to T-318; I-193 to T-318; S-194 to T-318; L-195 to T-318; T-196 to T-318; V-197 to T-318; Q-198 to T-318; E-199 to T-318; N-200 to T-318; A-201 to T-318; G-202 to T-318; S-203 to T-318; I-204 to T-318; S-205 to T-318; C-206 to T-318; S-207 to T-318; M-208 to T-318; R-209 to T-318; H-210 to T-318; A-211 to T-318; H-212 to T-318; L-213 to T-318; S-214 to T-318; R-215 to T-318; E-216 to T-318; V-217 to T-318; E-218 to T-318; S-219 to T-318; R-220 to T-318; V-221 to T-318; Q-222 to T-318; I-223 to T-318; G-224 to T-318; D-225 to T-318; W-226 to T-318; R-227 to T-318; K-228 to T-318; K-229 to T-318; H-230 to T-318; G-231 to T-318; Q-232 to T-318; A-233 to T-318; G-234 to T-318; K-235 to T-318; R-236 to T-318; K-237 to T-318; Y-238 to T-318; S-239 to T-318; S-240 to T-318; S-241 to T-318; H-242 to T-318; I-243 to T-318; Y-244 to T-318; D-245 to T-318; S-246 to T-318; F-247 to T-318; P-248 to T-318; S-249 to T-318; L-250 to T-318; S-251 to T-318; F-252 to T-318; M-253 to T-318; D-254 to T-318; F-255 to T-318; Y-256 to T-318; I-257 to T-318; L-258 to T-318; R-259 to T-318; P-260 to T-318; V-261 to T-318; G-262 to T-318; P-263 to T-318; C-264 to T-318; R-265 to T-318; A-266 to T-318; K-267 to T-318; I-268 to T-318; V-269 to T-318; M-270 to T-318; G-271 to T-318; T-272 to T-318; L-273 to T-318; K-274 to T-318; L-275 to T-318; Q-276 to T-318; I-277 to T-318; L-278 to T-318; G-279 to T-318; E-280 to T-318; V-281 to T-318; H-282 to T-318; F-283 to T-318; V-284 to T-318; E-285 to T-318; K-286 to T-318; P-287 to T-318; H-288 to T-318; S-289 to T-318; L-290 to T-318; L-291 to T-318; Q-292 to T-318; I-293 to T-318; S-294 to T-318; G-295 to T-318; G-296 to T-318; S-297 to T-318; T-298 to T-318; T-299 to T-318; L-300 to T-318; K-301 to T-318; K-302 to T-318; G-303 to T-318; P-304 to T-318; N-305 to T-318; P-306 to T-318; W-307 to T-318; S-308 to T-318; F-309 to T-318; P-310 to T-318; S-311 to T-318; P-312 to T-318; and C-313 to T-318 of SEQ ID NO: 16. Polynucleotides encoding these polypeptides are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind one or more of these polypeptides. Moreover, fragments and variants of these polypeptides (e.g., fragments as described herein, polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to these polypeptides and

WO 02/02587

PCT/US01/20917

polypeptides encoded by the polynucleotide which hybridizes, under stringent conditions, to the polynucleotide encoding these polypeptides, or the complement thereof) are encompassed by the invention. Antibodies that bind these fragments and variants of the invention are also encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these fragments and variants are also encompassed by the invention.

[127] Accordingly, the present invention further provides polypeptides having one or more residues deleted from the carboxy terminus of the amino acid sequence of the polypeptide shown in Figures 5A-C (SEQ ID NO: 16), as described by the general formula 1-n, where n is an integer from 7 to 317, where n corresponds to the position of the amino acid residue identified in SEQ ID NO: 16. Additionally, the invention provides polynucleotides encoding polypeptides comprising, or alternatively consisting of, an amino acid sequence selected from the following group of C-terminal deletions: M-1 to P-317; M-1 to F-316; M-1 to L-315; M-1 to A-314; M-1 to C-313; M-1 to P-312; M-1 to S-311; M-1 to P-310; M-1 to F-309; M-1 to S-308; M-1 to W-307; M-1 to P-306; M-1 to N-305; M-1 to P-304; M-1 to G-303; M-1 to K-302; M-1 to K-301; M-1 to L-300; M-1 to T-299; M-1 to T-298; M-1 to S-297; M-1 to G-296; M-1 to G-295; M-1 to S-294; M-1 to I-293; M-1 to Q-292; M-1 to L-291; M-1 to L-290; M-1 to S-289; M-1 to H-288; M-1 to P-287; M-1 to K-286; M-1 to E-285; M-1 to V-284; M-1 to F-283; M-1 to H-282; M-1 to V-281; M-1 to E-280; M-1 to G-279; M-1 to L-278; M-1 to I-277; M-1 to Q-276; M-1 to L-275; M-1 to K-274; M-1 to L-273; M-1 to T-272; M-1 to G-271; M-1 to M-270; M-1 to V-269; M-1 to L-268; M-1 to K-267; M-1 to A-266; M-1 to R-265; M-1 to C-264; M-1 to P-263; M-1 to G-262; M-1 to V-261; M-1 to P-260; M-1 to R-259; M-1 to L-258; M-1 to I-257; M-1 to Y-256; M-1 to F-255; M-1 to D-254; M-1 to M-253; M-1 to F-252; M-1 to S-251; M-1 to L-250; M-1 to S-249; M-1 to P-248; M-1 to F-247; M-1 to S-246; M-1 to D-245; M-1 to Y-244; M-1 to I-243; M-1 to H-242; M-1 to S-241; M-1 to S-240; M-1 to S-239; M-1 to Y-238; M-1 to K-237; M-1 to R-236; M-1 to K-235; M-1 to G-234; M-1 to A-233; M-1 to Q-232; M-1 to G-231; M-1 to H-230; M-1 to K-229; M-1 to R-228; M-1 to R-227; M-1 to W-226; M-1 to D-225; M-1 to G-224; M-1 to I-223; M-1 to Q-222; M-1 to V-221; M-1 to R-220; M-1 to S-219; M-1 to E-218; M-1 to V-217; M-1 to E-216; M-1 to R-215; M-1 to S-214; M-1 to L-213; M-1 to H-212; M-1 to A-211; M-1 to H-210; M-1 to R-209; M-1 to M-208; M-1 to S-207; M-1 to C-206; M-1 to S-205; M-1 to L-204; M-1 to S-203; M-1 to G-202; M-1 to A-201; M-1 to N-200; M-1 to E-199; M-1 to Q-198; M-1 to V-197; M-1 to T-196; M-1 to L-195; M-1 to S-194; M-1 to I-193; M-1

WO 02/02587

PCT/US01/20917

to E-192; M-1 to V-191; M-1 to D-190; M-1 to F-189; M-1 to L-188; M-1 to G-187; M-1 to H-186; M-1 to M-185; M-1 to D-184; M-1 to R-183; M-1 to N-182; M-1 to T-181; M-1 to R-180; M-1 to S-179; M-1 to D-178; M-1 to T-177; M-1 to S-176; M-1 to L-175; M-1 to D-174; M-1 to Q-173; M-1 to G-172; M-1 to Q-171; M-1 to P-170; M-1 to G-169; M-1 to K-168; M-1 to W-167; M-1 to K-166; M-1 to A-165; M-1 to T-164; M-1 to P-163; M-1 to R-162; M-1 to P-161; M-1 to F-160; M-1 to W-159; M-1 to G-158; M-1 to S-157; M-1 to S-156; M-1 to Q-155; M-1 to C-154; M-1 to L-153; M-1 to L-152; M-1 to Q-151; M-1 to L-150; M-1 to D-149; M-1 to R-148; M-1 to D-147; M-1 to V-146; M-1 to Y-145; M-1 to G-144; M-1 to A-143; M-1 to I-142; M-1 to S-141; M-1 to I-140; M-1 to L-139; M-1 to P-138; M-1 to V-137; M-1 to S-136; M-1 to G-135; M-1 to L-134; M-1 to A-133; M-1 to S-132; M-1 to V-131; M-1 to Q-130; M-1 to L-129; M-1 to E-128; M-1 to W-127; M-1 to I-126; M-1 to A-125; M-1 to K-124; M-1 to Q-123; M-1 to Y-122; M-1 to Y-121; M-1 to S-120; M-1 to Q-119; M-1 to S-118; M-1 to S-117; M-1 to I-116; M-1 to R-115; M-1 to C-114; M-1 to G-113; M-1 to Y-112; M-1 to L-111; M-1 to G-110; M-1 to A-109; M-1 to D-108; M-1 to L-107; M-1 to V-106; M-1 to T-105; M-1 to I-104; M-1 to N-103; M-1 to E-102; M-1 to L-101; M-1 to R-100; M-1 to L-99; M-1 to S-98; M-1 to I-97; M-1 to R-96; M-1 to G-95; M-1 to E-94; M-1 to A-93; M-1 to I-92; M-1 to S-91; M-1 to D-90; M-1 to K-89; M-1 to V-88; M-1 to L-87; M-1 to K-86; M-1 to T-85; M-1 to R-84; M-1 to G-83; M-1 to Q-82; M-1 to Y-81; M-1 to Q-80; M-1 to P-79; M-1 to M-78; M-1 to Q-77; M-1 to M-76; M-1 to F-75; M-1 to P-74; M-1 to Q-73; M-1 to D-72; M-1 to K-71; M-1 to G-70; M-1 to D-69; M-1 to R-68; M-1 to Y-67; M-1 to L-66; M-1 to H-65; M-1 to V-64; M-1 to V-63; M-1 to S-62; M-1 to S-61; M-1 to F-60; M-1 to Q-59; M-1 to G-58; M-1 to R-57; M-1 to F-56; M-1 to F-55; M-1 to R-54; M-1 to V-53; M-1 to E-52; M-1 to M-51; M-1 to A-50; M-1 to E-49; M-1 to A-48; M-1 to N-47; M-1 to T-46; M-1 to K-45; M-1 to P-44; M-1 to S-43; M-1 to L-42; M-1 to F-41; M-1 to C-40; M-1 to S-39; M-1 to F-38; M-1 to A-37; M-1 to A-36; M-1 to D-35; M-1 to E-34; M-1 to G-33; M-1 to V-32; M-1 to L-31; M-1 to A-30; M-1 to Q-29; M-1 to V-28; M-1 to P-27; M-1 to K-26; M-1 to D-25; M-1 to P-24; M-1 to G-23; M-1 to F-22; M-1 to V-21; M-1 to Q-20; M-1 to W-19; M-1 to Q-18; M-1 to G-17; M-1 to S-16; M-1 to G-15; M-1 to L-14; M-1 to K-13; M-1 to L-12; M-1 to L-11; M-1 to S-10; M-1 to L-9; M-1 to V-8; and M-1 to L-7 of SEQ ID NO: 16. Polynucleotides encoding these polypeptides are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind one or more of these polypeptides. Moreover, fragments and variants of these polypeptides (e.g., fragments as described herein, polypeptides at least 80%,

WO 02/02587

PCT/US01/20917

85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to these polypeptides and polypeptides encoded by the polynucleotide which hybridizes, under stringent conditions, to the polynucleotide encoding these polypeptides, or the complement thereof) are encompassed by the invention. Antibodies that bind these fragments and variants of the invention are also encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these fragments and variants are also encompassed by the invention.

[128] Also as mentioned above, even if deletion of one or more amino acids from the C-terminus of a protein results in modification of loss of one or more biological functions of the protein (e.g., ability to inhibit the Mixed Lymphocyte Reaction), other functional activities (e.g., biological activities, ability to multimerize, ability to bind receptor, ability to generate antibodies, ability to bind antibodies) may still be retained. For example, the ability of the shortened polypeptide to induce and/or bind to antibodies which recognize the complete or mature forms of the polypeptide generally will be retained when less than the majority of the residues of the complete or mature polypeptide are removed from the C-terminus. Whether a particular polypeptide lacking C-terminal residues of a complete polypeptide retains such immunologic activities can readily be determined by routine methods described herein and otherwise known in the art. It is not unlikely that a polypeptide with a large number of deleted C-terminal amino acid residues may retain some biological or immunogenic activities. In fact, peptides composed of as few as six amino acid residues may often evoke an immune response.

[129] More in particular, the invention provides polynucleotides encoding polypeptides comprising, or alternatively consisting of, an amino acid sequence selected from the group of N-terminal deletions of the mature portion of the B7-H9 protein (SEQ ID NO: 36): W-19 to T-318; Q-20 to T-318; V-21 to T-318; F-22 to T-318; G-23 to T-318; P-24 to T-318; D-25 to T-318; K-26 to T-318; P-27 to T-318; V-28 to T-318; Q-29 to T-318; A-30 to T-318; L-31 to T-318; V-32 to T-318; G-33 to T-318; E-34 to T-318; D-35 to T-318; A-36 to T-318; A-37 to T-318; F-38 to T-318; S-39 to T-318; C-40 to T-318; F-41 to T-318; L-42 to T-318; S-43 to T-318; P-44 to T-318; K-45 to T-318; T-46 to T-318; N-47 to T-318; A-48 to T-318; E-49 to T-318; A-50 to T-318; M-51 to T-318; E-52 to T-318; V-53 to T-318; R-54 to T-318; F-55 to T-318; F-56 to T-318; R-57 to T-318; G-58 to T-318; Q-59 to T-318; F-60 to T-318; S-61 to T-318; S-62 to T-318; V-63 to T-318; V-64 to T-318; H-65 to T-318; L-66 to T-318; Y-67 to T-318; R-68 to T-318; D-69 to T-318; G-70 to T-318; K-71 to T-318; D-72 to T-318; Q-73 to

WO 02/02587

PCT/US01/20917

T-318; P-74 to T-318; F-75 to T-318; M-76 to T-318; Q-77 to T-318; M-78 to T-318; P-79 to T-318; Q-80 to T-318; Y-81 to T-318; Q-82 to T-318; G-83 to T-318; R-84 to T-318; T-85 to T-318; K-86 to T-318; L-87 to T-318; V-88 to T-318; K-89 to T-318; D-90 to T-318; S-91 to T-318; I-92 to T-318; A-93 to T-318; E-94 to T-318; G-95 to T-318; R-96 to T-318; I-97 to T-318; S-98 to T-318; L-99 to T-318; R-100 to T-318; L-101 to T-318; E-102 to T-318; N-103 to T-318; I-104 to T-318; T-105 to T-318; V-106 to T-318; L-107 to T-318; D-108 to T-318; A-109 to T-318; G-110 to T-318; L-111 to T-318; Y-112 to T-318; G-113 to T-318; C-114 to T-318; R-115 to T-318; I-116 to T-318; S-117 to T-318; S-118 to T-318; Q-119 to T-318; S-120 to T-318; Y-121 to T-318; Y-122 to T-318; Q-123 to T-318; K-124 to T-318; A-125 to T-318; I-126 to T-318; W-127 to T-318; E-128 to T-318; L-129 to T-318; Q-130 to T-318; V-131 to T-318; S-132 to T-318; A-133 to T-318; L-134 to T-318; G-135 to T-318; S-136 to T-318; V-137 to T-318; P-138 to T-318; L-139 to T-318; L-140 to T-318; S-141 to T-318; I-142 to T-318; A-143 to T-318; G-144 to T-318; Y-145 to T-318; V-146 to T-318; D-147 to T-318; R-148 to T-318; D-149 to T-318; I-150 to T-318; Q-151 to T-318; L-152 to T-318; L-153 to T-318; C-154 to T-318; Q-155 to T-318; S-156 to T-318; S-157 to T-318; G-158 to T-318; W-159 to T-318; F-160 to T-318; P-161 to T-318; R-162 to T-318; P-163 to T-318; T-164 to T-318; A-165 to T-318; K-166 to T-318; W-167 to T-318; K-168 to T-318; G-169 to T-318; P-170 to T-318; Q-171 to T-318; G-172 to T-318; Q-173 to T-318; D-174 to T-318; L-175 to T-318; S-176 to T-318; T-177 to T-318; D-178 to T-318; S-179 to T-318; R-180 to T-318; T-181 to T-318; N-182 to T-318; R-183 to T-318; D-184 to T-318; M-185 to T-318; H-186 to T-318; G-187 to T-318; L-188 to T-318; F-189 to T-318; D-190 to T-318; V-191 to T-318; E-192 to T-318; I-193 to T-318; S-194 to T-318; L-195 to T-318; T-196 to T-318; V-197 to T-318; Q-198 to T-318; E-199 to T-318; N-200 to T-318; A-201 to T-318; G-202 to T-318; S-203 to T-318; I-204 to T-318; S-205 to T-318; C-206 to T-318; S-207 to T-318; M-208 to T-318; R-209 to T-318; H-210 to T-318; A-211 to T-318; H-212 to T-318; L-213 to T-318; S-214 to T-318; R-215 to T-318; E-216 to T-318; V-217 to T-318; E-218 to T-318; S-219 to T-318; R-220 to T-318; V-221 to T-318; Q-222 to T-318; I-223 to T-318; G-224 to T-318; D-225 to T-318; W-226 to T-318; R-227 to T-318; R-228 to T-318; K-229 to T-318; H-230 to T-318; G-231 to T-318; Q-232 to T-318; A-233 to T-318; G-234 to T-318; K-235 to T-318; R-236 to T-318; K-237 to T-318; V-238 to T-318; S-239 to T-318; S-240 to T-318; S-241 to T-318; H-242 to T-318; I-243 to T-318; Y-244 to T-318; D-245 to T-318; S-246 to T-318; F-247 to T-318; P-248 to T-318; S-249 to T-318; L-250 to T-318; S-251 to T-

WO 02/02587

PCT/US01/20917

318; F-252 to T-318; M-253 to T-318; D-254 to T-318; F-255 to T-318; Y-256 to T-318; I-257 to T-318; L-258 to T-318; R-259 to T-318; P-260 to T-318; V-261 to T-318; G-262 to T-318; P-263 to T-318; C-264 to T-318; R-265 to T-318; A-266 to T-318; K-267 to T-318; L-268 to T-318; V-269 to T-318; M-270 to T-318; G-271 to T-318; T-272 to T-318; L-273 to T-318; K-274 to T-318; L-275 to T-318; Q-276 to T-318; I-277 to T-318; L-278 to T-318; G-279 to T-318; E-280 to T-318; V-281 to T-318; H-282 to T-318; F-283 to T-318; V-284 to T-318; E-285 to T-318; K-286 to T-318; P-287 to T-318; H-288 to T-318; S-289 to T-318; L-290 to T-318; L-291 to T-318; Q-292 to T-318; I-293 to T-318; S-294 to T-318; G-295 to T-318; G-296 to T-318; S-297 to T-318; T-298 to T-318; T-299 to T-318; L-300 to T-318; K-301 to T-318; K-302 to T-318; G-303 to T-318; P-304 to T-318; N-305 to T-318; P-306 to T-318; W-307 to T-318; S-308 to T-318; F-309 to T-318; P-310 to T-318; S-311 to T-318; P-312 to T-318; and/or C-313 to T-318 of SEQ ID NO: 16. Polynucleotides encoding these polypeptides are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind one or more of these polypeptides. Moreover, fragments and variants of these polypeptides (e.g., fragments as described herein, polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to these polypeptides and polypeptides encoded by the polynucleotide which hybridizes, under stringent conditions, to the polynucleotide encoding these polypeptides, or the complement thereof) are encompassed by the invention. Antibodies that bind these fragments and variants of the invention are also encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these fragments and variants are also encompassed by the invention.

[130] Additionally, the invention provides polynucleotides encoding polypeptides comprising, or alternatively consisting of, an amino acid sequence selected from the group of C-terminal deletions of the mature portion of the B7-H9 protein (SEQ ID NO: 36): Q-18 to P-317; Q-18 to F-316; Q-18 to L-315; Q-18 to A-314; Q-18 to C-313; Q-18 to P-312; Q-18 to S-311; Q-18 to P-310; Q-18 to F-309; Q-18 to S-308; Q-18 to W-307; Q-18 to P-306; Q-18 to N-305; Q-18 to P-304; Q-18 to G-303; Q-18 to K-302; Q-18 to K-301; Q-18 to L-300; Q-18 to T-299; Q-18 to T-298; Q-18 to S-297; Q-18 to G-296; Q-18 to G-295; Q-18 to S-294; Q-18 to I-293; Q-18 to Q-292; Q-18 to L-291; Q-18 to L-290; Q-18 to S-289; Q-18 to H-288; Q-18 to P-287; Q-18 to K-286; Q-18 to E-285; Q-18 to V-284; Q-18 to F-283; Q-18 to H-282; Q-18 to V-281; Q-18 to E-280; Q-18 to G-279; Q-18 to L-278; Q-18 to I-277; Q-18 to Q-276; Q-18 to L-275; Q-18 to K-274; Q-18 to L-273; Q-18 to T-272; Q-18 to G-271; Q-18

WO 02/02587

PCT/US01/20917

to M-270; Q-18 to V-269; Q-18 to L-268; Q-18 to K-267; Q-18 to A-266; Q-18 to R-265; Q-18 to C-264; Q-18 to P-263; Q-18 to G-262; Q-18 to V-261; Q-18 to P-260; Q-18 to R-259; Q-18 to L-258; Q-18 to I-257; Q-18 to Y-256; Q-18 to F-255; Q-18 to D-254; Q-18 to M-253; Q-18 to F-252; Q-18 to S-251; Q-18 to L-250; Q-18 to S-249; Q-18 to P-248; Q-18 to F-247; Q-18 to S-246; Q-18 to D-245; Q-18 to Y-244; Q-18 to I-243; Q-18 to H-242; Q-18 to S-241; Q-18 to S-240; Q-18 to S-239; Q-18 to Y-238; Q-18 to K-237; Q-18 to R-236; Q-18 to K-235; Q-18 to G-234; Q-18 to A-233; Q-18 to Q-232; Q-18 to G-231; Q-18 to H-230; Q-18 to K-229; Q-18 to R-228; Q-18 to R-227; Q-18 to W-226; Q-18 to D-225; Q-18 to G-224; Q-18 to I-223; Q-18 to Q-222; Q-18 to V-221; Q-18 to R-220; Q-18 to S-219; Q-18 to E-218; Q-18 to V-217; Q-18 to E-216; Q-18 to R-215; Q-18 to S-214; Q-18 to L-213; Q-18 to H-212; Q-18 to A-211; Q-18 to H-210; Q-18 to R-209; Q-18 to M-208; Q-18 to S-207; Q-18 to C-206; Q-18 to S-205; Q-18 to I-204; Q-18 to S-203; Q-18 to G-202; Q-18 to A-201; Q-18 to N-200; Q-18 to E-199; Q-18 to Q-198; Q-18 to V-197; Q-18 to T-196; Q-18 to L-195; Q-18 to S-194; Q-18 to I-193; Q-18 to E-192; Q-18 to V-191; Q-18 to D-190; Q-18 to F-189; Q-18 to L-188; Q-18 to G-187; Q-18 to H-186; Q-18 to M-185; Q-18 to D-184; Q-18 to R-183; Q-18 to N-182; Q-18 to T-181; Q-18 to R-180; Q-18 to S-179; Q-18 to D-178; Q-18 to T-177; Q-18 to S-176; Q-18 to L-175; Q-18 to D-174; Q-18 to Q-173; Q-18 to G-172; Q-18 to Q-171; Q-18 to P-170; Q-18 to G-169; Q-18 to K-168; Q-18 to W-167; Q-18 to K-166; Q-18 to A-165; Q-18 to T-164; Q-18 to P-163; Q-18 to R-162; Q-18 to P-161; Q-18 to L-160; Q-18 to W-159; Q-18 to G-158; Q-18 to S-157; Q-18 to S-156; Q-18 to Q-155; Q-18 to C-154; Q-18 to L-153; Q-18 to L-152; Q-18 to Q-151; Q-18 to I-150; Q-18 to D-149; Q-18 to R-148; Q-18 to D-147; Q-18 to V-146; Q-18 to Y-145; Q-18 to G-144; Q-18 to A-143; Q-18 to I-142; Q-18 to S-141; Q-18 to I-140; Q-18 to L-139; Q-18 to P-138; Q-18 to V-137; Q-18 to S-136; Q-18 to G-135; Q-18 to L-134; Q-18 to A-133; Q-18 to S-132; Q-18 to V-131; Q-18 to Q-130; Q-18 to L-129; Q-18 to E-128; Q-18 to W-127; Q-18 to I-126; Q-18 to A-125; Q-18 to K-124; Q-18 to Q-123; Q-18 to Y-122; Q-18 to Y-121; Q-18 to S-120; Q-18 to Q-119; Q-18 to S-118; Q-18 to S-117; Q-18 to I-116; Q-18 to R-115; Q-18 to C-114; Q-18 to G-113; Q-18 to Y-112; Q-18 to L-111; Q-18 to G-110; Q-18 to A-109; Q-18 to D-108; Q-18 to L-107; Q-18 to V-106; Q-18 to T-105; Q-18 to I-104; Q-18 to N-103; Q-18 to E-102; Q-18 to L-101; Q-18 to R-100; Q-18 to L-99; Q-18 to S-98; Q-18 to I-97; Q-18 to R-96; Q-18 to G-95; Q-18 to E-94; Q-18 to A-93; Q-18 to I-92; Q-18 to S-91; Q-18 to D-90; Q-18 to K-89; Q-18 to V-88; Q-18 to L-87; Q-18 to K-86; Q-18 to T-85; Q-18 to R-84; Q-18 to G-83; Q-18 to Q-82; Q-18 to

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Y-81; Q-18 to Q-80; Q-18 to P-79; Q-18 to M-78; Q-18 to Q-77; Q-18 to M-76; Q-18 to F-75; Q-18 to P-74; Q-18 to Q-73; Q-18 to D-72; Q-18 to K-71; Q-18 to G-70; Q-18 to D-69; Q-18 to R-68; Q-18 to Y-67; Q-18 to L-66; Q-18 to H-65; Q-18 to V-64; Q-18 to V-63; Q-18 to S-62; Q-18 to S-61; Q-18 to F-60; Q-18 to Q-59; Q-18 to G-58; Q-18 to R-57; Q-18 to F-56; Q-18 to F-55; Q-18 to R-54; Q-18 to V-53; Q-18 to E-52; Q-18 to M-51; Q-18 to A-50; Q-18 to E-49; Q-18 to A-48; Q-18 to N-47; Q-18 to T-46; Q-18 to K-45; Q-18 to P-44; Q-18 to S-43; Q-18 to L-42; Q-18 to F-41; Q-18 to C-40; Q-18 to S-39; Q-18 to F-38; Q-18 to A-37; Q-18 to A-36; Q-18 to D-35; Q-18 to E-34; Q-18 to G-33; Q-18 to V-32; Q-18 to L-31; Q-18 to A-30; Q-18 to Q-29; Q-18 to V-28; Q-18 to P-27; Q-18 to K-26; Q-18 to D-25; and/or Q-18 to P-24 of SEQ ID NO: 16. Polynucleotides encoding these polypeptides are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind one or more of these polypeptides. Moreover, fragments and variants of these polypeptides (e.g., fragments as described herein, polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to these polypeptides and polypeptides encoded by the polynucleotide which hybridizes, under stringent conditions, to the polynucleotide encoding these polypeptides, or the complement thereof) are encompassed by the invention. Antibodies that bind these fragments and variants of the invention are also encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these fragments and variants are also encompassed by the invention.

[131] In addition, any of the above listed N- or C-terminal deletions can be combined to produce a N- and C-terminal deleted polypeptide. The invention also provides polypeptides comprising, or alternatively consisting of, one or more amino acids deleted from both the amino and the carboxyl termini, which may be described generally as having residues m-n of SEQ ID NO: 16, where n and m are integers as described above. Polynucleotides encoding these polypeptides are also encompassed by the invention.

[132] The present invention is also directed to proteins containing polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% or 99% identical to a polypeptide sequence set forth herein as m-n. In preferred embodiments, the application is directed to proteins containing polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% or 99% identical to polypeptides having the amino acid sequence of the specific N- and C-terminal deletions recited herein. Polynucleotides encoding these polypeptides are also encompassed by the invention.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[133] Also included are polynucleotide sequences encoding a polypeptide consisting of a portion of the complete amino acid sequence encoded by a cDNA clone contained in ATCC Deposit No. PTA-2332, where this portion excludes any integer of amino acid residues from 1 to about 312 amino acids from the amino terminus of the complete amino acid sequence encoded by a cDNA clone contained in ATCC Deposit No. PTA-2332, or any integer of amino acid residues from 1 to about 312 amino acids from the carboxy terminus, or any combination of the above amino terminal and carboxy terminal deletions, of the complete amino acid sequence encoded by the cDNA clone contained in ATCC Deposit No. PTA-2332. Polypeptides encoded by these polynucleotides also are encompassed by the invention.

[134] As described herein or otherwise known in the art, the polynucleotides of the invention have uses that include, but are not limited to, serving as probes or primers in chromosome identification, chromosome mapping, and linkage analysis.

[135] It has been discovered that this gene is expressed in small intestine, colon, and colon tumor tissues.

[136] Polynucleotides and polypeptides of the invention are useful as reagents for differential identification of gastrointestinal system tissue(s) or cell type(s) present in a biological sample and for diagnosis of diseases and conditions which include, but are not limited to, diseases and/or disorders involving immune system activation, stimulation and/or surveillance, particularly involving T cells and/or neutrophils, as well as diseases and/or disorders of the gastrointestinal system. Similarly, polypeptides and antibodies directed to these polypeptides are useful in providing immunological probes for differential identification of the tissue(s) or cell type(s). Particularly contemplated are the use of antibodies directed against the extracellular portion of this protein which act as antagonists for the activity of the B7-H9 protein. Such antagonistic antibodies would be useful for the prevention and/or inhibition of such biological activities as are disclosed herein (e.g. T cell modulated activities).

[137] For a number of disorders of the above tissues or cells, particularly of the gastrointestinal and immune systems, expression of this gene at significantly higher or lower levels may be routinely detected in certain tissues or cell types (e.g., immune, gastrointestinal, cancerous and wounded tissues) or bodily fluids (e.g., lymph, serum, plasma, urine, synovial fluid and spinal fluid) or another tissue or cell sample taken from an

WO 02/02587

PCT/US01/20917

individual having such a disorder, relative to the standard gene expression level, i.e., the expression level in healthy tissue or bodily fluid from an individual not having the disorder.

[138] The homology to members of the B7 family of ligands indicates that the polynucleotides and polypeptides corresponding to this gene are useful for the diagnosis, detection and/or treatment of diseases and/or disorders involving immune system activation, stimulation and/or surveillance, particularly as relating to T cells and/or neutrophils. In particular, the translation product of the B7-H9 gene may be involved in the costimulation of T cells, binding to ICOS, and/or may play a role in modulation of the expression of particular cytokines, for example.

[139] Expression within small intestine and colon tissues suggests that polynucleotides, translation products and antibodies corresponding to this gene are useful for the diagnosis and/or treatment of disorders involving the small intestine. This may include diseases associated with digestion and food absorption, as well as hematopoietic disorders involving the Peyer's patches of the small intestine, or other hematopoietic cells and tissues within the body. Similarly, expression of this gene product in colon and colon cancer tissues suggests again involvement in digestion, processing, and elimination of food, as well as a potential role for this gene as a diagnostic marker or causative agent in the development of colon cancer, and cancer in general. Additionally, translation products corresponding to this gene, as well as antibodies directed against these translation products, may show utility as a tumor marker and/or immunotherapy targets for the above listed tissues.

FEATURES OF PROTEIN ENCODED BY GENE NO: 4

[140] For purposes of this application, this gene and its corresponding translation product are known as the B7-H11 gene and B7-H11 protein. This protein is believed to reside as a cell-surface molecule, and the transmembrane domain of this protein is believed to approximately embody the following preferred amino acid residues: YASFWMVSMTVILAVFIIIFMAVSICC (SEQ ID NO: 38). Polynucleotides encoding these polypeptides are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind one or more of these polypeptides. Moreover, fragments and variants of these polypeptides (e.g., fragments as described herein, polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to these polypeptides and polypeptides encoded by the polynucleotide which hybridizes, under stringent conditions, to the polynucleotide encoding these polypeptides, or

WO 02/02587

PCT/US01/20917

the complement thereof) are encompassed by the invention. Antibodies that bind these fragments and variants of the invention are also encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these fragments and variants are also encompassed by the invention. As one skilled in the art would understand, the transmembrane domain was predicted using computer analysis, and the transmembrane domain may vary by one, two, three, four, five, six, seven, eight, nine, and/or ten amino acids from the N and C-termini of the predicted transmembrane domain. The B7-H1 gene shares sequence homology with members of the B7 family of ligands (i.e., B7-H1 (See Genbank Accession AAF25807)). These proteins and their corresponding receptors play vital roles in the growth, differentiation, activation, proliferation and death of T cells. For example, some members of this family (i.e., B7-H1) are involved in costimulation of the T cell response, as well as inducing increased cytokine production, while other family members are involved in the negative regulation of the T cell response. Therefore, agonists and antagonists such as antibodies or small molecules directed against the B7-H1 gene are useful for treating T cell mediated immune system disorders, as well as disorders of other immune system cells, such as for example, neutrophils, macrophage, and leukocytes.

[141] Preferred polypeptides of the present invention comprise, or alternatively consist of, one, two, three, four, five, six, seven, eight, nine, ten, eleven, or all eleven of the immunogenic epitopes of the B7-H1 protein shown in SEQ ID NO: 17 as residues: Ser-53 to Glu-59, Lys-78 to Gly-93, Ala-116 to Tyr-122, Gln-127 to Asp-133, Lys-153 to Ser-159, Lys-283 to Lys-289, Ser-292 to Glu-303, Glu-339 to Ser-362, Ala-373 to Asn-381, Glu-384 to Arg-392, and Asn-394 to His-419. Polynucleotides encoding these polypeptides are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind one or more of these polypeptides. Moreover, fragments and variants of these polypeptides (e.g., fragments as described herein, polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to these polypeptides and polypeptides encoded by the polynucleotide which hybridizes, under stringent conditions, to the polynucleotide encoding these polypeptides, or the complement thereof) are encompassed by the invention. Antibodies that bind these fragments and variants of the invention are also encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these fragments and variants are also encompassed by the invention.

[142] In additional nonexclusive embodiments, polypeptides of the invention comprise, or alternatively consist of, an amino acid sequence selected from the group consisting of:

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[143] The extracellular domain of the B7-H1 protein: MEPAALHFSRPASLLLLSLCALVSAQFTVVGPANFILAMVGENITLRCCHLSPEKN AEDMEVRWFRSQFSPAVFVYKGGRRERTEEQMEEYRGRITFVSKDINRGSVALVIHNV TAQENGIYRCYFQEGRSYDEAILRLVVAGLGSKPLIEIKAQEDGSIWLECISGGWYPE PLTVWRDPYGEVVPALKEVSIADADGLEMVTTAVIIRDKYVRNVSCSVNNTLLGQE KETVIFIPESFMPASPMVALAVIL (SEQ ID NO: 39).

[144] The mature extracellular domain of the B7-H1 protein: QFTVVGPNFILAMVGENITLRCCHLSPEKNAEDMEVRWFRSQFSPAVFVYKGGRRER TEEQMEFYRGRITFVSKDINRGSVALVIHNVTAQENGIYRCYFQEGRSYDEAILRLVV AGLGSKPLIEIKAQEDGSIWLECISGGWYPEPLTVWRDPYGEVVPALKEVSIADADGL FMTVTTAVIIRDKYVRNVSCSVNNTLLGQEKETVIFIPESFMPASPMVALAVIL (SEQ ID NO: 40), and/or

[145] The leader sequence of the B7-H1 protein: MEPAALHFSRPASLLLLSLCALVSA (SEQ ID NO: 41). Polynucleotides encoding these polypeptides are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind one or more of these polypeptides. Moreover, fragments and variants of these polypeptides (e.g., fragments as described herein, polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to these polypeptides and polypeptides encoded by the polynucleotide which hybridizes, under stringent conditions, to the polynucleotide encoding these polypeptides, or the complement thereof) are encompassed by the invention. Antibodies that bind these fragments and variants of the invention are also encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these fragments and variants are also encompassed by the invention.

[146] Also preferred are polypeptides comprising, or alternatively consisting of, fragments of the mature extracellular portion of the B7-H1 protein demonstrating functional activity (SEQ ID NO: 40). Polynucleotides encoding these polypeptides are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind one or more of these polypeptides. Moreover, fragments and variants of these polypeptides (e.g., fragments as described herein, polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to these polypeptides and polypeptides encoded by the polynucleotide which hybridizes, under stringent conditions, to the polynucleotide encoding these polypeptides, or the complement thereof) are encompassed by the invention. Antibodies that bind these fragments and variants

WO 02/02587

PCT/US01/20917

of the invention are also encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these fragments and variants are also encompassed by the invention.

[147] By functional activity is meant, a polypeptide fragment capable of displaying one or more known functional activities associated with the full-length (complete) B7-H11 protein. Such functional activities include, but are not limited to, biological activity (e.g., T cell costimulatory activity, ability to bind ICOS, CD28 or CTLA4, and ability to induce or inhibit cytokine production), antigenicity [ability to bind (or compete with a B7-H11 polypeptide for binding) to an anti-B7-H11 antibody], immunogenicity (ability to generate antibody which binds to a B7-H11 polypeptide), ability to form multimers with B7-H11 polypeptides of the invention, and ability to bind to a receptor for a B7-H11 polypeptide.

[148] Figures 7A-D show the nucleotide (SEQ ID NO: 5) and deduced amino acid sequence (SEQ ID NO: 17) corresponding to this gene. Figure 8 shows an analysis of the amino acid sequence (SEQ ID NO: 17). Alpha, beta, turn and coil regions; hydrophilicity and hydrophobicity; amphipathic regions; flexible regions; antigenic index and surface probability are shown, and all were generated using the default settings of the recited computer algorithms. In the "Antigenic Index or Jameson-Wolf" graph, the positive peaks indicate locations of the highly antigenic regions of the protein, i.e., regions from which epitope-bearing peptides of the invention can be obtained. Polypeptides comprising, or alternatively consisting of, domains defined by these graphs are contemplated by the present invention, as are polynucleotides encoding these polypeptides. The data presented in Figure 8 are also represented in tabular form in Table 6. The columns are labeled with the headings "Res", "Position", and Roman Numerals I-XIV. The column headings refer to the following features of the amino acid sequence presented in Figure 8, and Table 6: "Res": amino acid residue of SEQ ID NO: 17 and Figures 7A-C; "Position": position of the corresponding residue within SEQ ID NO: 17 and Figures 7A-C; I: Alpha, Regions - Garnier-Robson; II: Alpha, Regions - Chou-Fasman; III: Beta, Regions - Garnier-Robson; IV: Beta, Regions - Chou-Fasman; V: Turn, Regions - Garnier-Robson; VI: Turn, Regions - Chou-Fasman; VII: Coil, Regions - Garnier-Robson; VIII: Hydrophilicity Plot - Kyte-Doolittle; IX: Hydrophobicity Plot - Hopp-Woods; X: Alpha, Amphipathic Regions - Eisenberg; XI: Beta, Amphipathic Regions - Eisenberg; XII: Flexible Regions - Karplus-Schulz; XIII: Antigenic Index - Jameson-Wolf; and XIV: Surface Probability Plot - Emini. Preferred embodiments of the invention in this regard include fragments that comprise, or alternatively consisting of,

WO 02/02587

PCT/US01/20917

one or more of the following regions: alpha-helix and alpha-helix forming regions ("alpha-regions"), beta-sheet and beta-sheet forming regions ("beta-regions"), turn and turn-forming regions ("turn-regions"), coil and coil-forming regions ("coil-regions"), hydrophilic regions, hydrophobic regions, alpha amphipathic regions, beta amphipathic regions, flexible regions, surface-forming regions and high antigenic index regions. The data representing the structural or functional attributes of the protein set forth in Figure 8 and/or Table 6, as described above, was generated using the various modules and algorithms of the DNA*STAR set on default parameters. In a preferred embodiment, the data presented in columns VIII, IX, XIII, and XIV of Table 6 can be used to determine regions of the protein which exhibit a high degree of potential for antigenicity. Regions of high antigenicity are determined from the data presented in columns VIII, IX, XIII, and/or XIV by choosing values which represent regions of the polypeptide which are likely to be exposed on the surface of the polypeptide in an environment in which antigen recognition may occur in the process of initiation of an immune response. Certain preferred regions in these regards are set out in Figure 8, but may, as shown in Table 6, be represented or identified by using tabular representations of the data presented in Figure 8. The DNA*STAR computer algorithm used to generate Figure 8 (set on the original default parameters) was used to present the data in Figure 8 in a tabular format (See Table 6). The tabular format of the data in Figure 8 (See Table 6) is used to easily determine specific boundaries of a preferred region.

[149] The present invention is further directed to fragments of the polynucleotide sequences described herein. By a fragment of, for example, the polynucleotide sequence of a deposited cDNA or the nucleotide sequence shown in SEQ ID NO: 5, is intended polynucleotide fragments at least about 15nt, and more preferably at least about 20 nt, at least about 25nt, still more preferably at least about 30 nt, at least about 35nt, and even more preferably, at least about 40 nt in length, at least about 45nt in length, at least about 50nt in length, at least about 60nt in length, at least about 70nt in length, at least about 80nt in length, at least about 90nt in length, at least about 100nt in length, at least about 125nt in length, at least about 150nt in length, at least about 175nt in length, which are useful as diagnostic probes and primers as discussed herein. Of course, larger fragments 200-1500 nt in length are also useful according to the present invention, as are fragments corresponding to most, if not all, of the nucleotide sequence of a deposited cDNA or as shown in SEQ ID NO: 5. By a fragment at least 20 nt in length, for example, is intended fragments which include 20 or

WO 02/02587

PCT/US01/20917

more contiguous bases from the nucleotide sequence of a deposited cDNA or the nucleotide sequence as shown in SEQ ID NO: 5. In this context "about" includes the particularly recited size, an sizes larger or smaller by several (5, 4, 3, 2, or 1) nucleotides, at either terminus or at both termini. Representative examples of polynucleotide fragments of the invention include, for example, fragments that comprise, or alternatively, consist of, a sequence from about nucleotide 1 to about 50, from about 51 to about 100, from about 101 to about 150, from about 151 to about 200, from about 201 to about 250, from about 251 to about 300, from about 301 to about 350, from about 351 to about 400, from about 401 to about 450, from about 451 to about 500, and from about 501 to about 550, and from about 551 to about 600, from about 601 to about 650, from about 651 to about 700, from about 701 to about 750, from about 751 to about 800, and from about 801 to about 860, of SEQ ID NO: 5, or the complementary strand thereto, or the cDNA contained in a deposited clone. In this context "about" includes the particularly recited ranges, and ranges larger or smaller by several (5, 4, 3, 2, or 1) nucleotides, at either terminus or at both termini. In additional embodiments, the polynucleotides of the invention encode functional attributes of the corresponding protein.

[150] Preferred polypeptide fragments of the invention comprise, or alternatively consist of, the secreted protein having a continuous series of deleted residues from the amino or the carboxy terminus, or both. Particularly, N-terminal deletions of the polypeptide can be described by the general formula m-454 where m is an integer from 2 to 449, where m corresponds to the position of the amino acid residue identified in SEQ ID NO: 17. More in particular, the invention provides polynucleotides encoding polypeptides comprising, or alternatively consisting of, an amino acid sequence selected from the group: E-2 to L-454; P-3 to L-454; A-4 to L-454; A-5 to L-454; A-6 to L-454; L-7 to L-454; H-8 to L-454; F-9 to L-454; S-10 to L-454; R-11 to L-454; P-12 to L-454; A-13 to L-454; S-14 to L-454; L-15 to L-454; L-16 to L-454; L-17 to L-454; L-18 to L-454; L-19 to L-454; S-20 to L-454; L-21 to L-454; C-22 to L-454; A-23 to L-454; L-24 to L-454; V-25 to L-454; S-26 to L-454; A-27 to L-454; Q-28 to L-454; F-29 to L-454; T-30 to L-454; V-31 to L-454; V-32 to L-454; G-33 to L-454; P-34 to L-454; A-35 to L-454; N-36 to L-454; P-37 to L-454; I-38 to L-454; L-39 to L-454; A-40 to L-454; M-41 to L-454; V-42 to L-454; G-43 to L-454; E-44 to L-454; N-45 to L-454; T-46 to L-454; T-47 to L-454; L-48 to L-454; R-49 to L-454; C-50 to L-454; H-51 to L-454; L-52 to L-454; S-53 to L-454; P-54 to L-454; E-55 to L-454; K-56 to L-454; N-57 to L-454; A-58 to L-454; E-59 to L-454; D-60 to L-454; M-61 to L-454; E-62 to L-454; V-63 to

WO 02/02587

PCT/US01/20917

L-454; R-64 to L-454; W-65 to L-454; F-66 to L-454; R-67 to L-454; S-68 to L-454; Q-69 to L-454; F-70 to L-454; S-71 to L-454; P-72 to L-454; A-73 to L-454; V-74 to L-454; F-75 to L-454; V-76 to L-454; Y-77 to L-454; K-78 to L-454; G-79 to L-454; G-80 to L-454; R-81 to L-454; E-82 to L-454; R-83 to L-454; T-84 to L-454; E-85 to L-454; E-86 to L-454; Q-87 to L-454; M-88 to L-454; E-89 to L-454; E-90 to L-454; Y-91 to L-454; R-92 to L-454; G-93 to L-454; R-94 to L-454; I-95 to L-454; T-96 to L-454; F-97 to L-454; V-98 to L-454; S-99 to L-454; K-100 to L-454; D-101 to L-454; I-102 to L-454; N-103 to L-454; R-104 to L-454; G-105 to L-454; S-106 to L-454; V-107 to L-454; A-108 to L-454; L-109 to L-454; V-110 to L-454; I-111 to L-454; H-112 to L-454; N-113 to L-454; V-114 to L-454; T-115 to L-454; A-116 to L-454; Q-117 to L-454; E-118 to L-454; N-119 to L-454; G-120 to L-454; I-121 to L-454; Y-122 to L-454; R-123 to L-454; C-124 to L-454; Y-125 to L-454; F-126 to L-454; Q-127 to L-454; E-128 to L-454; G-129 to L-454; R-130 to L-454; S-131 to L-454; Y-132 to L-454; D-133 to L-454; E-134 to L-454; A-135 to L-454; I-136 to L-454; L-137 to L-454; R-138 to L-454; L-139 to L-454; V-140 to L-454; V-141 to L-454; A-142 to L-454; G-143 to L-454; L-144 to L-454; G-145 to L-454; S-146 to L-454; K-147 to L-454; P-148 to L-454; L-149 to L-454; I-150 to L-454; E-151 to L-454; I-152 to L-454; K-153 to L-454; A-154 to L-454; Q-155 to L-454; E-156 to L-454; D-157 to L-454; G-158 to L-454; S-159 to L-454; I-160 to L-454; W-161 to L-454; L-162 to L-454; E-163 to L-454; C-164 to L-454; I-165 to L-454; S-166 to L-454; G-167 to L-454; G-168 to L-454; W-169 to L-454; Y-170 to L-454; P-171 to L-454; E-172 to L-454; P-173 to L-454; L-174 to L-454; T-175 to L-454; V-176 to L-454; W-177 to L-454; R-178 to L-454; D-179 to L-454; P-180 to L-454; Y-181 to L-454; G-182 to L-454; E-183 to L-454; V-184 to L-454; V-185 to L-454; P-186 to L-454; A-187 to L-454; L-188 to L-454; K-189 to L-454; F-190 to L-454; V-191 to L-454; S-192 to L-454; I-193 to L-454; A-194 to L-454; D-195 to L-454; A-196 to L-454; D-197 to L-454; G-198 to L-454; L-199 to L-454; F-200 to L-454; M-201 to L-454; V-202 to L-454; T-203 to L-454; T-204 to L-454; A-205 to L-454; V-206 to L-454; I-207 to L-454; I-208 to L-454; R-209 to L-454; D-210 to L-454; K-211 to L-454; Y-212 to L-454; V-213 to L-454; R-214 to L-454; N-215 to L-454; V-216 to L-454; S-217 to L-454; C-218 to L-454; S-219 to L-454; V-220 to L-454; N-221 to L-454; N-222 to L-454; T-223 to L-454; L-224 to L-454; L-225 to L-454; G-226 to L-454; Q-227 to L-454; E-228 to L-454; K-229 to L-454; E-230 to L-454; T-231 to L-454; V-232 to L-454; I-233 to L-454; F-234 to L-454; I-235 to L-454; P-236 to L-454; E-237 to L-454; S-238 to L-454; F-239 to L-454; M-240 to L-454; P-241 to L-454; S-242 to L-

WO 02/02587

PCT/US01/20917

454; A-243 to L-454; S-244 to L-454; P-245 to L-454; W-246 to L-454; M-247 to L-454; V-248 to L-454; A-249 to L-454; L-250 to L-454; A-251 to L-454; V-252 to L-454; I-253 to L-454; L-254 to L-454; T-255 to L-454; A-256 to L-454; S-257 to L-454; P-258 to L-454; W-259 to L-454; M-260 to L-454; V-261 to L-454; S-262 to L-454; M-263 to L-454; T-264 to L-454; V-265 to L-454; I-266 to L-454; L-267 to L-454; A-268 to L-454; V-269 to L-454; F-270 to L-454; I-271 to L-454; I-272 to L-454; F-273 to L-454; M-274 to L-454; A-275 to L-454; V-276 to L-454; S-277 to L-454; I-278 to L-454; C-279 to L-454; C-280 to L-454; I-281 to L-454; K-282 to L-454; K-283 to L-454; L-284 to L-454; Q-285 to L-454; R-286 to L-454; E-287 to L-454; K-288 to L-454; K-289 to L-454; L-290 to L-454; L-291 to L-454; S-292 to L-454; G-293 to L-454; E-294 to L-454; K-295 to L-454; K-296 to L-454; V-297 to L-454; E-298 to L-454; Q-299 to L-454; E-300 to L-454; E-301 to L-454; K-302 to L-454; E-303 to L-454; L-304 to L-454; A-305 to L-454; Q-306 to L-454; Q-307 to L-454; L-308 to L-454; Q-309 to L-454; E-310 to L-454; E-311 to L-454; L-312 to L-454; R-313 to L-454; W-314 to L-454; R-315 to L-454; R-316 to L-454; T-317 to L-454; F-318 to L-454; L-319 to L-454; H-320 to L-454; A-321 to L-454; A-322 to L-454; D-323 to L-454; V-324 to L-454; V-325 to L-454; L-326 to L-454; D-327 to L-454; P-328 to L-454; D-329 to L-454; T-330 to L-454; A-331 to L-454; H-332 to L-454; P-333 to L-454; E-334 to L-454; L-335 to L-454; F-336 to L-454; L-337 to L-454; S-338 to L-454; E-339 to L-454; D-340 to L-454; R-341 to L-454; R-342 to L-454; S-343 to L-454; V-344 to L-454; R-345 to L-454; R-346 to L-454; G-347 to L-454; P-348 to L-454; Y-349 to L-454; R-350 to L-454; Q-351 to L-454; R-352 to L-454; V-353 to L-454; P-354 to L-454; D-355 to L-454; N-356 to L-454; P-357 to L-454; E-358 to L-454; R-359 to L-454; F-360 to L-454; D-361 to L-454; S-362 to L-454; Q-363 to L-454; P-364 to L-454; C-365 to L-454; V-366 to L-454; L-367 to L-454; G-368 to L-454; W-369 to L-454; E-370 to L-454; S-371 to L-454; F-372 to L-454; A-373 to L-454; S-374 to L-454; G-375 to L-454; K-376 to L-454; H-377 to L-454; Y-378 to L-454; R-379 to L-454; G-380 to L-454; N-381 to L-454; F-382 to L-454; T-383 to L-454; E-384 to L-454; W-385 to L-454; G-386 to L-454; P-387 to L-454; T-388 to L-454; R-389 to L-454; A-390 to L-454; Y-391 to L-454; R-392 to L-454; I-393 to L-454; N-394 to L-454; S-395 to L-454; L-396 to L-454; D-397 to L-454; S-398 to L-454; Q-399 to L-454; P-400 to L-454; C-401 to L-454; R-402 to L-454; K-403 to L-454; P-404 to L-454; W-405 to L-454; P-406 to L-454; S-407 to L-454; Q-408 to L-454; Q-409 to L-454; P-410 to L-454; P-411 to L-454; H-412 to L-454; N-413 to L-454; P-414 to L-454; P-415 to L-454; N-416 to L-454; E-417 to L-454; R-418 to L-454; H-

WO 02/02587

PCT/US01/20917

419 to L-454; A-420 to L-454; L-421 to L-454; I-422 to L-454; P-423 to L-454; S-424 to L-454; G-425 to L-454; H-426 to L-454; V-427 to L-454; R-428 to L-454; E-429 to L-454; H-430 to L-454; L-431 to L-454; P-432 to L-454; A-433 to L-454; A-434 to L-454; F-435 to L-454; F-436 to L-454; T-437 to L-454; P-438 to L-454; T-439 to L-454; P-440 to L-454; A-441 to L-454; L-442 to L-454; C-443 to L-454; P-444 to L-454; S-445 to L-454; P-446 to L-454; L-447 to L-454; L-448 to L-454; and/or L-449 to L-454 of SEQ ID NO: 17. Polynucleotides encoding these polypeptides are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind one or more of these polypeptides. Moreover, fragments and variants of these polypeptides (e.g., fragments as described herein, polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to these polypeptides and polypeptides encoded by the polynucleotide which hybridizes, under stringent conditions, to the polynucleotide encoding these polypeptides, or the complement thereof) are encompassed by the invention. Antibodies that bind these fragments and variants of the invention are also encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these fragments and variants are also encompassed by the invention.

[151] Accordingly, the present invention further provides polypeptides having one or more residues deleted from the carboxy terminus of the amino acid sequence of the polypeptide shown in Figures 7A-C (SEQ ID NO: 17), as described by the general formula 1-n, where n is an integer from 7 to 453, where n corresponds to the position of the amino acid residue identified in SEQ ID NO: 17. Additionally, the invention provides polynucleotides encoding polypeptides comprising, or alternatively consisting of, an amino acid sequence selected from the following group of C-terminal deletions: M-1 to W-453; M-1 to L-452; M-1 to S-451; M-1 to T-450; M-1 to L-449; M-1 to L-448; M-1 to L-447; M-1 to F-446; M-1 to S-445; M-1 to P-444; M-1 to C-443; M-1 to L-442; M-1 to A-441; M-1 to P-440; M-1 to T-439; M-1 to P-438; M-1 to T-437; M-1 to F-436; M-1 to F-435; M-1 to A-434; M-1 to A-433; M-1 to P-432; M-1 to L-431; M-1 to H-430; M-1 to E-429; M-1 to R-428; M-1 to V-427; M-1 to H-426; M-1 to G-425; M-1 to S-424; M-1 to P-423; M-1 to L-422; M-1 to L-421; M-1 to A-420; M-1 to H-419; M-1 to R-418; M-1 to E-417; M-1 to N-416; M-1 to P-415; M-1 to P-414; M-1 to N-413; M-1 to H-412; M-1 to P-411; M-1 to P-410; M-1 to Q-409; M-1 to Q-408; M-1 to S-407; M-1 to P-406; M-1 to W-405; M-1 to P-404; M-1 to K-403; M-1 to R-402; M-1 to C-401; M-1 to P-400; M-1 to Q-399; M-1 to S-398; M-1 to D-397; M-1 to L-396; M-1 to S-395; M-1 to N-394; M-1 to I-393; M-1 to R-392; M-1 to Y-391;

WO 02/02587

PCT/US01/20917

M-1 to A-390; M-1 to R-389; M-1 to T-388; M-1 to P-387; M-1 to G-386; M-1 to W-385; M-1 to E-384; M-1 to T-383; M-1 to F-382; M-1 to N-381; M-1 to G-380; M-1 to R-379; M-1 to Y-378; M-1 to H-377; M-1 to K-376; M-1 to G-375; M-1 to S-374; M-1 to A-373; M-1 to F-372; M-1 to S-371; M-1 to E-370; M-1 to W-369; M-1 to G-368; M-1 to L-367; M-1 to V-366; M-1 to C-365; M-1 to P-364; M-1 to Q-363; M-1 to S-362; M-1 to D-361; M-1 to F-360; M-1 to R-359; M-1 to E-358; M-1 to P-357; M-1 to N-356; M-1 to D-355; M-1 to P-354; M-1 to V-353; M-1 to R-352; M-1 to Q-351; M-1 to R-350; M-1 to Y-349; M-1 to P-348; M-1 to G-347; M-1 to R-346; M-1 to R-345; M-1 to V-344; M-1 to S-343; M-1 to R-342; M-1 to R-341; M-1 to D-340; M-1 to E-339; M-1 to S-338; M-1 to L-337; M-1 to F-336; M-1 to I-335; M-1 to E-334; M-1 to P-333; M-1 to H-332; M-1 to A-331; M-1 to T-330; M-1 to D-329; M-1 to P-328; M-1 to D-327; M-1 to L-326; M-1 to V-325; M-1 to V-324; M-1 to D-323; M-1 to A-322; M-1 to A-321; M-1 to H-320; M-1 to L-319; M-1 to F-318; M-1 to T-317; M-1 to R-316; M-1 to R-315; M-1 to W-314; M-1 to R-313; M-1 to L-312; M-1 to E-311; M-1 to E-310; M-1 to Q-309; M-1 to L-308; M-1 to Q-307; M-1 to Q-306; M-1 to A-305; M-1 to I-304; M-1 to E-303; M-1 to K-302; M-1 to E-301; M-1 to E-300; M-1 to Q-299; M-1 to E-298; M-1 to V-297; M-1 to K-296; M-1 to K-295; M-1 to E-294; M-1 to G-293; M-1 to S-292; M-1 to L-291; M-1 to L-290; M-1 to K-289; M-1 to K-288; M-1 to F-287; M-1 to R-286; M-1 to Q-285; M-1 to L-284; M-1 to K-283; M-1 to K-282; M-1 to I-281; M-1 to C-280; M-1 to C-279; M-1 to I-278; M-1 to S-277; M-1 to V-276; M-1 to A-275; M-1 to M-274; M-1 to F-273; M-1 to I-272; M-1 to J-271; M-1 to F-270; M-1 to V-269; M-1 to A-268; M-1 to L-267; M-1 to I-266; M-1 to V-265; M-1 to T-264; M-1 to M-263; M-1 to S-262; M-1 to V-261; M-1 to M-260; M-1 to W-259; M-1 to P-258; M-1 to S-257; M-1 to A-256; M-1 to T-255; M-1 to L-254; M-1 to I-253; M-1 to V-252; M-1 to A-251; M-1 to L-250; M-1 to A-249; M-1 to V-248; M-1 to M-247; M-1 to W-246; M-1 to P-245; M-1 to S-244; M-1 to A-243; M-1 to S-242; M-1 to P-241; M-1 to M-240; M-1 to F-239; M-1 to S-238; M-1 to E-237; M-1 to P-236; M-1 to I-235; M-1 to F-234; M-1 to I-233; M-1 to V-232; M-1 to T-231; M-1 to E-230; M-1 to K-229; M-1 to E-228; M-1 to Q-227; M-1 to G-226; M-1 to L-225; M-1 to L-224; M-1 to T-223; M-1 to N-222; M-1 to N-221; M-1 to V-220; M-1 to S-219; M-1 to C-218; M-1 to S-217; M-1 to V-216; M-1 to N-215; M-1 to R-214; M-1 to V-213; M-1 to Y-212; M-1 to K-211; M-1 to D-210; M-1 to R-209; M-1 to I-208; M-1 to I-207; M-1 to V-206; M-1 to A-205; M-1 to T-204; M-1 to T-203; M-1 to V-202; M-1 to M-201; M-1 to F-200; M-1 to L-199; M-1 to G-198; M-1 to D-197; M-1 to A-196; M-1 to D-195; M-

WO 02/02587

PCT/US01/20917

1 to A-194; M-1 to I-193; M-1 to S-192; M-1 to V-191; M-1 to E-190; M-1 to K-189; M-1 to L-188; M-1 to A-187; M-1 to P-186; M-1 to V-185; M-1 to V-184; M-1 to E-183; M-1 to G-182; M-1 to Y-181; M-1 to P-180; M-1 to D-179; M-1 to R-178; M-1 to W-177; M-1 to V-176; M-1 to T-175; M-1 to L-174; M-1 to P-173; M-1 to E-172; M-1 to P-171; M-1 to Y-170; M-1 to W-169; M-1 to G-168; M-1 to G-167; M-1 to S-166; M-1 to I-165; M-1 to C-164; M-1 to E-163; M-1 to L-162; M-1 to W-161; M-1 to I-160; M-1 to S-159; M-1 to G-158; M-1 to D-157; M-1 to E-156; M-1 to Q-155; M-1 to A-154; M-1 to K-153; M-1 to I-152; M-1 to E-151; M-1 to I-150; M-1 to L-149; M-1 to P-148; M-1 to K-147; M-1 to S-146; M-1 to G-145; M-1 to L-144; M-1 to G-143; M-1 to A-142; M-1 to V-141; M-1 to V-140; M-1 to L-139; M-1 to R-138; M-1 to L-137; M-1 to I-136; M-1 to A-135; M-1 to E-134; M-1 to D-133; M-1 to Y-132; M-1 to S-131; M-1 to R-130; M-1 to G-129; M-1 to E-128; M-1 to Q-127; M-1 to I-126; M-1 to Y-125; M-1 to C-124; M-1 to R-123; M-1 to Y-122; M-1 to I-121; M-1 to G-120; M-1 to N-119; M-1 to E-118; M-1 to Q-117; M-1 to A-116; M-1 to T-115; M-1 to V-114; M-1 to N-113; M-1 to H-112; M-1 to I-111; M-1 to V-110; M-1 to L-109; M-1 to A-108; M-1 to V-107; M-1 to S-106; M-1 to G-105; M-1 to R-104; M-1 to N-103; M-1 to I-102; M-1 to D-101; M-1 to K-100; M-1 to S-99; M-1 to V-98; M-1 to F-97; M-1 to T-96; M-1 to I-95; M-1 to R-94; M-1 to G-93; M-1 to R-92; M-1 to Y-91; M-1 to E-90; M-1 to E-89; M-1 to M-88; M-1 to Q-87; M-1 to E-86; M-1 to E-85; M-1 to T-84; M-1 to R-83; M-1 to E-82; M-1 to R-81; M-1 to G-80; M-1 to G-79; M-1 to K-78; M-1 to Y-77; M-1 to V-76; M-1 to F-75; M-1 to V-74; M-1 to A-73; M-1 to P-72; M-1 to S-71; M-1 to F-70; M-1 to Q-69; M-1 to S-68; M-1 to R-67; M-1 to F-66; M-1 to W-65; M-1 to R-64; M-1 to V-63; M-1 to E-62; M-1 to M-61; M-1 to D-60; M-1 to E-59; M-1 to A-58; M-1 to N-57; M-1 to K-56; M-1 to E-55; M-1 to P-54; M-1 to S-53; M-1 to L-52; M-1 to H-51; M-1 to C-50; M-1 to R-49; M-1 to L-48; M-1 to T-47; M-1 to T-46; M-1 to N-45; M-1 to E-44; M-1 to G-43; M-1 to V-42; M-1 to M-41; M-1 to A-40; M-1 to L-39; M-1 to I-38; M-1 to P-37; M-1 to N-36; M-1 to A-35; M-1 to P-34; M-1 to G-33; M-1 to V-32; M-1 to V-31; M-1 to T-30; M-1 to F-29; M-1 to Q-28; M-1 to A-27; M-1 to S-26; M-1 to V-25; M-1 to L-24; M-1 to A-23; M-1 to C-22; M-1 to L-21; M-1 to S-20; M-1 to L-19; M-1 to L-18; M-1 to L-17; M-1 to L-16; M-1 to L-15; M-1 to S-14; M-1 to A-13; M-1 to P-12; M-1 to R-11; M-1 to S-10; M-1 to F-9; M-1 to H-8; and/or M-1 to L-7 of SEQ ID NO: 17. Polynucleotides encoding these polypeptides are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind one or more of these polypeptides. Moreover, fragments and variants of these polypeptides (e.g., fragments as

WO 02/02587

PCT/US01/20917

described herein, polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to these polypeptides and polypeptides encoded by the polynucleotide which hybridizes, under stringent conditions, to the polynucleotide encoding these polypeptides, or the complement thereof) are encompassed by the invention. Antibodies that bind these fragments and variants of the invention are also encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these fragments and variants are also encompassed by the invention.

[152] Also as mentioned above, even if deletion of one or more amino acids from the C-terminus of a protein results in modification or loss of one or more biological functions of the protein (e.g., ability to inhibit the Mixed Lymphocyte Reaction), other functional activities (e.g., biological activities, ability to multimerize, ability to bind receptor, ability to generate antibodies, ability to bind antibodies) may still be retained. For example, the ability of the shortened polypeptide to induce and/or bind to antibodies which recognize the complete or mature forms of the polypeptide generally will be retained when less than the majority of the residues of the complete or mature polypeptide are removed from the C-terminus. Whether a particular polypeptide lacking C-terminal residues of a complete polypeptide retains such immunologic activities can readily be determined by routine methods described herein and otherwise known in the art. It is not unlikely that a polypeptide with a large number of deleted C-terminal amino acid residues may retain some biological or immunogenic activities. In fact, peptides composed of as few as six amino acid residues may often evoke an immune response.

[153] More in particular, the invention provides polynucleotides encoding polypeptides comprising, or alternatively consisting of, an amino acid sequence selected from the group of N-terminal deletions of the mature extracellular portion of the B7-H11 protein (SEQ ID NO: 40): F-29 to L-254; T-30 to L-254; V-31 to L-254; V-32 to L-254; G-33 to L-254; P-34 to L-254; A-35 to L-254; N-36 to L-254; P-37 to L-254; I-38 to L-254; L-39 to L-254; A-40 to L-254; M-41 to L-254; V-42 to L-254; G-43 to L-254; E-44 to L-254; N-45 to L-254; T-46 to L-254; T-47 to L-254; L-48 to L-254; R-49 to L-254; C-50 to L-254; H-51 to L-254; L-52 to L-254; S-53 to L-254; P-54 to L-254; E-55 to L-254; K-56 to L-254; N-57 to L-254; A-58 to L-254; E-59 to L-254; D-60 to L-254; M-61 to L-254; E-62 to L-254; V-63 to L-254; R-64 to L-254; W-65 to L-254; F-66 to L-254; R-67 to L-254; S-68 to L-254; Q-69 to L-254; F-70 to L-254; S-71 to L-254; P-72 to L-254; A-73 to L-254; V-74 to L-254; F-75 to L-254; V-76 to

WO 02/02587

PCT/US01/20917

L-254; Y-77 to L-254; K-78 to L-254; G-79 to L-254; G-80 to L-254; R-81 to L-254; E-82 to L-254; R-83 to L-254; T-84 to L-254; B-85 to L-254; E-86 to L-254; Q-87 to L-254; M-88 to L-254; B-89 to L-254; E-90 to L-254; Y-91 to L-254; R-92 to L-254; G-93 to L-254; R-94 to L-254; I-95 to L-254; T-96 to L-254; F-97 to L-254; V-98 to L-254; S-99 to L-254; K-100 to L-254; D-101 to L-254; I-102 to L-254; N-103 to L-254; R-104 to L-254; G-105 to L-254; S-106 to L-254; V-107 to L-254; A-108 to L-254; L-109 to L-254; V-110 to L-254; I-111 to L-254; H-112 to L-254; N-113 to L-254; V-114 to L-254; T-115 to L-254; A-116 to L-254; Q-117 to L-254; E-118 to L-254; N-119 to L-254; G-120 to L-254; I-121 to L-254; Y-122 to L-254; R-123 to L-254; C-124 to L-254; Y-125 to L-254; F-126 to L-254; Q-127 to L-254; E-128 to L-254; G-129 to L-254; R-130 to L-254; S-131 to L-254; Y-132 to L-254; D-133 to L-254; E-134 to L-254; A-135 to L-254; I-136 to L-254; L-137 to L-254; R-138 to L-254; L-139 to L-254; V-140 to L-254; V-141 to L-254; A-142 to L-254; G-143 to L-254; L-144 to L-254; G-145 to L-254; S-146 to L-254; K-147 to L-254; P-148 to L-254; L-149 to L-254; I-150 to L-254; E-151 to L-254; I-152 to L-254; K-153 to L-254; A-154 to L-254; Q-155 to L-254; E-156 to L-254; D-157 to L-254; G-158 to L-254; S-159 to L-254; I-160 to L-254; W-161 to L-254; L-162 to L-254; E-163 to L-254; C-164 to L-254; I-165 to L-254; S-166 to L-254; G-167 to L-254; G-168 to L-254; W-169 to L-254; Y-170 to L-254; P-171 to L-254; E-172 to L-254; P-173 to L-254; L-174 to L-254; T-175 to L-254; V-176 to L-254; W-177 to L-254; R-178 to L-254; D-179 to L-254; P-180 to L-254; Y-181 to L-254; G-182 to L-254; E-183 to L-254; V-184 to L-254; V-185 to L-254; P-186 to L-254; A-187 to L-254; L-188 to L-254; K-189 to L-254; E-190 to L-254; V-191 to L-254; S-192 to L-254; I-193 to L-254; A-194 to L-254; D-195 to L-254; A-196 to L-254; D-197 to L-254; G-198 to L-254; L-199 to L-254; F-200 to L-254; M-201 to L-254; V-202 to L-254; T-203 to L-254; T-204 to L-254; A-205 to L-254; V-206 to L-254; I-207 to L-254; I-208 to L-254; R-209 to L-254; D-210 to L-254; K-211 to L-254; Y-212 to L-254; V-213 to L-254; R-214 to L-254; N-215 to L-254; V-216 to L-254; S-217 to L-254; C-218 to L-254; S-219 to L-254; V-220 to L-254; N-221 to L-254; N-222 to L-254; T-223 to L-254; L-224 to L-254; L-225 to L-254; G-226 to L-254; Q-227 to L-254; E-228 to L-254; K-229 to L-254; E-230 to L-254; T-231 to L-254; V-232 to L-254; I-233 to L-254; F-234 to L-254; I-235 to L-254; P-236 to L-254; E-237 to L-254; S-238 to L-254; F-239 to L-254; M-240 to L-254; P-241 to L-254; S-242 to L-254; A-243 to L-254; S-244 to L-254; P-245 to L-254; W-246 to L-254; M-247 to L-254; V-248 to L-254; and/or A-249 to L-254 of SEQ ID NO: 17. Polynucleotides encoding these polypeptides are

WO 02/02587

PCT/US01/20917

also encompassed by the invention, as are antibodies that bind one or more of these polypeptides. Moreover, fragments and variants of these polypeptides (e.g., fragments as described herein, polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to these polypeptides and polypeptides encoded by the polynucleotide which hybridizes, under stringent conditions, to the polynucleotide encoding these polypeptides, or the complement thereof) are encompassed by the invention. Antibodies that bind these fragments and variants of the invention are also encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these fragments and variants are also encompassed by the invention.

[154] Additionally, the invention provides polynucleotides encoding polypeptides comprising, or alternatively consisting of, an amino acid sequence selected from the group of C-terminal deletions of the mature extracellular portion of the B7-H1 protein (SEQ ID NO: 40): Q-28 to I-253; Q-28 to V-252; Q-28 to A-251; Q-28 to L-250; Q-28 to A-249; Q-28 to V-248; Q-28 to M-247; Q-28 to W-246; Q-28 to P-245; Q-28 to S-244; Q-28 to A-243; Q-28 to S-242; Q-28 to P-241; Q-28 to M-240; Q-28 to F-239; Q-28 to S-238; Q-28 to E-237; Q-28 to P-236; Q-28 to I-235; Q-28 to F-234; Q-28 to I-233; Q-28 to V-232; Q-28 to T-231; Q-28 to E-230; Q-28 to K-229; Q-28 to E-228; Q-28 to Q-227; Q-28 to G-226; Q-28 to L-225; Q-28 to I-224; Q-28 to T-223; Q-28 to N-222; Q-28 to N-221; Q-28 to V-220; Q-28 to S-219; Q-28 to C-218; Q-28 to S-217; Q-28 to V-216; Q-28 to N-215; Q-28 to R-214; Q-28 to V-213; Q-28 to Y-212; Q-28 to K-211; Q-28 to D-210; Q-28 to R-209; Q-28 to I-208; Q-28 to I-207; Q-28 to V-206; Q-28 to A-205; Q-28 to T-204; Q-28 to T-203; Q-28 to V-202; Q-28 to M-201; Q-28 to F-200; Q-28 to L-199; Q-28 to G-198; Q-28 to D-197; Q-28 to A-196; Q-28 to D-195; Q-28 to A-194; Q-28 to I-193; Q-28 to S-192; Q-28 to V-191; Q-28 to E-190; Q-28 to K-189; Q-28 to L-188; Q-28 to A-187; Q-28 to P-186; Q-28 to V-185; Q-28 to V-184; Q-28 to E-183; Q-28 to G-182; Q-28 to Y-181; Q-28 to P-180; Q-28 to D-179; Q-28 to R-178; Q-28 to W-177; Q-28 to V-176; Q-28 to T-175; Q-28 to L-174; Q-28 to P-173; Q-28 to E-172; Q-28 to P-171; Q-28 to Y-170; Q-28 to W-169; Q-28 to G-168; Q-28 to G-167; Q-28 to S-166; Q-28 to I-165; Q-28 to C-164; Q-28 to E-163; Q-28 to L-162; Q-28 to W-161; Q-28 to I-160; Q-28 to S-159; Q-28 to G-158; Q-28 to D-157; Q-28 to E-156; Q-28 to Q-155; Q-28 to A-154; Q-28 to K-153; Q-28 to I-152; Q-28 to E-151; Q-28 to I-150; Q-28 to L-149; Q-28 to P-148; Q-28 to K-147; Q-28 to S-146; Q-28 to G-145; Q-28 to L-144; Q-28 to G-143; Q-28 to A-142; Q-28 to V-141; Q-28 to V-140; Q-28 to L-139; Q-28 to R-138; Q-28 to

WO 02/02597

PCT/US01/20917

L-137; Q-28 to I-136; Q-28 to A-135; Q-28 to E-134; Q-28 to D-133; Q-28 to Y-132; Q-28 to S-131; Q-28 to R-130; Q-28 to G-129; Q-28 to E-128; Q-28 to Q-127; Q-28 to F-126; Q-28 to Y-125; Q-28 to C-124; Q-28 to R-123; Q-28 to Y-122; Q-28 to I-121; Q-28 to G-120; Q-28 to N-119; Q-28 to E-118; Q-28 to Q-117; Q-28 to A-116; Q-28 to T-115; Q-28 to V-114; Q-28 to N-113; Q-28 to H-112; Q-28 to I-111; Q-28 to V-110; Q-28 to L-109; Q-28 to A-108; Q-28 to V-107; Q-28 to S-106; Q-28 to G-105; Q-28 to R-104; Q-28 to N-103; Q-28 to I-102; Q-28 to D-101; Q-28 to K-100; Q-28 to S-99; Q-28 to V-98; Q-28 to F-97; Q-28 to T-96; Q-28 to I-95; Q-28 to R-94; Q-28 to G-93; Q-28 to R-92; Q-28 to Y-91; Q-28 to E-90; Q-28 to E-89; Q-28 to M-88; Q-28 to Q-87; Q-28 to E-86; Q-28 to E-85; Q-28 to T-84; Q-28 to R-83; Q-28 to E-82; Q-28 to R-81; Q-28 to G-80; Q-28 to G-79; Q-28 to K-78; Q-28 to Y-77; Q-28 to V-76; Q-28 to F-75; Q-28 to V-74; Q-28 to A-73; Q-28 to P-72; Q-28 to S-71; Q-28 to F-70; Q-28 to Q-69; Q-28 to S-68; Q-28 to R-67; Q-28 to F-66; Q-28 to W-65; Q-28 to R-64; Q-28 to V-63; Q-28 to E-62; Q-28 to M-61; Q-28 to D-60; Q-28 to E-59; Q-28 to A-58; Q-28 to N-57; Q-28 to K-56; Q-28 to E-55; Q-28 to P-54; Q-28 to S-53; Q-28 to L-52; Q-28 to H-51; Q-28 to C-50; Q-28 to R-49; Q-28 to L-48; Q-28 to T-47; Q-28 to T-46; Q-28 to N-45; Q-28 to E-44; Q-28 to G-43; Q-28 to V-42; Q-28 to M-41; Q-28 to A-40; Q-28 to L-39; Q-28 to I-38; Q-28 to P-37; Q-28 to N-36; Q-28 to A-35; and/or Q-28 to P-34 of SEQ ID NO: 17. Polynucleotides encoding these polypeptides are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind one or more of these polypeptides. Moreover, fragments and variants of these polypeptides (e.g., fragments as described herein, polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to these polypeptides and polypeptides encoded by the polynucleotide which hybridizes, under stringent conditions, to the polynucleotide encoding these polypeptides, or the complement thereof) are encompassed by the invention. Antibodies that bind these fragments and variants of the invention are also encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these fragments and variants are also encompassed by the invention.

[155] In addition, any of the above listed N- or C-terminal deletions can be combined to produce a N- and C-terminal deleted polypeptide. The invention also provides polypeptides comprising, or alternatively consisting of, one or more amino acids deleted from both the amino and the carboxyl termini, which may be described generally as having residues m-n of SEQ ID NO: 17, where n and m are integers as described above. Fragments and/or variants of these polypeptides, such as, for example, fragments and/or variants as described herein, are

WO 02/02587

PCT/US01/20917

encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these polypeptides (including fragments and/or variants) are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind these polypeptides.

[156] The present invention is also directed to proteins containing polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% or 99% identical to a polypeptide sequence set forth herein as m-u. In preferred embodiments, the application is directed to proteins containing polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% or 99% identical to polypeptides having the amino acid sequence of the specific N- and C-terminal deletions recited herein. Fragments and/or variants of these polypeptides, such as, for example, fragments and/or variants as described herein, are encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these polypeptides (including fragments and/or variants) are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind these polypeptides.

[157] Also included are polynucleotide sequences encoding a polypeptide consisting of a portion of the complete amino acid sequence encoded by a cDNA clone contained in ATCC Deposit No. PTA-2332, where this portion excludes any integer of amino acid residues from 1 to about 448 amino acids from the amino terminus of the complete amino acid sequence encoded by a cDNA clone contained in ATCC Deposit No. PTA-2332, or any integer of amino acid residues from 1 to about 448 amino acids from the carboxy terminus, or any combination of the above amino terminal and carboxy terminal deletions, of the complete amino acid sequence encoded by the cDNA clone contained in ATCC Deposit No. PTA-2332. Polypeptides encoded by these polynucleotides also are encompassed by the invention.

[158] As described herein or otherwise known in the art, the polynucleotides of the invention have uses that include, but are not limited to, serving as probes or primers in chromosome identification, chromosome mapping, and linkage analysis.

[159] It has been discovered that this gene is expressed in dendritic cells, T cells, activated T cells, T cell lymphoma, and Hodgkin's lymphoma.

[160] Polynucleotides, translation products and antibodies corresponding to this gene are useful as reagents for differential identification of immune system tissue(s) or cell type(s) present in a biological sample and for diagnosis of diseases and conditions which include, but are not limited to, diseases and/or disorders involving immune system activation, stimulation and/or surveillance, particularly involving T cells, in addition to other immune system cells such as dendritic cells, neutrophils, and leukocytes. Similarly, polypeptides and antibodies

WO 02/02587

PCT/US01/20917

directed to these polypeptides are useful in providing immunological probes for differential identification of the tissue(s) or cell type(s). Particularly contemplated are the use of antibodies directed against the extracellular portion of this protein which act as antagonists for the activity of the B7-H11 protein. Such antagonistic antibodies would be useful for the prevention and/or inhibition of such biological activities as are disclosed herein (e.g. T cell modulated activities).

[161] For a number of disorders of the above tissues or cells, particularly of the immune system, expression of this gene at significantly higher or lower levels may be routinely detected in certain tissues or cell types (e.g., immune, cancerous and wounded tissues) or bodily fluids (e.g., lymph, serum, plasma, urine, synovial fluid and spinal fluid) or another tissue or cell sample taken from an individual having such a disorder, relative to the standard gene expression level, i.e., the expression level in healthy tissue or bodily fluid from an individual not having the disorder.

[162] The tissue distribution in immune cells (e.g., T-cells, dendritic cells), and the homology to members of the B7 family of ligands, indicates that the polynucleotides, translation products and antibodies corresponding to this gene are useful for the diagnosis, detection and/or treatment of diseases and/or disorders involving immune system activation, stimulation and/or surveillance, particularly as relating to T cells, neutrophils, dendritic cells, leukocytes, and other immune system cells. In particular, the translation product of the B7-H11 gene may be involved in the costimulation of T cells, binding to ICOS, and/or may play a role in modulation of the expression of particular cytokines, for example.

[163] More generally, the tissue distribution in immune system cells indicates that this gene product may be involved in the regulation of cytokine production, antigen presentation, or other processes that may also suggest a usefulness in the treatment of cancer (e.g. by boosting immune responses). Since the gene is expressed in cells of immune system origin, polynucleotides, translation products and antibodies corresponding to this gene may show utility as a tumor marker and/or immunotherapy targets for the above listed tissues.

[164] Polynucleotides, translation products and antibodies corresponding to this gene may be also used as an agent for immunological disorders including arthritis, asthma, immune deficiency diseases such as AIDS, leukemia, rheumatoid arthritis, inflammatory bowel disease, sepsis, acne, and psoriasis. In addition, this gene product may have commercial utility in the expansion of stem cells and committed progenitors of various blood

WO 02/02587

PCT/US01/20917

lineages, and in the differentiation and/or proliferation of various cell types. Additionally, polynucleotides, translation products and antibodies corresponding to this gene may show utility as a tumor marker and/or immunotherapy targets for the above listed tissues. Furthermore, the protein may also be used to determine biological activity, to raise antibodies, as tissue markers, to isolate cognate ligands or receptors, to identify agents that modulate their interactions, in addition to its use as a nutritional supplement.

FEATURES OF PROTEIN ENCODED BY GENE NO: 5

[165] For purposes of this application, this gene and its corresponding translation product are known as the B7-H10 gene and B7-H10 protein. This protein is believed to reside as a cell-surface molecule, and the transmembrane domain of this protein is believed to approximately embody the following preferred amino acid residues: GPTGARLTLVLALTVILELT (SEQ ID NO: 42). Polynucleotides encoding these polypeptides are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind one or more of these polypeptides. Moreover, fragments and variants of these polypeptides (e.g., fragments as described herein, polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to these polypeptides and polypeptides encoded by the polynucleotide which hybridizes, under stringent conditions, to the polynucleotide encoding these polypeptides, or the complement thereof) are encompassed by the invention. Antibodies that bind these fragments and variants of the invention are also encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these fragments and variants are also encompassed by the invention. As one skilled in the art would understand, the transmembrane domain was predicted using computer analysis, and the transmembrane domain may vary by one, two, three, four, five, six, seven, eight, nine, and/or ten amino acids from the N and C-termini of the predicted transmembrane domain.

[166] The B7-H10 gene shares sequence homology with members of the B7 family of ligands. These proteins and their corresponding receptors play vital roles in the growth, differentiation, activation, proliferation and death of T cells. For example, some members of this family (i.e., B7-H1) are involved in costimulation of the T cell response, as well as inducing increased cytokine production, while other family members are involved in the negative regulation of the T cell response. Therefore, agonists and antagonists such as

WO 02/02587

PCT/US01/20917

antibodies or small molecules directed against the B7-H10 gene are useful for treating T cell mediated immune system disorders.

[167] Preferred polypeptides of the present invention comprise, or alternatively consist of, one, two, three, four, five, six, seven, or all seven of the immunogenic epitopes of the extracellular portion of the B7-H10 protein shown in SEQ ID NO: 18 as residues: Glu-34 to Asp-41, Ser-56 to Tyr-61, Pro-152 to Phe-159, Asp-166 to Lys-174, Ala-181 to Asp-200, Tyr-232 to Gly-244, and Pro-381 to Ser-393. Polynucleotides encoding these polypeptides are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind one or more of these polypeptides. Moreover, fragments and variants of these polypeptides (e.g., fragments as described herein, polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to these polypeptides and polypeptides encoded by the polynucleotide which hybridizes, under stringent conditions, to the polynucleotide encoding these polypeptides, or the complement thereof) are encompassed by the invention. Antibodies that bind these fragments and variants of the invention are also encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these fragments and variants are also encompassed by the invention.

[168] In additional nonexclusive embodiments, polypeptides of the invention comprises, or alternatively consists of, the following amino acid sequence:

[169] The extracellular domain of the B7-H10 protein:
 MREIVWYRVTDGGTIKQKIFTFDAMFSTNYSHMENYRKREDLVYQSTVRIPEVRISD
 NGPYECHVGIYDRATREKVVLAASGNIFLNVMAPPTSTIEVVAADTPAPFSTRYQAQNF
 LVCIVSGGKPAFPMVYFKRDGEPIDAVPLSEPPAASSGFLQDSRPFRLHRLDLDDETKM
 QKSLSLDAENRGGRPYTERPSRGLIPDPNLLQPTTENIPEIVVSREFPRWVHSAEPI
 YFLRHSRTPSSDGTVEVRALLTWTINPQIDNEALFSCVVKHPALSMMPMQAEVTLVAP
 KGPKIVMTPSRARVGDIVRILVHGFQNEVPEPMPFTWTRVGSRLDGSARFDGKELV
 LERVPAELNGSMYRCFAQNPLGSDITHIRLIVFENPNIPRGTEDSNGSI (SEQ ID NO:
 43). Polynucleotides encoding these polypeptides are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind one or more of these polypeptides. Moreover, fragments and variants of these polypeptides (e.g., fragments as described herein, polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to these polypeptides and polypeptides encoded by the polynucleotide which hybridizes, under stringent conditions, to the polynucleotide encoding these polypeptides, or the complement thereof) are encompassed by the invention.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Antibodies that bind these fragments and variants of the invention are also encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these fragments and variants are also encompassed by the invention.

[170] Also preferred are polypeptides comprising, or alternatively consisting of, fragments of the extracellular portion of the B7-H10 protein demonstrating functional activity (SEQ ID NO: 43). Fragments and/or variants of these polypeptides, such as, for example, fragments and/or variants as described herein, are encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these polypeptides (including fragments and/or variants) are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind these polypeptides.

[171] By functional activity is meant, a polypeptide fragment capable of displaying one or more known functional activities associated with the full-length (complete) B7-H10 protein. Such functional activities include, but are not limited to, biological activity (e.g., T cell costimulatory activity, ability to bind ICOS, CD28 or CTLA4, and ability to induce or inhibit cytokine production), antigenicity [ability to bind (or compete with a B7-H10 polypeptide for binding) to an anti-B7-H10 antibody], immunogenicity (ability to generate antibody which binds to a B7-H10 polypeptide), ability to form multimers with B7-H10 polypeptides of the invention, and ability to bind to a receptor for a B7-H10 polypeptide.

[172] Figures 9A-B show the nucleotide (SEQ ID NO: 6) and deduced amino acid sequence (SEQ ID NO: 18) corresponding to this gene. Figure 10 shows an analysis of the amino acid sequence (SEQ ID NO: 18). Alpha, beta, turn and coil regions; hydrophilicity and hydrophobicity; amphipathic regions; flexible regions; antigenic index and surface probability are shown, and all were generated using the default settings of the recited computer algorithms. In the "Antigenic Index or Jameson-Wolf" graph, the positive peaks indicate locations of the highly antigenic regions of the protein, i.e., regions from which epitope-bearing peptides of the invention can be obtained. Polypeptides comprising, or alternatively consisting of, domains defined by these graphs are contemplated by the present invention, as are polynucleotides encoding these polypeptides. The data presented in Figure 10 are also represented in tabular form in Table 7. The columns are labeled with the headings "Res", "Position", and Roman Numerals I-XIV. The column headings refer to the following features of the amino acid sequence presented in Figure 10, and Table 7: "Res": amino acid residue of SEQ ID NO: 18 and Figures 9A-B; "Position": position of the corresponding residue within SEQ ID NO: 18 and Figures 9A-B; I: Alpha, Regions - Garnier-Robson; II:

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Alpha, Regions - Chou-Fasman; III: Beta, Regions - Garnier-Robson; IV: Beta, Regions - Chou-Fasman; V: Turn, Regions - Garnier-Robson; VI: Turn, Regions - Chou-Fasman; VII: Coil, Regions - Garnier-Robson; VIII: Hydrophilicity Plot - Kyte-Doolittle; IX: Hydrophobicity Plot - Hopp-Woods; X: Alpha, Amphipathic Regions - Eisenberg; XI: Beta, Amphipathic Regions - Eisenberg; XII: Flexible Regions - Karplus-Schulz; XIII: Antigenic Index - Jameson-Wolf; and XIV: Surface Probability Plot - Emini. Preferred embodiments of the invention in this regard include fragments that comprise, or alternatively consisting of, one or more of the following regions: alpha-helix and alpha-helix forming regions ("alpha-regions"), beta-sheet and beta-sheet forming regions ("beta-regions"), turn and turn-forming regions ("turn-regions"), coil and coil-forming regions ("coil-regions"), hydrophilic regions, hydrophobic regions, alpha amphipathic regions, beta amphipathic regions, flexible regions, surface-forming regions and high antigenic index regions. The data representing the structural or functional attributes of the protein set forth in Figure 10 and/or Table 7, as described above, was generated using the various modules and algorithms of the DNA*STAR set on default parameters. In a preferred embodiment, the data presented in columns VIII, IX, XIII, and XIV of Table 7 can be used to determine regions of the protein which exhibit a high degree of potential for antigenicity. Regions of high antigenicity are determined from the data presented in columns VIII, IX, XIII, and/or XIV by choosing values which represent regions of the polypeptide which are likely to be exposed on the surface of the polypeptide in an environment in which antigen recognition may occur in the process of initiation of an immune response. Certain preferred regions in these regards are set out in Figure 10, but may, as shown in Table 7, be represented or identified by using tabular representations of the data presented in Figure 10. The DNA*STAR computer algorithm used to generate Figure 10 (set on the original default parameters) was used to present the data in Figure 10 in a tabular format (See Table 7). The tabular format of the data in Figure 10 (See Table 7) is used to easily determine specific boundaries of a preferred region.

[173] The present invention is further directed to fragments of the polynucleotide sequences described herein. By a fragment of, for example, the polynucleotide sequence of a deposited cDNA or the nucleotide sequence shown in SEQ ID NO: 6, is intended polynucleotide fragments at least about 15nt, and more preferably at least about 20 nt, at least about 25nt, still more preferably at least about 30 nt, at least about 35nt, and even more preferably, at least about 40 nt in length, at least about 45nt in length, at least about 50nt in

WO 02/02587

PCT/US01/20917

length, at least about 60nt in length, at least about 70nt in length, at least about 80nt in length, at least about 90nt in length, at least about 100nt in length, at least about 125nt in length, at least about 150nt in length, at least about 175nt in length, which are useful as diagnostic probes and primers as discussed herein. Of course, larger fragments 200-1500 nt in length are also useful according to the present invention, as are fragments corresponding to most, if not all, of the nucleotide sequence of a deposited cDNA or as shown in SEQ ID NO: 6. By a fragment at least 20 nt in length, for example, is intended fragments which include 20 or more contiguous bases from the nucleotide sequence of a deposited cDNA or the nucleotide sequence as shown in SEQ ID NO: 6. In this context "about" includes the particularly recited size, an sizes larger or smaller by several (5, 4, 3, 2, or 1) nucleotides, at either terminus or at both termini. Representative examples of polynucleotide fragments of the invention include, for example, fragments that comprise, or alternatively, consist of, a sequence from about nucleotide 1 to about 50, from about 51 to about 100, from about 101 to about 150, from about 151 to about 200, from about 201 to about 250, from about 251 to about 300, from about 301 to about 350, from about 351 to about 400, from about 401 to about 450, from about 451 to about 500, and from about 501 to about 550, and from about 551 to about 600, from about 601 to about 650, from about 651 to about 700, from about 701 to about 750, from about 751 to about 800, and from about 801 to about 860, of SEQ ID NO: 6, or the complementary strand thereto, or the cDNA contained in a deposited clone. In this context "about" includes the particularly recited ranges, and ranges larger or smaller by several (5, 4, 3, 2, or 1) nucleotides, at either terminus or at both termini. In additional embodiments, the polynucleotides of the invention encode functional attributes of the corresponding protein.

[174] Preferred polypeptide fragments of the invention comprise, or alternatively consist of, the secreted protein having a continuous series of deleted residues from the amino or the carboxy terminus, or both. Particularly, N-terminal deletions of the polypeptide can be described by the general formula $m-414$ where m is an integer from 2 to 409, where m corresponds to the position of the amino acid residue identified in SEQ ID NO: 18. More in particular, the invention provides polynucleotides encoding polypeptides comprising, or alternatively consisting of, an amino acid sequence selected from the group: R-2 to T-414; E-3 to T-414; I-4 to T-414; V-5 to T-414; W-6 to T-414; Y-7 to T-414; R-8 to T-414; V-9 to T-414; T-10 to T-414; D-11 to T-414; G-12 to T-414; G-13 to T-414; T-14 to T-414; I-15 to T-414; K-16 to T-414; Q-17 to T-414; K-18 to T-414; I-19 to T-414; F-20 to T-414; T-21 to T-

WO 02/02587

PCT/US01/20917

414; F-22 to T-414; D-23 to T-414; A-24 to T-414; M-25 to T-414; F-26 to T-414; S-27 to T-414; T-28 to T-414; N-29 to T-414; Y-30 to T-414; S-31 to T-414; H-32 to T-414; M-33 to T-414; E-34 to T-414; N-35 to T-414; Y-36 to T-414; R-37 to T-414; K-38 to T-414; R-39 to T-414; E-40 to T-414; D-41 to T-414; L-42 to T-414; V-43 to T-414; Y-44 to T-414; Q-45 to T-414; S-46 to T-414; T-47 to T-414; V-48 to T-414; R-49 to T-414; L-50 to T-414; P-51 to T-414; E-52 to T-414; V-53 to T-414; R-54 to T-414; I-55 to T-414; S-56 to T-414; D-57 to T-414; N-58 to T-414; G-59 to T-414; P-60 to T-414; Y-61 to T-414; E-62 to T-414; C-63 to T-414; H-64 to T-414; V-65 to T-414; G-66 to T-414; I-67 to T-414; Y-68 to T-414; D-69 to T-414; R-70 to T-414; A-71 to T-414; T-72 to T-414; R-73 to T-414; E-74 to T-414; K-75 to T-414; V-76 to T-414; V-77 to T-414; L-78 to T-414; A-79 to T-414; S-80 to T-414; G-81 to T-414; N-82 to T-414; I-83 to T-414; F-84 to T-414; L-85 to T-414; N-86 to T-414; V-87 to T-414; M-88 to T-414; A-89 to T-414; P-90 to T-414; P-91 to T-414; T-92 to T-414; S-93 to T-414; I-94 to T-414; E-95 to T-414; V-96 to T-414; V-97 to T-414; A-98 to T-414; A-99 to T-414; D-100 to T-414; T-101 to T-414; P-102 to T-414; A-103 to T-414; P-104 to T-414; F-105 to T-414; S-106 to T-414; R-107 to T-414; Y-108 to T-414; Q-109 to T-414; A-110 to T-414; Q-111 to T-414; N-112 to T-414; F-113 to T-414; T-114 to T-414; L-115 to T-414; V-116 to T-414; C-117 to T-414; I-118 to T-414; V-119 to T-414; S-120 to T-414; G-121 to T-414; G-122 to T-414; K-123 to T-414; P-124 to T-414; A-125 to T-414; P-126 to T-414; M-127 to T-414; V-128 to T-414; Y-129 to T-414; F-130 to T-414; K-131 to T-414; R-132 to T-414; D-133 to T-414; G-134 to T-414; E-135 to T-414; P-136 to T-414; I-137 to T-414; D-138 to T-414; A-139 to T-414; V-140 to T-414; P-141 to T-414; L-142 to T-414; S-143 to T-414; E-144 to T-414; P-145 to T-414; P-146 to T-414; A-147 to T-414; A-148 to T-414; S-149 to T-414; S-150 to T-414; G-151 to T-414; P-152 to T-414; L-153 to T-414; Q-154 to T-414; D-155 to T-414; S-156 to T-414; R-157 to T-414; P-158 to T-414; F-159 to T-414; R-160 to T-414; S-161 to T-414; L-162 to T-414; L-163 to T-414; H-164 to T-414; R-165 to T-414; D-166 to T-414; L-167 to T-414; D-168 to T-414; D-169 to T-414; T-170 to T-414; K-171 to T-414; M-172 to T-414; Q-173 to T-414; K-174 to T-414; S-175 to T-414; L-176 to T-414; S-177 to T-414; L-178 to T-414; L-179 to T-414; D-180 to T-414; A-181 to T-414; E-182 to T-414; N-183 to T-414; R-184 to T-414; G-185 to T-414; G-186 to T-414; R-187 to T-414; P-188 to T-414; Y-189 to T-414; T-190 to T-414; E-191 to T-414; R-192 to T-414; P-193 to T-414; S-194 to T-414; R-195 to T-414; G-196 to T-414; L-197 to T-414; T-198 to T-414; P-199 to T-414; D-200 to T-414; P-201 to T-414; N-202 to T-414; I-203 to T-414; L-

WO 02/02587

PCT/US01/20917

204 to T-414; L-205 to T-414; Q-206 to T-414; P-207 to T-414; T-208 to T-414; T-209 to T-414; E-210 to T-414; N-211 to T-414; I-212 to T-414; P-213 to T-414; E-214 to T-414; T-215 to T-414; V-216 to T-414; V-217 to T-414; S-218 to T-414; R-219 to T-414; E-220 to T-414; F-221 to T-414; P-222 to T-414; R-223 to T-414; W-224 to T-414; V-225 to T-414; H-226 to T-414; S-227 to T-414; A-228 to T-414; E-229 to T-414; P-230 to T-414; T-231 to T-414; Y-232 to T-414; F-233 to T-414; L-234 to T-414; R-235 to T-414; H-236 to T-414; S-237 to T-414; R-238 to T-414; T-239 to T-414; P-240 to T-414; S-241 to T-414; S-242 to T-414; D-243 to T-414; G-244 to T-414; T-245 to T-414; V-246 to T-414; E-247 to T-414; V-248 to T-414; R-249 to T-414; A-250 to T-414; L-251 to T-414; L-252 to T-414; T-253 to T-414; W-254 to T-414; T-255 to T-414; L-256 to T-414; N-257 to T-414; P-258 to T-414; Q-259 to T-414; I-260 to T-414; D-261 to T-414; N-262 to T-414; E-263 to T-414; A-264 to T-414; L-265 to T-414; F-266 to T-414; S-267 to T-414; C-268 to T-414; E-269 to T-414; V-270 to T-414; K-271 to T-414; H-272 to T-414; P-273 to T-414; A-274 to T-414; L-275 to T-414; S-276 to T-414; M-277 to T-414; P-278 to T-414; M-279 to T-414; Q-280 to T-414; A-281 to T-414; E-282 to T-414; V-283 to T-414; T-284 to T-414; L-285 to T-414; V-286 to T-414; A-287 to T-414; P-288 to T-414; K-289 to T-414; G-290 to T-414; P-291 to T-414; K-292 to T-414; I-293 to T-414; V-294 to T-414; M-295 to T-414; T-296 to T-414; P-297 to T-414; S-298 to T-414; R-299 to T-414; A-300 to T-414; R-301 to T-414; V-302 to T-414; G-303 to T-414; D-304 to T-414; T-305 to T-414; V-306 to T-414; R-307 to T-414; J-308 to T-414; L-309 to T-414; V-310 to T-414; H-311 to T-414; G-312 to T-414; F-313 to T-414; Q-314 to T-414; N-315 to T-414; E-316 to T-414; V-317 to T-414; F-318 to T-414; P-319 to T-414; E-320 to T-414; P-321 to T-414; M-322 to T-414; F-323 to T-414; T-324 to T-414; W-325 to T-414; T-326 to T-414; R-327 to T-414; V-328 to T-414; G-329 to T-414; S-330 to T-414; R-331 to T-414; L-332 to T-414; L-333 to T-414; D-334 to T-414; G-335 to T-414; S-336 to T-414; A-337 to T-414; E-338 to T-414; F-339 to T-414; D-340 to T-414; G-341 to T-414; K-342 to T-414; E-343 to T-414; L-344 to T-414; V-345 to T-414; L-346 to T-414; E-347 to T-414; R-348 to T-414; V-349 to T-414; P-350 to T-414; A-351 to T-414; E-352 to T-414; L-353 to T-414; N-354 to T-414; G-355 to T-414; S-356 to T-414; M-357 to T-414; Y-358 to T-414; R-359 to T-414; C-360 to T-414; T-361 to T-414; A-362 to T-414; Q-363 to T-414; N-364 to T-414; P-365 to T-414; L-366 to T-414; G-367 to T-414; S-368 to T-414; T-369 to T-414; D-370 to T-414; T-371 to T-414; H-372 to T-414; T-373 to T-414; R-374 to T-414; L-375 to T-414; I-376 to T-414; V-377 to T-414; F-378 to T-414; E-379 to T-414; N-

WO 02/02587

PCT/US01/20917

380 to T-414; P-381 to T-414; N-382 to T-414; I-383 to T-414; P-384 to T-414; R-385 to T-414; G-386 to T-414; T-387 to T-414; E-388 to T-414; D-389 to T-414; S-390 to T-414; N-391 to T-414; G-392 to T-414; S-393 to T-414; I-394 to T-414; G-395 to T-414; P-396 to T-414; T-397 to T-414; G-398 to T-414; A-399 to T-414; R-400 to T-414; L-401 to T-414; T-402 to T-414; L-403 to T-414; V-404 to T-414; L-405 to T-414; A-406 to T-414; L-407 to T-414; T-408 to T-414; and/or V-409 to T-414 of SEQ ID NO: 18. Polynucleotides encoding these polypeptides are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind one or more of these polypeptides. Moreover, fragments and variants of these polypeptides (e.g., fragments as described herein, polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to these polypeptides and polypeptides encoded by the polynucleotide which hybridizes, under stringent conditions, to the polynucleotide encoding these polypeptides, or the complement thereof) are encompassed by the invention. Antibodies that bind these fragments and variants of the invention are also encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these fragments and variants are also encompassed by the invention.

[175] Accordingly, the present invention further provides polypeptides having one or more residues deleted from the carboxy terminus of the amino acid sequence of the polypeptide shown in Figures 9A-B (SEQ ID NO: 18), as described by the general formula 1-n, where n is an integer from 7 to 413, where n corresponds to the position of the amino acid residue identified in SEQ ID NO: 18. Additionally, the invention provides polynucleotides encoding polypeptides comprising, or alternatively consisting of, an amino acid sequence selected from the following group of C-terminal deletions: M-1 to L-413; M-1 to E-412; M-1 to L-411; M-1 to I-410; M-1 to V-409; M-1 to T-408; M-1 to L-407; M-1 to A-406; M-1 to L-405; M-1 to V-404; M-1 to L-403; M-1 to T-402; M-1 to L-401; M-1 to R-400; M-1 to A-399; M-1 to G-398; M-1 to T-397; M-1 to P-396; M-1 to G-395; M-1 to I-394; M-1 to S-393; M-1 to G-392; M-1 to N-391; M-1 to S-390; M-1 to D-389; M-1 to E-388; M-1 to T-387; M-1 to G-386; M-1 to R-385; M-1 to P-384; M-1 to I-383; M-1 to N-382; M-1 to P-381; M-1 to N-380; M-1 to E-379; M-1 to F-378; M-1 to V-377; M-1 to I-376; M-1 to L-375; M-1 to R-374; M-1 to T-373; M-1 to H-372; M-1 to T-371; M-1 to D-370; M-1 to T-369; M-1 to S-368; M-1 to G-367; M-1 to L-366; M-1 to P-365; M-1 to N-364; M-1 to Q-363; M-1 to A-362; M-1 to T-361; M-1 to C-360; M-1 to R-359; M-1 to Y-358; M-1 to M-357; M-1 to S-356; M-1 to G-355; M-1 to N-354; M-1 to L-353; M-1 to E-352; M-1 to A-351; M-1 to P-

WO 02/02587

PCT/US01/20917

350; M-1 to V-349; M-1 to R-348; M-1 to E-347; M-1 to L-346; M-1 to V-345; M-1 to L-344; M-1 to E-343; M-1 to K-342; M-1 to G-341; M-1 to D-340; M-1 to F-339; M-1 to E-338; M-1 to A-337; M-1 to S-336; M-1 to G-335; M-1 to D-334; M-1 to L-333; M-1 to L-332; M-1 to R-331; M-1 to S-330; M-1 to G-329; M-1 to V-328; M-1 to R-327; M-1 to T-326; M-1 to W-325; M-1 to T-324; M-1 to F-323; M-1 to M-322; M-1 to P-321; M-1 to E-320; M-1 to P-319; M-1 to F-318; M-1 to V-317; M-1 to E-316; M-1 to N-315; M-1 to Q-314; M-1 to F-313; M-1 to G-312; M-1 to H-311; M-1 to V-310; M-1 to L-309; M-1 to I-308; M-1 to R-307; M-1 to V-306; M-1 to T-305; M-1 to D-304; M-1 to G-303; M-1 to V-302; M-1 to R-301; M-1 to A-300; M-1 to R-299; M-1 to S-298; M-1 to P-297; M-1 to T-296; M-1 to M-295; M-1 to V-294; M-1 to I-293; M-1 to K-292; M-1 to P-291; M-1 to G-290; M-1 to K-289; M-1 to P-288; M-1 to A-287; M-1 to V-286; M-1 to L-285; M-1 to T-284; M-1 to V-283; M-1 to E-282; M-1 to A-281; M-1 to Q-280; M-1 to M-279; M-1 to P-278; M-1 to M-277; M-1 to S-276; M-1 to L-275; M-1 to A-274; M-1 to P-273; M-1 to H-272; M-1 to K-271; M-1 to V-270; M-1 to E-269; M-1 to C-268; M-1 to S-267; M-1 to F-266; M-1 to L-265; M-1 to A-264; M-1 to E-263; M-1 to N-262; M-1 to D-261; M-1 to I-260; M-1 to Q-259; M-1 to P-258; M-1 to N-257; M-1 to L-256; M-1 to T-255; M-1 to W-254; M-1 to T-253; M-1 to L-252; M-1 to L-251; M-1 to A-250; M-1 to R-249; M-1 to V-248; M-1 to E-247; M-1 to V-246; M-1 to T-245; M-1 to G-244; M-1 to D-243; M-1 to S-242; M-1 to S-241; M-1 to P-240; M-1 to T-239; M-1 to R-238; M-1 to S-237; M-1 to H-236; M-1 to R-235; M-1 to I-234; M-1 to F-233; M-1 to Y-232; M-1 to T-231; M-1 to P-230; M-1 to E-229; M-1 to A-228; M-1 to S-227; M-1 to H-226; M-1 to V-225; M-1 to W-224; M-1 to R-223; M-1 to P-222; M-1 to F-221; M-1 to E-220; M-1 to R-219; M-1 to S-218; M-1 to V-217; M-1 to V-216; M-1 to T-215; M-1 to E-214; M-1 to P-213; M-1 to I-212; M-1 to N-211; M-1 to E-210; M-1 to T-209; M-1 to T-208; M-1 to P-207; M-1 to Q-206; M-1 to L-205; M-1 to L-204; M-1 to I-203; M-1 to N-202; M-1 to P-201; M-1 to D-200; M-1 to P-199; M-1 to T-198; M-1 to L-197; M-1 to G-196; M-1 to R-195; M-1 to S-194; M-1 to P-193; M-1 to R-192; M-1 to E-191; M-1 to T-190; M-1 to Y-189; M-1 to P-188; M-1 to R-187; M-1 to G-186; M-1 to G-185; M-1 to R-184; M-1 to N-183; M-1 to E-182; M-1 to A-181; M-1 to D-180; M-1 to L-179; M-1 to L-178; M-1 to S-177; M-1 to L-176; M-1 to S-175; M-1 to K-174; M-1 to Q-173; M-1 to M-172; M-1 to K-171; M-1 to T-170; M-1 to D-169; M-1 to D-168; M-1 to L-167; M-1 to D-166; M-1 to R-165; M-1 to H-164; M-1 to L-163; M-1 to L-162; M-1 to S-161; M-1 to R-160; M-1 to F-159; M-1 to P-158; M-1 to R-157; M-1 to S-156; M-1 to D-

WO 02/02587

PCT/US01/20917

155; M-1 to Q-154; M-1 to L-153; M-1 to P-152; M-1 to G-151; M-1 to S-150; M-1 to S-149; M-1 to A-148; M-1 to A-147; M-1 to P-146; M-1 to P-145; M-1 to E-144; M-1 to S-143; M-1 to L-142; M-1 to P-141; M-1 to V-140; M-1 to A-139; M-1 to D-138; M-1 to I-137; M-1 to P-136; M-1 to E-135; M-1 to G-134; M-1 to D-133; M-1 to R-132; M-1 to K-131; M-1 to F-130; M-1 to Y-129; M-1 to V-128; M-1 to M-127; M-1 to P-126; M-1 to A-125; M-1 to P-124; M-1 to K-123; M-1 to G-122; M-1 to G-121; M-1 to S-120; M-1 to V-119; M-1 to I-118; M-1 to C-117; M-1 to V-116; M-1 to L-115; M-1 to T-114; M-1 to F-113; M-1 to N-112; M-1 to Q-111; M-1 to A-110; M-1 to Q-109; M-1 to Y-108; M-1 to R-107; M-1 to S-106; M-1 to F-105; M-1 to P-104; M-1 to A-103; M-1 to P-102; M-1 to T-101; M-1 to D-100; M-1 to A-99; M-1 to A-98; M-1 to V-97; M-1 to V-96; M-1 to E-95; M-1 to I-94; M-1 to S-93; M-1 to T-92; M-1 to P-91; M-1 to P-90; M-1 to A-89; M-1 to M-88; M-1 to V-87; M-1 to N-86; M-1 to L-85; M-1 to F-84; M-1 to I-83; M-1 to N-82; M-1 to G-81; M-1 to S-80; M-1 to A-79; M-1 to L-78; M-1 to V-77; M-1 to V-76; M-1 to K-75; M-1 to E-74; M-1 to R-73; M-1 to T-72; M-1 to A-71; M-1 to R-70; M-1 to D-69; M-1 to Y-68; M-1 to I-67; M-1 to G-66; M-1 to V-65; M-1 to H-64; M-1 to C-63; M-1 to E-62; M-1 to Y-61; M-1 to P-60; M-1 to G-59; M-1 to N-58; M-1 to D-57; M-1 to S-56; M-1 to L-55; M-1 to R-54; M-1 to V-53; M-1 to E-52; M-1 to P-51; M-1 to L-50; M-1 to R-49; M-1 to V-48; M-1 to T-47; M-1 to S-46; M-1 to Q-45; M-1 to Y-44; M-1 to V-43; M-1 to L-42; M-1 to D-41; M-1 to E-40; M-1 to R-39; M-1 to K-38; M-1 to R-37; M-1 to Y-36; M-1 to N-35; M-1 to E-34; M-1 to M-33; M-1 to H-32; M-1 to S-31; M-1 to Y-30; M-1 to N-29; M-1 to T-28; M-1 to S-27; M-1 to F-26; M-1 to M-25; M-1 to A-24; M-1 to D-23; M-1 to F-22; M-1 to T-21; M-1 to F-20; M-1 to I-19; M-1 to K-18; M-1 to Q-17; M-1 to K-16; M-1 to I-15; M-1 to T-14; M-1 to G-13; M-1 to G-12; M-1 to D-11; M-1 to T-10; M-1 to V-9; M-1 to R-8; and/or M-1 to Y-7 of SEQ ID NO: 18. Polynucleotides encoding these polypeptides are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind one or more of these polypeptides. Moreover, fragments and variants of these polypeptides (e.g., fragments as described herein, polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to these polypeptides and polypeptides encoded by the polynucleotide which hybridizes, under stringent conditions, to the polynucleotide encoding these polypeptides, or the complement thereof) are encompassed by the invention. Antibodies that bind these fragments and variants of the invention are also encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these fragments and variants are also encompassed by the invention.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[176] Also as mentioned above, even if deletion of one or more amino acids from the C-terminus of a protein results in modification or loss of one or more biological functions of the protein (e.g., ability to inhibit the Mixed Lymphocyte Reaction), other functional activities (e.g., biological activities, ability to multimerize, ability to bind receptor, ability to generate antibodies, ability to bind antibodies) may still be retained. For example, the ability of the shortened polypeptide to induce and/or bind to antibodies which recognize the complete or mature forms of the polypeptide generally will be retained when less than the majority of the residues of the complete or mature polypeptide are removed from the C-terminus. Whether a particular polypeptide lacking C-terminal residues of a complete polypeptide retains such immunologic activities can readily be determined by routine methods described herein and otherwise known in the art. It is not unlikely that a polypeptide with a large number of deleted C-terminal amino acid residues may retain some biological or immunogenic activities. In fact, peptides composed of as few as six amino acid residues may often evoke an immune response.

[177] In addition, any of the above listed N- or C-terminal deletions can be combined to produce a N- and C-terminal deleted polypeptide. The invention also provides polypeptides comprising, or alternatively consisting of, one or more amino acids deleted from both the amino and the carboxyl termini, which may be described generally as having residues m-n of SEQ ID NO: 18, where n and m are integers as described above. Polynucleotides encoding these polypeptides are also encompassed by the invention. The present invention is also directed to proteins containing polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% or 99% identical to a polypeptide sequence set forth herein as m-n. In preferred embodiments, the application is directed to proteins containing polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% or 99% identical to polypeptides having the amino acid sequence of the specific N- and C-terminal deletions recited herein. Polynucleotides encoding these polypeptides are also encompassed by the invention.

[178] Also included are polynucleotide sequences encoding a polypeptide consisting of a portion of the complete amino acid sequence encoded by a cDNA clone contained in ATCC Deposit No. PTA-2332, where this portion excludes any integer of amino acid residues from 1 to about 408 amino acids from the amino terminus of the complete amino acid sequence encoded by a cDNA clone contained in ATCC Deposit No. PTA-2332, or any integer of amino acid residues from 1 to about 408 amino acids from the carboxy terminus, or any

WO 02/02587

PCT/US01/20917

combination of the above amino terminal and carboxy terminal deletions, of the complete amino acid sequence encoded by the cDNA clone contained in ATCC Deposit No. PTA-2332. Polypeptides encoded by these polynucleotides also are encompassed by the invention.

[179] As described herein or otherwise known in the art, the polynucleotides of the invention have uses that include, but are not limited to, serving as probes or primers in chromosome identification, chromosome mapping, and linkage analysis.

[180] It has been discovered that this gene is expressed in neural tissues.

[181] Polynucleotides and polypeptides of the invention are useful as reagents for differential identification of neural system tissue(s) or cell type(s) present in a biological sample and for diagnosis of diseases and conditions which include, but are not limited to, diseases and/or disorders involving immune system activation, stimulation and/or surveillance, particularly involving T cells and/or neutrophils, as well as diseases and/or disorders of the neural system. Similarly, polypeptides and antibodies directed to these polypeptides are useful in providing immunological probes for differential identification of the tissue(s) or cell type(s). Particularly contemplated are the use of antibodies directed against the extracellular portion of this protein which act as antagonists for the activity of the B7-H10 protein. Such antagonistic antibodies would be useful for the prevention and/or inhibition of such biological activities as are disclosed herein (e.g., T cell modulated activities).

[182] For a number of disorders of the above tissues or cells, particularly of the neural and immune systems, expression of this gene at significantly higher or lower levels may be routinely detected in certain tissues or cell types (e.g., immune, neural, cancerous and wounded tissues) or bodily fluids (e.g., lymph, serum, plasma, urine, synovial fluid and spinal fluid) or another tissue or cell sample taken from an individual having such a disorder, relative to the standard gene expression level, i.e., the expression level in healthy tissue or bodily fluid from an individual not having the disorder.

[183] The homology to members of the B7 family of ligands, indicates that the polynucleotides and polypeptides corresponding to this gene are useful for the diagnosis, detection and/or treatment of diseases and/or disorders involving immune system activation, stimulation and/or surveillance, particularly as relating to T cells and/or neutrophils. In particular, the translation product of the B7-H10 gene may be involved in the costimulation

WO 02/02587

PCT/US01/20917

of T cells, binding to ICOS, and/or may play a role in modulation of the expression of particular cytokines, for example.

[184] More generally, the tissue distribution in immune system cells indicates that this gene product may be involved in the regulation of cytokine production, antigen presentation, or other processes that may also suggest a usefulness in the treatment of cancer (e.g. by boosting immune responses). Since the gene is expressed in cells of immune system origin, the gene or protein, as well as, antibodies directed against the protein may show utility as a tumor marker and/or immunotherapy targets for the above listed tissues. Therefore it may be also used as an agent for immunological disorders including arthritis, asthma, immune deficiency diseases such as AIDS, leukemia, rheumatoid arthritis, inflammatory bowel disease, scpsis, acne, and psoriasis. In addition, this gene product may have commercial utility in the expansion of stem cells and committed progenitors of various blood lineages, and in the differentiation and/or proliferation of various cell types. Protein, as well as, antibodies directed against the protein may show utility as a tumor marker and/or immunotherapy targets for the above listed tissues. Furthermore, the protein may also be used to determine biological activity, to raise antibodies, as tissue markers, to isolate cognate ligands or receptors, to identify agents that modulate their interactions, in addition to its use as a nutritional supplement.

[185] Expression within neural tissue suggests that polynucleotides, translation products and antibodies corresponding to this clone are useful for the detection and/or treatment of neurodegenerative disease states and behavioural disorders such as Alzheimers Disease, Parkinsons Disease, Huntingtons Disease, Tourette Syndrome, schizophrenia, mania, dementia, paranoia, obsessive compulsive disorder, panic disorder, learning disabilities, ALS, psychoses, autism, and altered behaviors, including disorders in feeding, sleep patterns, balance, and perception. In addition, the gene or gene product may also play a role in the treatment and/or detection of developmental disorders associated with the developing embryo, or sexually-linked disorders. Additionally, translation products corresponding to this gene, as well as antibodies directed against these translation products, may show utility as a tumor marker and/or immunotherapy targets for the above listed tissues.

FEATURES OF PROTEIN ENCODED BY GENE NO: 6

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[186] For purposes of this application, this gene and its corresponding translation product are known as the B7-H12 gene and B7-H12 protein. The B7-H12 gene shares sequence homology with members of the B7 family of ligands (i.e., B7-H1 (See Genbank Accession AAP25807)). These proteins and their corresponding receptors play vital roles in the growth, differentiation, activation, proliferation and death of T cells. For example, some members of this family (i.e., B7-H1) are involved in costimulation of the T cell response, as well as inducing increased cytokine production, while other family members are involved in the negative regulation of the T cell response. Therefore, agonists and antagonists such as antibodies or small molecules directed against the B7-H12 gene are useful for treating T cell mediated immune system disorders, as well as disorders of other immune system cells, such as for example, neutrophils, macrophages, and leukocytes.

[187] Preferred polypeptides of the present invention comprise, or alternatively consist of, one, two, three, four, or all four of the immunogenic epitopes of the extracellular portion of the B7-H12 protein shown in SEQ ID NO: 19 as residues: Pro-54 to Glu-59, Lys-78 to Arg-94, Ala-115 to Ile-120, and Gln-126 to Cys-131. Polynucleotides encoding these polypeptides are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind one or more of these polypeptides. Moreover, fragments and variants of these polypeptides (e.g., fragments as described herein, polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to these polypeptides and polypeptides encoded by the polynucleotide which hybridizes, under stringent conditions, to the polynucleotide encoding these polypeptides, or the complement thereof) are encompassed by the invention. Antibodies that bind these fragments and variants of the invention are also encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these fragments and variants are also encompassed by the invention.

[188] In additional nonexclusive embodiments, polypeptides of the invention comprise, or alternatively consist of, an amino acid sequence selected from the group consisting of:

[189] The mature domain of the B7-H12 protein:
 QVTVVGPTDFLAMVGENTTLRCCLSPBENAEDMEVRWFQSQFSPA V FVYKGGRRER
 TEEQKEBYRGRITTFVSKDSRGSVALIHNVTAE DNGIYQC YFQEGRSCNEALHLVVA
 DQHNPLSWIPFQGTLSL (SEQ ID NO: 44) and/or

[190] The leader sequence of the B7-H12 protein:
 MEPAAALHFSRPASLLLLLSLCALVSA (SEQ ID NO: 45). Polynucleotides encoding

WO 02/02587

PCT/US01/20917

these polypeptides are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind one or more of these polypeptides. Moreover, fragments and variants of these polypeptides (e.g., fragments as described herein, polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to these polypeptides and polypeptides encoded by the polynucleotide which hybridizes, under stringent conditions, to the polynucleotide encoding these polypeptides, or the complement thereof) are encompassed by the invention. Antibodies that bind these fragments and variants of the invention are also encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these fragments and variants are also encompassed by the invention.

[191] Also preferred are polypeptides comprising, or alternatively consisting of, fragments of the mature portion of the B7-H12 protein demonstrating functional activity (SEQ ID NO: 44). Fragments and/or variants of these polypeptides, such as, for example, fragments and/or variants as described herein, are encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these polypeptides (including fragments and/or variants) are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind these polypeptides.

[192] By functional activity is meant, a polypeptide fragment capable of displaying one or more known functional activities associated with the full-length (complete) B7-H12 protein. Such functional activities include, but are not limited to, biological activity (e.g., T cell costimulatory activity, ability to bind ICOS, CD28 or CTLA4, and ability to induce or inhibit cytokine production), antigenicity [ability to bind (or compete with a B7-H12 polypeptide for binding) to an anti-B7-H12 antibody], immunogenicity (ability to generate antibody which binds to a B7-H12 polypeptide), ability to form multimers with B7-H12 polypeptides of the invention, and ability to bind to a receptor for a B7-H12 polypeptide.

[193] Figures 11A-B show the nucleotide (SEQ ID NO: 7) and deduced amino acid sequence (SEQ ID NO: 19) corresponding to this gene.

[194] Figure 12 shows an analysis of the amino acid sequence (SEQ ID NO: 19). Alpha, beta, turn and coil regions; hydrophilicity and hydrophobicity; amphipathic regions; flexible regions; antigenic index and surface probability are shown, and all were generated using the default settings of the recited computer algorithms. In the "Antigenic Index or Jameson-Wolf" graph, the positive peaks indicate locations of the highly antigenic regions of the protein, i.e., regions from which epitope-bearing peptides of the invention can be obtained. Polypeptides comprising, or alternatively consisting of, domains defined by these graphs are

WO 02/02587

PCT/US01/20917

contemplated by the present invention, as are polynucleotides encoding these polypeptides. The data presented in Figure 12 are also represented in tabular form in Table 8. The columns are labeled with the headings "Res", "Position", and Roman Numerals I-XIV. The column headings refer to the following features of the amino acid sequence presented in Figure 12, and Table 8: "Res": amino acid residue of SEQ ID NO: 19 and Figures 11A-B; "Position": position of the corresponding residue within SEQ ID NO: 19 and Figures 11A-B; I: Alpha, Regions - Garnier-Robson; II: Alpha, Regions - Chou-Fasman; III: Beta, Regions - Garnier-Robson; IV: Beta, Regions - Chou-Fasman; V: Turn, Regions - Garnier-Robson; VI: Turn, Regions - Chou-Fasman; VII: Coil, Regions - Garnier-Robson; VIII: Hydrophilicity Plot - Kyte-Doolittle; IX: Hydrophobicity Plot - Hopp-Woods; X: Alpha, Amphipathic Regions - Eisenberg; XI: Beta, Amphipathic Regions - Eisenberg; XII: Flexible Regions - Karplus-Schultz; XIII: Antigenic Index - Jameson-Wolf; and XIV: Surface Probability Plot - Emini. Preferred embodiments of the invention in this regard include fragments that comprise, or alternatively consisting of, one or more of the following regions: alpha-helix and alpha-helix forming regions ("alpha-regions"), beta-sheet and beta-sheet forming regions ("beta-regions"), turn and turn-forming regions ("turn-regions"), coil and coil-forming regions ("coil-regions"), hydrophilic regions, hydrophobic regions, alpha amphipathic regions, beta amphipathic regions, flexible regions, surface-forming regions and high antigenic index regions. The data representing the structural or functional attributes of the protein set forth in Figure 12 and/or Table 8, as described above, was generated using the various modules and algorithms of the DNA*STAR set on default parameters. In a preferred embodiment, the data presented in columns VIII, IX, XIII, and XIV of Table 8 can be used to determine regions of the protein which exhibit a high degree of potential for antigenicity. Regions of high antigenicity are determined from the data presented in columns VIII, IX, XIII, and/or XIV by choosing values which represent regions of the polypeptide which are likely to be exposed on the surface of the polypeptide in an environment in which antigen recognition may occur in the process of initiation of an immune response. Certain preferred regions in these regards are set out in Figure 12, but may, as shown in Table 8, be represented or identified by using tabular representations of the data presented in Figure 12. The DNA*STAR computer algorithm used to generate Figure 12 (set on the original default parameters) was used to present the data in Figure 12 in a tabular format (See Table 8). The tabular format of the data

WO 02/02587

PCT/US01/20917

in Figure 12 (See Figure 8) is used to easily determine specific boundaries of a preferred region.

[195] The present invention is further directed to fragments of the polynucleotide sequences described herein. By a fragment of, for example, the polynucleotide sequence of a deposited cDNA or the nucleotide sequence shown in SEQ ID NO: 7, is intended polynucleotide fragments at least about 15nt, and more preferably at least about 20 nt, at least about 25nt, still more preferably at least about 30 nt, at least about 35nt, and even more preferably, at least about 40 nt in length, at least about 45nt in length, at least about 50nt in length, at least about 60nt in length, at least about 70nt in length, at least about 80nt in length, at least about 90nt in length, at least about 100nt in length, at least about 125nt in length, at least about 150nt in length, at least about 175nt in length, which are useful as diagnostic probes and primers as discussed herein. Of course, larger fragments 200-1500 nt in length are also useful according to the present invention, as are fragments corresponding to most, if not all, of the nucleotide sequence of a deposited cDNA or as shown in SEQ ID NO: 7. By a fragment at least 20 nt in length, for example, is intended fragments which include 20 or more contiguous bases from the nucleotide sequence of a deposited cDNA or the nucleotide sequence as shown in SEQ ID NO: 7. In this context "about" includes the particularly recited size, an sizes larger or smaller by several (5, 4, 3, 2, or 1) nucleotides, at either terminus or at both termini. Representative examples of polynucleotide fragments of the invention include, for example, fragments that comprise, or alternatively, consist of, a sequence from about nucleotide 1 to about 50, from about 51 to about 100, from about 101 to about 150, from about 151 to about 200, from about 201 to about 250, from about 251 to about 300, from about 301 to about 350, from about 351 to about 400, from about 401 to about 450, from about 451 to about 500, and from about 501 to about 550, and from about 551 to about 600, from about 601 to about 650, from about 651 to about 700, from about 701 to about 750, from about 751 to about 800, and from about 801 to about 860, of SEQ ID NO: 7, or the complementary strand thereto, or the cDNA contained in a deposited clone. In this context "about" includes the particularly recited ranges, and ranges larger or smaller by several (5, 4, 3, 2, or 1) nucleotides, at either terminus or at both termini. In additional embodiments, the polynucleotides of the invention encode functional attributes of the corresponding protein.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[196] Preferred polypeptide fragments of the invention comprise, or alternatively consist of, the secreted protein having a continuous series of deleted residues from the amino or the carboxy terminus, or both. Particularly, N-terminal deletions of the B7-H1.2 polypeptide can be described by the general formula m-159 where m is an integer from 2 to 154, where m corresponds to the position of the amino acid residue identified in SEQ ID NO: 19. More in particular, the invention provides polynucleotides encoding polypeptides comprising, or alternatively consisting of, an amino acid sequence selected from the group: E-2 to L-159; P-3 to L-159; A-4 to L-159; A-5 to L-159; A-6 to L-159; L-7 to L-159; H-8 to L-159; F-9 to L-159; S-10 to L-159; R-11 to L-159; P-12 to L-159; A-13 to L-159; S-14 to L-159; L-15 to L-159; L-16 to L-159; L-17 to L-159; L-18 to L-159; L-19 to L-159; S-20 to L-159; L-21 to L-159; C-22 to L-159; A-23 to L-159; L-24 to L-159; V-25 to L-159; S-26 to L-159; A-27 to L-159; Q-28 to L-159; V-29 to L-159; T-30 to L-159; V-31 to L-159; V-32 to L-159; G-33 to L-159; P-34 to L-159; T-35 to L-159; D-36 to L-159; P-37 to L-159; I-38 to L-159; L-39 to L-159; A-40 to L-159; M-41 to L-159; V-42 to L-159; G-43 to L-159; E-44 to L-159; N-45 to L-159; T-46 to L-159; T-47 to L-159; L-48 to L-159; R-49 to L-159; C-50 to L-159; C-51 to L-159; L-52 to L-159; S-53 to L-159; P-54 to L-159; E-55 to L-159; E-56 to L-159; N-57 to L-159; A-58 to L-159; E-59 to L-159; D-60 to L-159; M-61 to L-159; E-62 to L-159; V-63 to L-159; R-64 to L-159; W-65 to L-159; F-66 to L-159; Q-67 to L-159; S-68 to L-159; Q-69 to L-159; F-70 to L-159; S-71 to L-159; P-72 to L-159; A-73 to L-159; V-74 to L-159; F-75 to L-159; V-76 to L-159; Y-77 to L-159; K-78 to L-159; G-79 to L-159; G-80 to L-159; R-81 to L-159; E-82 to L-159; R-83 to L-159; T-84 to L-159; E-85 to L-159; E-86 to L-159; Q-87 to L-159; K-88 to L-159; E-89 to L-159; E-90 to L-159; Y-91 to L-159; R-92 to L-159; G-93 to L-159; R-94 to L-159; T-95 to L-159; T-96 to L-159; F-97 to L-159; V-98 to L-159; S-99 to L-159; K-100 to L-159; D-101 to L-159; S-102 to L-159; R-103 to L-159; G-104 to L-159; S-105 to L-159; V-106 to L-159; A-107 to L-159; L-108 to L-159; I-109 to L-159; I-110 to L-159; H-111 to L-159; N-112 to L-159; V-113 to L-159; T-114 to L-159; A-115 to L-159; E-116 to L-159; D-117 to L-159; N-118 to L-159; G-119 to L-159; I-120 to L-159; Y-121 to L-159; Q-122 to L-159; C-123 to L-159; Y-124 to L-159; F-125 to L-159; Q-126 to L-159; E-127 to L-159; G-128 to L-159; R-129 to L-159; S-130 to L-159; C-131 to L-159; N-132 to L-159; E-133 to L-159; A-134 to L-159; I-135 to L-159; L-136 to L-159; H-137 to L-159; L-138 to L-159; V-139 to L-159; V-140 to L-159; A-141 to L-159; D-142 to L-159; Q-143 to L-159; H-144 to L-159; N-145 to L-159; P-146 to L-159; L-147 to L-159; S-148 to L-159;

WO 02/02587

PCT/US01/20917

W-149 to L-159; I-150 to L-159; P-151 to L-159; J-152 to L-159; P-153 to L-159; and/or Q-154 to L-159 of SEQ ID NO: 19. Polynucleotides encoding these polypeptides are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind one or more of these polypeptides. Moreover, fragments and variants of these polypeptides (e.g., fragments as described herein, polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to these polypeptides and polypeptides encoded by the polynucleotide which hybridizes, under stringent conditions, to the polynucleotide encoding these polypeptides, or the complement thereof) are encompassed by the invention. Antibodies that bind these fragments and variants of the invention are also encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these fragments and variants are also encompassed by the invention.

[197] Accordingly, the present invention further provides polypeptides having one or more residues deleted from the carboxy terminus of the amino acid sequence of the polypeptide shown in Figures 11A-B (SEQ ID NO: 19), as described by the general formula 1-n, where n is an integer from 7 to 158, where n corresponds to the position of the amino acid residue identified in SEQ ID NO: 19. Additionally, the invention provides polynucleotides encoding polypeptides comprising, or alternatively consisting of, an amino acid sequence selected from the following group of C-terminal deletions: M-1 to S-158; M-1 to L-157; M-1 to T-156; M-1 to G-155; M-1 to Q-154; M-1 to P-153; M-1 to I-152; M-1 to P-151; M-1 to I-150; M-1 to W-149; M-1 to S-148; M-1 to L-147; M-1 to P-146; M-1 to N-145; M-1 to H-144; M-1 to Q-143; M-1 to D-142; M-1 to A-141; M-1 to V-140; M-1 to V-139; M-1 to L-138; M-1 to H-137; M-1 to L-136; M-1 to I-135; M-1 to A-134; M-1 to E-133; M-1 to N-132; M-1 to C-131; M-1 to S-130; M-1 to R-129; M-1 to G-128; M-1 to E-127; M-1 to Q-126; M-1 to F-125; M-1 to Y-124; M-1 to C-123; M-1 to Q-122; M-1 to Y-121; M-1 to I-120; M-1 to G-119; M-1 to N-118; M-1 to D-117; M-1 to E-116; M-1 to A-115; M-1 to T-114; M-1 to V-113; M-1 to N-112; M-1 to H-111; M-1 to I-110; M-1 to I-109; M-1 to L-108; M-1 to A-107; M-1 to V-106; M-1 to S-105; M-1 to G-104; M-1 to R-103; M-1 to S-102; M-1 to D-101; M-1 to K-100; M-1 to S-99; M-1 to V-98; M-1 to F-97; M-1 to T-96; M-1 to T-95; M-1 to R-94; M-1 to G-93; M-1 to R-92; M-1 to Y-91; M-1 to E-90; M-1 to E-89; M-1 to K-88; M-1 to Q-87; M-1 to E-86; M-1 to E-85; M-1 to T-84; M-1 to R-83; M-1 to E-82; M-1 to R-81; M-1 to G-80; M-1 to G-79; M-1 to K-78; M-1 to Y-77; M-1 to V-76; M-1 to F-75; M-1 to V-74; M-1 to A-73; M-1 to P-72; M-1 to S-71; M-1 to F-70; M-1 to Q-69; M-1 to S-68; M-1 to Q-67; M-1 to F-66; M-1 to W-65; M-1 to R-64; M-1 to V-63; M-1 to E-

WO 02/02587

PCT/US01/20917

62; M-1 to M-61; M-1 to D-60; M-1 to E-59; M-1 to A-58; M-1 to N-57; M-1 to E-56; M-1 to E-55; M-1 to P-54; M-1 to S-53; M-1 to L-52; M-1 to C-51; M-1 to C-50; M-1 to R-49; M-1 to L-48; M-1 to T-47; M-1 to T-46; M-1 to N-45; M-1 to E-44; M-1 to G-43; M-1 to V-42; M-1 to M-41; M-1 to A-40; M-1 to L-39; M-1 to I-38; M-1 to P-37; M-1 to D-36; M-1 to T-35; M-1 to P-34; M-1 to G-33; M-1 to V-32; M-1 to V-31; M-1 to T-30; M-1 to V-29; M-1 to Q-28; M-1 to A-27; M-1 to S-26; M-1 to V-25; M-1 to L-24; M-1 to A-23; M-1 to C-22; M-1 to L-21; M-1 to S-20; M-1 to L-19; M-1 to L-18; M-1 to L-17; M-1 to L-16; M-1 to L-15; M-1 to S-14; M-1 to A-13; M-1 to P-12; M-1 to R-11; M-1 to S-10; M-1 to F-9; M-1 to H-8; and/or M-1 to L-7 of SEQ ID NO: 19. Polynucleotides encoding these polypeptides are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind one or more of these polypeptides. Moreover, fragments and variants of these polypeptides (e.g., fragments as described herein, polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to these polypeptides and polypeptides encoded by the polynucleotide which hybridizes, under stringent conditions, to the polynucleotide encoding these polypeptides, or the complement thereof) are encompassed by the invention. Antibodies that bind these fragments and variants of the invention are also encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these fragments and variants are also encompassed by the invention.

[198] Also as mentioned above, even if deletion of one or more amino acids from the C-terminus of a protein results in modification or loss of one or more biological functions of the protein (e.g., ability to inhibit the Mixed Lymphocyte Reaction), other functional activities (e.g., biological activities, ability to multimerize, ability to bind receptor, ability to generate antibodies, ability to bind antibodies) may still be retained. For example, the ability of the shortened polypeptide to induce and/or bind to antibodies which recognize the complete or mature forms of the polypeptide generally will be retained when less than the majority of the residues of the complete or mature polypeptide are removed from the C-terminus. Whether a particular polypeptide lacking C-terminal residues of a complete polypeptide retains such immunologic activities can readily be determined by routine methods described herein and otherwise known in the art. It is not unlikely that a polypeptide with a large number of deleted C-terminal amino acid residues may retain some biological or immunogenic activities. In fact, peptides composed of as few as six amino acid residues may often evoke an immune response.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[199] In addition, any of the above listed N- or C-terminal deletions can be combined to produce a N- and C-terminal deleted polypeptide. The invention also provides polypeptides comprising, or alternatively consisting of, one or more amino acids deleted from both the amino and the carboxyl termini, which may be described generally as having residues m-n of SEQ ID NO: 19, where n and m are integers as described above. Fragments and/or variants of these polypeptides, such as, for example, fragments and/or variants as described herein, are encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these polypeptides (including fragments and/or variants) are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind these polypeptides.

[200] The present invention is also directed to proteins containing polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% or 99% identical to a polypeptide sequence set forth herein as m-n. In preferred embodiments, the application is directed to proteins containing polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% or 99% identical to polypeptides having the amino acid sequence of the specific N- and C-terminal deletions recited herein. Fragments and/or variants of these polypeptides, such as, for example, fragments and/or variants as described herein, are encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these polypeptides (including fragments and/or variants) are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind these polypeptides.

[201] Also included are polynucleotide sequences encoding a polypeptide consisting of a portion of the complete amino acid sequence encoded by a cDNA clone contained in ATCC Deposit No. PTA-2332, where this portion excludes any integer of amino acid residues from 1 to about 153 amino acids from the amino terminus of the complete amino acid sequence encoded by a cDNA clone contained in ATCC Deposit No. PTA-2332, or any integer of amino acid residues from 1 to about 153 amino acids from the carboxy terminus, or any combination of the above amino terminal and carboxy terminal deletions, of the complete amino acid sequence encoded by the cDNA clone contained in ATCC Deposit No. PTA-2332. Polypeptides encoded by these polynucleotides also are encompassed by the invention.

[202] As described herein or otherwise known in the art, the polynucleotides of the invention have uses that include, but are not limited to, serving as probes or primers in chromosome identification, chromosome mapping, and linkage analysis.

[203] It has been discovered that this gene is expressed in dendritic cells, T cells, and Hodgkin's lymphoma.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[204] Polynucleotides, translation products and antibodies corresponding to this gene are useful as reagents for differential identification of immune system tissue(s) or cell type(s) present in a biological sample and for diagnosis of diseases and conditions which include, but are not limited to, diseases and/or disorders involving immune system activation, stimulation and/or surveillance, particularly involving T cells, in addition to other immune system cells such as dendritic cells, neutrophils, and leukocytes. Similarly, polypeptides and antibodies directed to these polypeptides are useful in providing immunological probes for differential identification of the tissue(s) or cell type(s). Particularly contemplated are the use of antibodies directed against the extracellular portion of this protein which act as antagonists for the activity of the B7-H12 protein. Such antagonistic antibodies would be useful for the prevention and/or inhibition of such biological activities as are disclosed herein (e.g. T cell modulated activities).

[205] For a number of disorders of the above tissues or cells, particularly of the immune system, expression of this gene at significantly higher or lower levels may be routinely detected in certain tissues or cell types (e.g., immune, cancerous and wounded tissues) or bodily fluids (e.g., lymph, serum, plasma, urine, synovial fluid and spinal fluid) or another tissue or cell sample taken from an individual having such a disorder, relative to the standard gene expression level, i.e., the expression level in healthy tissue or bodily fluid from an individual not having the disorder.

[206] The tissue distribution in immune cells (e.g., T-cells, dendritic cells), and the homology to members of the B7 family of ligands, indicates that the polynucleotides, translation products and antibodies corresponding to this gene are useful for the diagnosis, detection and/or treatment of diseases and/or disorders involving immune system activation, stimulation and/or surveillance, particularly as relating to T cells, neutrophils, dendritic cells, leukocytes, and other immune system cells. In particular, the translation product of the B7-H12 gene may be involved in the costimulation of T cells, binding to ICOS, and/or may play a role in modulation of the expression of particular cytokines, for example.

[207] More generally, the tissue distribution in immune system cells indicates that this gene product may be involved in the regulation of cytokine production, antigen presentation, or other processes that may also suggest a usefulness in the treatment of cancer (e.g., by boosting immune responses). Since the gene is expressed in cells of immune system origin,

WO 02/02587

PCT/US01/20917

polynucleotides, translation products and antibodies corresponding to this gene may show utility as a tumor marker and/or immunotherapy targets for the above listed tissues.

[208] Polynucleotides, translation products and antibodies corresponding to this gene may be also used as an agent for immunological disorders including arthritis, asthma, immune deficiency diseases such as AIDS, leukemia, rheumatoid arthritis, inflammatory bowel disease, sepsis, acne, and psoriasis. In addition, this gene product may have commercial utility in the expansion of stem cells and committed progenitors of various blood lineages, and in the differentiation and/or proliferation of various cell types. Furthermore, the protein may also be used to determine biological activity, to raise antibodies, as tissue markers, to isolate cognate ligands or receptors, to identify agents that modulate their interactions, in addition to its use as a nutritional supplement.

FEATURES OF PROTEIN ENCODED BY GENE NO: 7

[209] For purposes of this application, this gene and its corresponding translation product are known as the B7-H13 gene and B7-H13 protein. This protein is believed to reside as a cell-surface molecule, and the transmembrane domain of this protein is believed to approximately embody the following preferred amino acid residues: LGII.CCGLFFGIV (SEQ ID NO: 46). Polynucleotides encoding these polypeptides are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind one or more of these polypeptides. Moreover, fragments and variants of these polypeptides (e.g., fragments as described herein, polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to these polypeptides and polypeptides encoded by the polynucleotide which hybridizes, under stringent conditions, to the polynucleotide encoding these polypeptides, or the complement thereof) are encompassed by the invention. Antibodies that bind these fragments and variants of the invention are also encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these fragments and variants are also encompassed by the invention. As one skilled in the art would understand, the transmembrane domain was predicted using computer analysis, and the transmembrane domain may vary by one, two, three, four, five, six, seven, eight, nine, and/or ten amino acids from the N and C-termini of the predicted transmembrane domain.

[210] The B7-H13 gene shares sequence homology with members of the B7 family of ligands (i.e., B7-H1 (See Genbank Accession AAF25807)). These proteins and their corresponding receptors play vital roles in the growth, differentiation, activation, proliferation

WO 02/02587

PCT/US01/20917

and death of T cells. For example, some members of this family (i.e., B7-H1) are involved in costimulation of the T cell response, as well as inducing increased cytokine production, while other family members are involved in the negative regulation of the T cell response. Therefore, agonists and antagonists such as antibodies or small molecules directed against the B7-H13 gene are useful for treating T cell mediated immune system disorders, as well as disorders of other immune system cells, such as for example, neutrophils, macrophage, and leukocytes.

[211] Preferred polypeptides of the present invention comprise, or alternatively consist of, one, two, three, four, five, six, seven, or all seven of the immunogenic epitopes of the extracellular portion of the B7-H13 protein shown in SEQ ID NO: 20 as residues: Tyr-67 to Pro-74, Ser-117 to Gln-123, Pro-161 to Met-185, His-311 to Arg-327, Val-345 to Trp-353, Arg-359 to Glu-367, and Pro-447 to Gln-461. Polynucleotides encoding these polypeptides are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind one or more of these polypeptides. Moreover, fragments and variants of these polypeptides (e.g., fragments as described herein, polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to these polypeptides and polypeptides encoded by the polynucleotide which hybridizes, under stringent conditions, to the polynucleotide encoding these polypeptides, or the complement thereof) are encompassed by the invention. Antibodies that bind these fragments and variants of the invention are also encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these fragments and variants are also encompassed by the invention.

[212] In additional nonexclusive embodiments, polypeptides of the invention comprise, or alternatively consist of, an amino acid sequence selected from the group consisting of:

[213] The extracellular domain of the B7-H13 protein:
 MAIMLSLVLSLLKLGSGQWQVFGPDKPVQALVGEDAAFSCFLSPKTNAEAMEVRRFF
 RGQFSSVVHLYRDGKIQPFMQMPQYQGRTKLVKDSIAEGRISLRLENITVLDAGLYG
 CRISSQSYQKAIWELQVSAIGSVPLISITGYVDRDIQLICQSSGWFPPTAKWKGPK
 GQDLSTDSRTNRDMHGLFDVEISLTVQENAGSISCSMRHAHLSREVESRVQIGDTFFE
 PISWHLATKV (SEQ ID NO: 48),

[214] The mature extracellular domain of the B7-H13 protein:
 QWQVFGPDKPVQALVGEDAAFSCFLSPKTNAEAMEVRRFGRGQFSSVVHLYRDGKD
 QPFMQMPQYQGRTKLVKDSIAEGRISLRLENITVLDAGLYGCRISQSYQKAIWEL

WO 02/02587

PCT/US01/20917

QVSALGVSPLISITGYVDRDIQLLCQSSGWFPRTAKWKGPQGQDLSTDSRTNRDMH
GLFDVEISLTVQENAGSISCSMRHAHLSREVESRVQIGDTFFEPISWHLATEV (SEQ ID
NO: 49), and/or

[215] The leader sequence of the B7-H13 protein: MALMSLVLSLLKLGSG (SEQ ID NO: 47). Polynucleotides encoding these polypeptides are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind one or more of these polypeptides. Moreover, fragments and variants of these polypeptides (e.g., fragments as described herein, polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to these polypeptides and polypeptides encoded by the polynucleotide which hybridizes, under stringent conditions, to the polynucleotide encoding these polypeptides, or the complement thereof) are encompassed by the invention. Antibodies that bind these fragments and variants of the invention are also encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these fragments and variants are also encompassed by the invention.

[216] Also preferred are polypeptides comprising, or alternatively consisting of, fragments of the mature extracellular portion of the B7-H13 protein demonstrating functional activity (SEQ ID NO: 49). Fragments and/or variants of these polypeptides, such as, for example, fragments and/or variants as described herein, are encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these polypeptides (including fragments and/or variants) are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind these polypeptides.

[217] By functional activity is meant, a polypeptide fragment capable of displaying one or more known functional activities associated with the full-length (complete) B7-H13 protein. Such functional activities include, but are not limited to, biological activity (e.g., T cell costimulatory activity, ability to bind ICOS, CD28 or CTLA4, and ability to induce or inhibit cytokine production), antigenicity [ability to bind (or compete with a B7-H13 polypeptide for binding) to an anti-B7-H13 antibody], immunogenicity (ability to generate antibody which binds to a B7-H13 polypeptide), ability to form multimers with B7-H13 polypeptides of the invention, and ability to bind to a receptor for a B7-H13 polypeptide.

[218] Figures 13A-C show the nucleotide (SEQ ID NO: 8) and deduced amino acid sequence (SEQ ID NO: 20) corresponding to this gene.

[219] Figure 14 shows an analysis of the amino acid sequence (SEQ ID NO: 20). Alpha, beta, turn and coil regions; hydrophilicity and hydrophobicity; amphipathic regions; flexible regions; antigenic index and surface probability are shown, and all were generated using the

WO 02/02587

PCT/US01/20917

default settings of the recited computer algorithms. In the "Antigenic Index or Jameson-Wolf" graph, the positive peaks indicate locations of the highly antigenic regions of the protein, i.e., regions from which epitope-bearing peptides of the invention can be obtained. Polypeptides comprising, or alternatively consisting of, domains defined by these graphs are contemplated by the present invention, as are polynucleotides encoding these polypeptides. The data presented in Figure 14 are also represented in tabular form in Table 9. The columns are labeled with the headings "Res", "Position", and Roman Numerals I-XIV. The column headings refer to the following features of the amino acid sequence presented in Figure 14, and Table 9: "Res": amino acid residue of SEQ ID NO: 20 and Figures 13A-C; "Position": position of the corresponding residue within SEQ ID NO: 20 and Figures 13A-C; I: Alpha, Regions - Garnier-Robson; II: Alpha, Regions - Chou-Fasman; III: Beta, Regions - Garnier-Robson; IV: Beta, Regions - Chou-Fasman; V: Turn, Regions - Garnier-Robson; VI: Turn, Regions - Chou-Fasman; VII: Coil, Regions - Garnier-Robson; VIII: Hydrophilicity Plot - Kyte-Doolittle; IX: Hydrophobicity Plot - Hopp-Woods; X: Alpha, Amphipathic Regions - Eisenberg; XI: Beta, Amphipathic Regions - Eisenberg; XII: Flexible Regions - Karplus-Schulz; XIII: Antigenic Index - Jameson-Wolf; and XIV: Surface Probability Plot - Emini. Preferred embodiments of the invention in this regard include fragments that comprise, or alternatively consisting of, one or more of the following regions: alpha-helix and alpha-helix forming regions ("alpha-regions"), beta-sheet and beta-sheet forming regions ("beta-regions"), turn and turn-forming regions ("turn-regions"), coil and coil-forming regions ("coil-regions"), hydrophilic regions, hydrophobic regions, alpha amphipathic regions, beta amphipathic regions, flexible regions, surface-forming regions and high antigenic index regions. The data representing the structural or functional attributes of the protein set forth in Figure 14 and/or Table 9, as described above, was generated using the various modules and algorithms of the DNA*STAR set on default parameters. In a preferred embodiment, the data presented in columns VIII, IX, XIII, and XIV of Table 9 can be used to determine regions of the protein which exhibit a high degree of potential for antigenicity. Regions of high antigenicity are determined from the data presented in columns VIII, IX, XIII, and/or XIV by choosing values which represent regions of the polypeptide which are likely to be exposed on the surface of the polypeptide in an environment in which antigen recognition may occur in the process of initiation of an immune response. Certain preferred regions in these regards are set out in Figure 14, but may, as shown in Table 9, be represented or identified by using

WO 02/02587

PCT/US01/20917

tabular representations of the data presented in Figure 14. The DNA*STAR computer algorithm used to generate Figure 14 (set on the original default parameters) was used to present the data in Figure 14 in a tabular format (See Table 9). The tabular format of the data in Figure 14 (See Table 9) is used to easily determine specific boundaries of a preferred region.

[220] The present invention is further directed to fragments of the polynucleotide sequences described herein. By a fragment of, for example, the polynucleotide sequence of a deposited cDNA or the nucleotide sequence shown in SEQ ID NO: 8, is intended polynucleotide fragments at least about 15nt, and more preferably at least about 20 nt, at least about 25nt, still more preferably at least about 30 nt, at least about 35nt, and even more preferably, at least about 40 nt in length, at least about 45nt in length, at least about 50nt in length, at least about 60nt in length, at least about 70nt in length, at least about 80nt in length, at least about 90nt in length, at least about 100nt in length, at least about 125nt in length, at least about 150nt in length, at least about 175nt in length, which are useful as diagnostic probes and primers as discussed herein. Of course, larger fragments 200-1500 nt in length are also useful according to the present invention, as are fragments corresponding to most, if not all, of the nucleotide sequence of a deposited cDNA or as shown in SEQ ID NO: 8. By a fragment at least 20 nt in length, for example, is intended fragments which include 20 or more contiguous bases from the nucleotide sequence of a deposited cDNA or the nucleotide sequence as shown in SEQ ID NO: 8. In this context "about" includes the particularly recited size, an sizes larger or smaller by several (5, 4, 3, 2, or 1) nucleotides, at either terminus or at both termini. Representative examples of polynucleotide fragments of the invention include, for example, fragments that comprise, or alternatively, consist of, a sequence from about nucleotide 1 to about 50, from about 51 to about 100, from about 101 to about 150, from about 151 to about 200, from about 201 to about 250, from about 251 to about 300, from about 301 to about 350, from about 351 to about 400, from about 401 to about 450, from about 451 to about 500, and from about 501 to about 550, and from about 551 to about 600, from about 601 to about 650, from about 651 to about 700, from about 701 to about 750, from about 751 to about 800, and from about 801 to about 860, of SEQ ID NO: 8, or the complementary strand thereto, or the cDNA contained in a deposited clone. In this context "about" includes the particularly recited ranges, and ranges larger or smaller by several (5, 4, 3, 2, or 1) nucleotides, at either terminus or at both termini.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[221] In additional embodiments, the polynucleotides of the invention encode functional attributes of the corresponding protein. Preferred polypeptide fragments of the invention comprise, or alternatively consist of, the secreted protein having a continuous series of deleted residues from the amino or the carboxy terminus, or both. Particularly, N-terminal deletions of the polypeptide can be described by the general formula m-461 where m is an integer from 2 to 456, where m corresponds to the position of the amino acid residue identified in SEQ ID NO: 20. More in particular, the invention provides polynucleotides encoding polypeptides comprising, or alternatively consisting of, an amino acid sequence selected from the group: A-2 to Q-461; L-3 to Q-461; M-4 to Q-461; L-5 to Q-461; S-6 to Q-461; L-7 to Q-461; V-8 to Q-461; L-9 to Q-461; S-10 to Q-461; L-11 to Q-461; L-12 to Q-461; K-13 to Q-461; L-14 to Q-461; G-15 to Q-461; S-16 to Q-461; G-17 to Q-461; Q-18 to Q-461; W-19 to Q-461; Q-20 to Q-461; V-21 to Q-461; F-22 to Q-461; G-23 to Q-461; P-24 to Q-461; D-25 to Q-461; K-26 to Q-461; P-27 to Q-461; V-28 to Q-461; Q-29 to Q-461; A-30 to Q-461; L-31 to Q-461; V-32 to Q-461; G-33 to Q-461; E-34 to Q-461; D-35 to Q-461; A-36 to Q-461; A-37 to Q-461; F-38 to Q-461; S-39 to Q-461; C-40 to Q-461; F-41 to Q-461; L-42 to Q-461; S-43 to Q-461; P-44 to Q-461; K-45 to Q-461; T-46 to Q-461; N-47 to Q-461; A-48 to Q-461; E-49 to Q-461; A-50 to Q-461; M-51 to Q-461; E-52 to Q-461; V-53 to Q-461; R-54 to Q-461; F-55 to Q-461; F-56 to Q-461; R-57 to Q-461; G-58 to Q-461; Q-59 to Q-461; F-60 to Q-461; S-61 to Q-461; S-62 to Q-461; V-63 to Q-461; V-64 to Q-461; H-65 to Q-461; L-66 to Q-461; Y-67 to Q-461; R-68 to Q-461; D-69 to Q-461; G-70 to Q-461; K-71 to Q-461; D-72 to Q-461; Q-73 to Q-461; P-74 to Q-461; F-75 to Q-461; M-76 to Q-461; Q-77 to Q-461; M-78 to Q-461; P-79 to Q-461; Q-80 to Q-461; Y-81 to Q-461; Q-82 to Q-461; G-83 to Q-461; R-84 to Q-461; T-85 to Q-461; K-86 to Q-461; L-87 to Q-461; V-88 to Q-461; K-89 to Q-461; D-90 to Q-461; S-91 to Q-461; I-92 to Q-461; A-93 to Q-461; E-94 to Q-461; G-95 to Q-461; R-96 to Q-461; I-97 to Q-461; S-98 to Q-461; L-99 to Q-461; R-100 to Q-461; L-101 to Q-461; E-102 to Q-461; N-103 to Q-461; I-104 to Q-461; T-105 to Q-461; V-106 to Q-461; L-107 to Q-461; D-108 to Q-461; A-109 to Q-461; G-110 to Q-461; L-111 to Q-461; Y-112 to Q-461; G-113 to Q-461; C-114 to Q-461; R-115 to Q-461; I-116 to Q-461; S-117 to Q-461; S-118 to Q-461; Q-119 to Q-461; S-120 to Q-461; Y-121 to Q-461; Y-122 to Q-461; Q-123 to Q-461; K-124 to Q-461; A-125 to Q-461; I-126 to Q-461; W-127 to Q-461; E-128 to Q-461; L-129 to Q-461; Q-130 to Q-461; V-131 to Q-461; S-132 to Q-461; A-133 to Q-461; L-134 to Q-461; G-135 to Q-461; S-136 to Q-461; V-137 to Q-461; P-

WO 02/02587

PCT/US01/20917

138 to Q-461; L-139 to Q-461; I-140 to Q-461; S-141 to Q-461; I-142 to Q-461; T-143 to Q-461; G-144 to Q-461; Y-145 to Q-461; V-146 to Q-461; D-147 to Q-461; R-148 to Q-461; D-149 to Q-461; I-150 to Q-461; Q-151 to Q-461; L-152 to Q-461; L-153 to Q-461; C-154 to Q-461; Q-155 to Q-461; S-156 to Q-461; S-157 to Q-461; G-158 to Q-461; W-159 to Q-461; F-160 to Q-461; P-161 to Q-461; R-162 to Q-461; P-163 to Q-461; T-164 to Q-461; A-165 to Q-461; K-166 to Q-461; W-167 to Q-461; K-168 to Q-461; G-169 to Q-461; P-170 to Q-461; Q-171 to Q-461; G-172 to Q-461; Q-173 to Q-461; D-174 to Q-461; L-175 to Q-461; S-176 to Q-461; T-177 to Q-461; D-178 to Q-461; S-179 to Q-461; R-180 to Q-461; T-181 to Q-461; N-182 to Q-461; R-183 to Q-461; D-184 to Q-461; M-185 to Q-461; H-186 to Q-461; G-187 to Q-461; L-188 to Q-461; F-189 to Q-461; D-190 to Q-461; V-191 to Q-461; E-192 to Q-461; I-193 to Q-461; S-194 to Q-461; L-195 to Q-461; T-196 to Q-461; V-197 to Q-461; Q-198 to Q-461; E-199 to Q-461; N-200 to Q-461; A-201 to Q-461; G-202 to Q-461; S-203 to Q-461; I-204 to Q-461; S-205 to Q-461; C-206 to Q-461; S-207 to Q-461; M-208 to Q-461; R-209 to Q-461; H-210 to Q-461; A-211 to Q-461; H-212 to Q-461; L-213 to Q-461; S-214 to Q-461; R-215 to Q-461; E-216 to Q-461; V-217 to Q-461; E-218 to Q-461; S-219 to Q-461; R-220 to Q-461; V-221 to Q-461; Q-222 to Q-461; I-223 to Q-461; G-224 to Q-461; D-225 to Q-461; T-226 to Q-461; F-227 to Q-461; F-228 to Q-461; E-229 to Q-461; P-230 to Q-461; I-231 to Q-461; S-232 to Q-461; W-233 to Q-461; H-234 to Q-461; L-235 to Q-461; A-236 to Q-461; T-237 to Q-461; K-238 to Q-461; V-239 to Q-461; L-240 to Q-461; G-241 to Q-461; I-242 to Q-461; L-243 to Q-461; C-244 to Q-461; C-245 to Q-461; G-246 to Q-461; L-247 to Q-461; F-248 to Q-461; E-249 to Q-461; G-250 to Q-461; I-251 to Q-461; V-252 to Q-461; G-253 to Q-461; L-254 to Q-461; K-255 to Q-461; I-256 to Q-461; F-257 to Q-461; F-258 to Q-461; S-259 to Q-461; K-260 to Q-461; I-261 to Q-461; Q-262 to Q-461; W-263 to Q-461; K-264 to Q-461; I-265 to Q-461; Q-266 to Q-461; A-267 to Q-461; E-268 to Q-461; L-269 to Q-461; D-270 to Q-461; W-271 to Q-461; R-272 to Q-461; R-273 to Q-461; K-274 to Q-461; H-275 to Q-461; G-276 to Q-461; Q-277 to Q-461; A-278 to Q-461; E-279 to Q-461; L-280 to Q-461; R-281 to Q-461; D-282 to Q-461; A-283 to Q-461; R-284 to Q-461; K-285 to Q-461; H-286 to Q-461; A-287 to Q-461; V-288 to Q-461; E-289 to Q-461; V-290 to Q-461; T-291 to Q-461; L-292 to Q-461; D-293 to Q-461; P-294 to Q-461; E-295 to Q-461; T-296 to Q-461; A-297 to Q-461; H-298 to Q-461; P-299 to Q-461; K-300 to Q-461; L-301 to Q-461; C-302 to Q-461; V-303 to Q-461; S-304 to Q-461; D-305 to Q-461; L-306 to Q-461; K-307 to Q-461; T-308 to Q-461; V-309 to Q-461; T-310 to Q-461; H-311 to

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Q-461; R-312 to Q-461; K-313 to Q-461; A-314 to Q-461; P-315 to Q-461; Q-316 to Q-461; E-317 to Q-461; V-318 to Q-461; P-319 to Q-461; H-320 to Q-461; S-321 to Q-461; E-322 to Q-461; K-323 to Q-461; R-324 to Q-461; F-325 to Q-461; T-326 to Q-461; R-327 to Q-461; K-328 to Q-461; S-329 to Q-461; V-330 to Q-461; V-331 to Q-461; A-332 to Q-461; S-333 to Q-461; Q-334 to Q-461; S-335 to Q-461; F-336 to Q-461; Q-337 to Q-461; A-338 to Q-461; G-339 to Q-461; K-340 to Q-461; H-341 to Q-461; Y-342 to Q-461; W-343 to Q-461; E-344 to Q-461; V-345 to Q-461; D-346 to Q-461; G-347 to Q-461; G-348 to Q-461; H-349 to Q-461; N-350 to Q-461; K-351 to Q-461; R-352 to Q-461; W-353 to Q-461; R-354 to Q-461; V-355 to Q-461; G-356 to Q-461; V-357 to Q-461; C-358 to Q-461; R-359 to Q-461; D-360 to Q-461; D-361 to Q-461; V-362 to Q-461; D-363 to Q-461; R-364 to Q-461; R-365 to Q-461; K-366 to Q-461; E-367 to Q-461; Y-368 to Q-461; V-369 to Q-461; T-370 to Q-461; L-371 to Q-461; S-372 to Q-461; P-373 to Q-461; D-374 to Q-461; H-375 to Q-461; G-376 to Q-461; Y-377 to Q-461; W-378 to Q-461; V-379 to Q-461; L-380 to Q-461; R-381 to Q-461; L-382 to Q-461; N-383 to Q-461; G-384 to Q-461; E-385 to Q-461; H-386 to Q-461; L-387 to Q-461; Y-388 to Q-461; F-389 to Q-461; T-390 to Q-461; L-391 to Q-461; N-392 to Q-461; P-393 to Q-461; R-394 to Q-461; F-395 to Q-461; I-396 to Q-461; S-397 to Q-461; V-398 to Q-461; F-399 to Q-461; P-400 to Q-461; R-401 to Q-461; T-402 to Q-461; P-403 to Q-461; P-404 to Q-461; T-405 to Q-461; K-406 to Q-461; I-407 to Q-461; G-408 to Q-461; V-409 to Q-461; F-410 to Q-461; L-411 to Q-461; D-412 to Q-461; Y-413 to Q-461; E-414 to Q-461; C-415 to Q-461; G-416 to Q-461; T-417 to Q-461; I-418 to Q-461; S-419 to Q-461; F-420 to Q-461; F-421 to Q-461; N-422 to Q-461; I-423 to Q-461; N-424 to Q-461; D-425 to Q-461; Q-426 to Q-461; S-427 to Q-461; L-428 to Q-461; I-429 to Q-461; Y-430 to Q-461; T-431 to Q-461; L-432 to Q-461; T-433 to Q-461; C-434 to Q-461; R-435 to Q-461; F-436 to Q-461; E-437 to Q-461; G-438 to Q-461; L-439 to Q-461; L-440 to Q-461; R-441 to Q-461; P-442 to Q-461; Y-443 to Q-461; L-444 to Q-461; E-445 to Q-461; Y-446 to Q-461; P-447 to Q-461; S-448 to Q-461; Y-449 to Q-461; N-450 to Q-461; E-451 to Q-461; Q-452 to Q-461; N-453 to Q-461; G-454 to Q-461; T-455 to Q-461; and/or P-456 to Q-461 of SEQ ID NO: 20. Polynucleotides encoding these polypeptides are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind one or more of these polypeptides. Moreover, fragments and variants of these polypeptides (e.g., fragments as described herein, polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to these polypeptides and polypeptides encoded by the polynucleotide which hybridizes, under stringent conditions, to

WO 02/02587

PCT/US01/20917

the polynucleotide encoding these polypeptides, or the complement thereof) are encompassed by the invention. Antibodies that bind these fragments and variants of the invention are also encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these fragments and variants are also encompassed by the invention.

[222] Accordingly, the present invention further provides polypeptides having one or more residues deleted from the carboxy terminus of the amino acid sequence of the polypeptide shown in Figures 13A-C (SEQ ID NO: 20), as described by the general formula 1-n, where n is an integer from 7 to 460, where n corresponds to the position of the amino acid residue identified in SEQ ID NO: 20. Additionally, the invention provides polynucleotides encoding polypeptides comprising, or alternatively consisting of, an amino acid sequence selected from the following group of C-terminal deletions: M-1 to Q-460; M-1 to K-459; M-1 to D-458; M-1 to R-457; M-1 to P-456; M-1 to T-455; M-1 to G-454; M-1 to N-453; M-1 to Q-452; M-1 to E-451; M-1 to N-450; M-1 to Y-449; M-1 to S-448; M-1 to P-447; M-1 to Y-446; M-1 to E-445; M-1 to I-444; M-1 to Y-443; M-1 to P-442; M-1 to R-441; M-1 to L-440; M-1 to L-439; M-1 to G-438; M-1 to E-437; M-1 to F-436; M-1 to R-435; M-1 to C-434; M-1 to T-433; M-1 to L-432; M-1 to T-431; M-1 to Y-430; M-1 to I-429; M-1 to L-428; M-1 to S-427; M-1 to Q-426; M-1 to D-425; M-1 to N-424; M-1 to I-423; M-1 to N-422; M-1 to F-421; M-1 to F-420; M-1 to S-419; M-1 to I-418; M-1 to T-417; M-1 to G-416; M-1 to C-415; M-1 to E-414; M-1 to Y-413; M-1 to D-412; M-1 to L-411; M-1 to F-410; M-1 to V-409; M-1 to G-408; M-1 to I-407; M-1 to K-406; M-1 to T-405; M-1 to P-404; M-1 to P-403; M-1 to T-402; M-1 to R-401; M-1 to P-400; M-1 to F-399; M-1 to V-398; M-1 to S-397; M-1 to I-396; M-1 to F-395; M-1 to R-394; M-1 to P-393; M-1 to N-392; M-1 to L-391; M-1 to T-390; M-1 to F-389; M-1 to Y-388; M-1 to L-387; M-1 to H-386; M-1 to E-385; M-1 to G-384; M-1 to N-383; M-1 to L-382; M-1 to R-381; M-1 to L-380; M-1 to V-379; M-1 to W-378; M-1 to Y-377; M-1 to G-376; M-1 to H-375; M-1 to D-374; M-1 to P-373; M-1 to S-372; M-1 to L-371; M-1 to T-370; M-1 to V-369; M-1 to Y-368; M-1 to E-367; M-1 to K-366; M-1 to R-365; M-1 to R-364; M-1 to D-363; M-1 to V-362; M-1 to D-361; M-1 to D-360; M-1 to R-359; M-1 to C-358; M-1 to V-357; M-1 to G-356; M-1 to V-355; M-1 to R-354; M-1 to W-353; M-1 to R-352; M-1 to K-351; M-1 to N-350; M-1 to H-349; M-1 to G-348; M-1 to G-347; M-1 to D-346; M-1 to V-345; M-1 to E-344; M-1 to W-343; M-1 to Y-342; M-1 to H-341; M-1 to K-340; M-1 to G-339; M-1 to A-338; M-1 to Q-337; M-1 to F-336; M-1 to S-335; M-1 to Q-334; M-1 to S-333; M-1 to A-332; M-1 to V-331; M-1 to V-

WO 02/02587

PCT/US01/20917

330; M-1 to S-329; M-1 to K-328; M-1 to R-327; M-1 to T-326; M-1 to F-325; M-1 to R-324; M-1 to K-323; M-1 to E-322; M-1 to S-321; M-1 to H-320; M-1 to P-319; M-1 to V-318; M-1 to E-317; M-1 to Q-316; M-1 to P-315; M-1 to A-314; M-1 to K-313; M-1 to R-312; M-1 to H-311; M-1 to T-310; M-1 to V-309; M-1 to T-308; M-1 to K-307; M-1 to L-306; M-1 to D-305; M-1 to S-304; M-1 to V-303; M-1 to C-302; M-1 to L-301; M-1 to K-300; M-1 to P-299; M-1 to H-298; M-1 to A-297; M-1 to T-296; M-1 to E-295; M-1 to P-294; M-1 to D-293; M-1 to L-292; M-1 to T-291; M-1 to V-290; M-1 to E-289; M-1 to V-288; M-1 to A-287; M-1 to H-286; M-1 to K-285; M-1 to R-284; M-1 to A-283; M-1 to D-282; M-1 to R-281; M-1 to L-280; M-1 to E-279; M-1 to A-278; M-1 to Q-277; M-1 to G-276; M-1 to H-275; M-1 to K-274; M-1 to R-273; M-1 to R-272; M-1 to W-271; M-1 to D-270; M-1 to L-269; M-1 to E-268; M-1 to A-267; M-1 to Q-266; M-1 to I-265; M-1 to K-264; M-1 to W-263; M-1 to Q-262; M-1 to F-261; M-1 to K-260; M-1 to S-259; M-1 to F-258; M-1 to F-257; M-1 to I-256; M-1 to K-255; M-1 to L-254; M-1 to G-253; M-1 to V-252; M-1 to I-251; M-1 to G-250; M-1 to F-249; M-1 to F-248; M-1 to L-247; M-1 to G-246; M-1 to C-245; M-1 to C-244; M-1 to L-243; M-1 to I-242; M-1 to G-241; M-1 to L-240; M-1 to V-239; M-1 to K-238; M-1 to T-237; M-1 to A-236; M-1 to L-235; M-1 to H-234; M-1 to W-233; M-1 to S-232; M-1 to I-231; M-1 to P-230; M-1 to E-229; M-1 to F-228; M-1 to F-227; M-1 to T-226; M-1 to D-225; M-1 to G-224; M-1 to I-223; M-1 to Q-222; M-1 to V-221; M-1 to R-220; M-1 to S-219; M-1 to E-218; M-1 to V-217; M-1 to E-216; M-1 to R-215; M-1 to S-214; M-1 to L-213; M-1 to H-212; M-1 to A-211; M-1 to H-210; M-1 to R-209; M-1 to M-208; M-1 to S-207; M-1 to C-206; M-1 to S-205; M-1 to I-204; M-1 to S-203; M-1 to G-202; M-1 to A-201; M-1 to N-200; M-1 to E-199; M-1 to Q-198; M-1 to V-197; M-1 to T-196; M-1 to L-195; M-1 to S-194; M-1 to I-193; M-1 to E-192; M-1 to V-191; M-1 to D-190; M-1 to F-189; M-1 to L-188; M-1 to G-187; M-1 to H-186; M-1 to M-185; M-1 to D-184; M-1 to R-183; M-1 to N-182; M-1 to T-181; M-1 to R-180; M-1 to S-179; M-1 to D-178; M-1 to T-177; M-1 to S-176; M-1 to L-175; M-1 to D-174; M-1 to Q-173; M-1 to G-172; M-1 to Q-171; M-1 to P-170; M-1 to G-169; M-1 to K-168; M-1 to W-167; M-1 to K-166; M-1 to A-165; M-1 to T-164; M-1 to P-163; M-1 to R-162; M-1 to P-161; M-1 to F-160; M-1 to W-159; M-1 to G-158; M-1 to S-157; M-1 to S-156; M-1 to Q-155; M-1 to C-154; M-1 to L-153; M-1 to L-152; M-1 to Q-151; M-1 to I-150; M-1 to D-149; M-1 to R-148; M-1 to D-147; M-1 to V-146; M-1 to Y-145; M-1 to G-144; M-1 to T-143; M-1 to I-142; M-1 to S-141; M-1 to I-140; M-1 to L-139; M-1 to P-138; M-1 to V-137; M-1 to S-136; M-1 to G-135; M-1

WO 02/02587

PCT/US01/20917

(to L-134; M-1 to A-133; M-1 to S-132; M-1 to V-131; M-1 to Q-130; M-1 to L-129; M-1 to E-128; M-1 to W-127; M-1 to I-126; M-1 to A-125; M-1 to K-124; M-1 to Q-123; M-1 to Y-122; M-1 to Y-121; M-1 to S-120; M-1 to Q-119; M-1 to S-118; M-1 to S-117; M-1 to I-116; M-1 to R-115; M-1 to C-114; M-1 to G-113; M-1 to Y-112; M-1 to L-111; M-1 to G-110; M-1 to A-109; M-1 to D-108; M-1 to L-107; M-1 to V-106; M-1 to T-105; M-1 to I-104; M-1 to N-103; M-1 to E-102; M-1 to L-101; M-1 to R-100; M-1 to L-99; M-1 to S-98; M-1 to I-97; M-1 to R-96; M-1 to G-95; M-1 to E-94; M-1 to A-93; M-1 to I-92; M-1 to S-91; M-1 to D-90; M-1 to K-89; M-1 to V-88; M-1 to L-87; M-1 to K-86; M-1 to T-85; M-1 to R-84; M-1 to G-83; M-1 to Q-82; M-1 to Y-81; M-1 to Q-80; M-1 to P-79; M-1 to M-78; M-1 to Q-77; M-1 to M-76; M-1 to F-75; M-1 to P-74; M-1 to Q-73; M-1 to D-72; M-1 to K-71; M-1 to G-70; M-1 to D-69; M-1 to R-68; M-1 to Y-67; M-1 to L-66; M-1 to H-65; M-1 to V-64; M-1 to V-63; M-1 to S-62; M-1 to S-61; M-1 to F-60; M-1 to Q-59; M-1 to G-58; M-1 to R-57; M-1 to F-56; M-1 to F-55; M-1 to R-54; M-1 to V-53; M-1 to E-52; M-1 to M-51; M-1 to A-50; M-1 to E-49; M-1 to A-48; M-1 to N-47; M-1 to T-46; M-1 to K-45; M-1 to P-44; M-1 to S-43; M-1 to L-42; M-1 to I-41; M-1 to C-40; M-1 to S-39; M-1 to F-38; M-1 to A-37; M-1 to A-36; M-1 to D-35; M-1 to E-34; M-1 to G-33; M-1 to V-32; M-1 to L-31; M-1 to A-30; M-1 to Q-29; M-1 to V-28; M-1 to P-27; M-1 to K-26; M-1 to D-25; M-1 to P-24; M-1 to G-23; M-1 to F-22; M-1 to V-21; M-1 to Q-20; M-1 to W-19; M-1 to Q-18; M-1 to G-17; M-1 to S-16; M-1 to G-15; M-1 to L-14; M-1 to K-13; M-1 to L-12; M-1 to L-11; M-1 to S-10; M-1 to L-9; M-1 to V-8 and/or M-1 to L-7 of SEQ ID NO: 20. Polynucleotides encoding these polypeptides are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind one or more of these polypeptides. Moreover, fragments and variants of these polypeptides (e.g., fragments as described herein, polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to these polypeptides and polypeptides encoded by the polynucleotide which hybridizes, under stringent conditions, to the polynucleotide encoding these polypeptides, or the complement thereof) are encompassed by the invention. Antibodies that bind these fragments and variants of the invention are also encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these fragments and variants are also encompassed by the invention.

[223] Also as mentioned above, even if deletion of one or more amino acids from the C-terminus of a protein results in modification or loss of one or more biological functions of the protein (e.g., ability to inhibit the Mixed Lymphocyte Reaction), other functional activities

WO 02/02587

PCT/US01/20917

(e.g., biological activities, ability to multimerize, ability to bind receptor, ability to generate antibodies, ability to bind antibodies) may still be retained. For example, the ability of the shortened polypeptide to induce and/or bind to antibodies which recognize the complete or mature forms of the polypeptide generally will be retained when less than the majority of the residues of the complete or mature polypeptide are removed from the C-terminus. Whether a particular polypeptide lacking C-terminal residues of a complete polypeptide retains such immunologic activities can readily be determined by routine methods described herein and otherwise known in the art. It is not unlikely that a polypeptide with a large number of deleted C-terminal amino acid residues may retain some biological or immunogenic activities. In fact, peptides composed of as few as six amino acid residues may often evoke an immune response.

[224] More in particular, the invention provides polynucleotides encoding polypeptides comprising, or alternatively consisting of, an amino acid sequence selected from the group of N-terminal deletions of the mature extracellular portion of the B7-H13 protein (SEQ ID NO: 49): W-19 to V-239; Q-20 to V-239; V-21 to V-239; F-22 to V-239; G-23 to V-239; P-24 to V-239; D-25 to V-239; K-26 to V-239; P-27 to V-239; V-28 to V-239; Q-29 to V-239; A-30 to V-239; L-31 to V-239; V-32 to V-239; G-33 to V-239; E-34 to V-239; D-35 to V-239; A-36 to V-239; A-37 to V-239; F-38 to V-239; S-39 to V-239; C-40 to V-239; F-41 to V-239; L-42 to V-239; S-43 to V-239; P-44 to V-239; K-45 to V-239; Y-46 to V-239; N-47 to V-239; A-48 to V-239; E-49 to V-239; A-50 to V-239; M-51 to V-239; E-52 to V-239; V-53 to V-239; R-54 to V-239; F-55 to V-239; F-56 to V-239; R-57 to V-239; G-58 to V-239; Q-59 to V-239; F-60 to V-239; S-61 to V-239; S-62 to V-239; V-63 to V-239; V-64 to V-239; H-65 to V-239; L-66 to V-239; Y-67 to V-239; R-68 to V-239; D-69 to V-239; G-70 to V-239; K-71 to V-239; D-72 to V-239; Q-73 to V-239; P-74 to V-239; F-75 to V-239; M-76 to V-239; Q-77 to V-239; M-78 to V-239; P-79 to V-239; Q-80 to V-239; Y-81 to V-239; Q-82 to V-239; G-83 to V-239; R-84 to V-239; T-85 to V-239; K-86 to V-239; L-87 to V-239; V-88 to V-239; K-89 to V-239; D-90 to V-239; S-91 to V-239; I-92 to V-239; A-93 to V-239; E-94 to V-239; G-95 to V-239; R-96 to V-239; I-97 to V-239; S-98 to V-239; L-99 to V-239; R-100 to V-239; L-101 to V-239; E-102 to V-239; N-103 to V-239; I-104 to V-239; T-105 to V-239; V-106 to V-239; L-107 to V-239; D-108 to V-239; A-109 to V-239; G-110 to V-239; L-111 to V-239; Y-112 to V-239; G-113 to V-239; C-114 to V-239; R-115 to V-239; I-116 to V-239; S-117 to V-239; S-118 to V-239; Q-119 to V-239; S-120 to V-239; Y-121 to V-239;

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Y-122 to V-239; Q-123 to V-239; K-124 to V-239; A-125 to V-239; I-126 to V-239; W-127 to V-239; E-128 to V-239; L-129 to V-239; Q-130 to V-239; V-131 to V-239; S-132 to V-239; A-133 to V-239; L-134 to V-239; G-135 to V-239; S-136 to V-239; V-137 to V-239; P-138 to V-239; L-139 to V-239; I-140 to V-239; S-141 to V-239; I-142 to V-239; T-143 to V-239; G-144 to V-239; Y-145 to V-239; V-146 to V-239; D-147 to V-239; R-148 to V-239; D-149 to V-239; I-150 to V-239; Q-151 to V-239; L-152 to V-239; L-153 to V-239; C-154 to V-239; Q-155 to V-239; S-156 to V-239; S-157 to V-239; G-158 to V-239; W-159 to V-239; F-160 to V-239; P-161 to V-239; R-162 to V-239; P-163 to V-239; T-164 to V-239; A-165 to V-239; K-166 to V-239; W-167 to V-239; K-168 to V-239; G-169 to V-239; P-170 to V-239; Q-171 to V-239; G-172 to V-239; Q-173 to V-239; D-174 to V-239; L-175 to V-239; S-176 to V-239; T-177 to V-239; D-178 to V-239; S-179 to V-239; R-180 to V-239; T-181 to V-239; N-182 to V-239; R-183 to V-239; D-184 to V-239; M-185 to V-239; H-186 to V-239; G-187 to V-239; L-188 to V-239; F-189 to V-239; D-190 to V-239; V-191 to V-239; E-192 to V-239; I-193 to V-239; S-194 to V-239; L-195 to V-239; T-196 to V-239; V-197 to V-239; Q-198 to V-239; E-199 to V-239; N-200 to V-239; A-201 to V-239; G-202 to V-239; S-203 to V-239; I-204 to V-239; S-205 to V-239; C-206 to V-239; S-207 to V-239; M-208 to V-239; R-209 to V-239; H-210 to V-239; A-211 to V-239; H-212 to V-239; L-213 to V-239; S-214 to V-239; R-215 to V-239; E-216 to V-239; V-217 to V-239; E-218 to V-239; S-219 to V-239; R-220 to V-239; V-221 to V-239; Q-222 to V-239; I-223 to V-239; G-224 to V-239; D-225 to V-239; T-226 to V-239; F-227 to V-239; F-228 to V-239; H-229 to V-239; P-230 to V-239; I-231 to V-239; S-232 to V-239; W-233 to V-239; and/or II-234 to V-239 of SEQ ID NO: 20. Polynucleotides encoding these polypeptides are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind one or more of these polypeptides. Moreover, fragments and variants of these polypeptides (e.g., fragments as described herein, polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to these polypeptides and polypeptides encoded by the polynucleotide which hybridizes, under stringent conditions, to the polynucleotide encoding these polypeptides, or the complement thereof) are encompassed by the invention. Antibodies that bind these fragments and variants of the invention are also encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these fragments and variants are also encompassed by the invention.

[225] Additionally, the invention provides polynucleotides encoding polypeptides comprising, or alternatively consisting of, an amino acid sequence selected from the group of

WO 02/02587

PCT/US01/20917

C-terminal deletions of the mature extracellular portion of the B7-1/33 protein (SEQ ID NO: 49): Q-18 to K-238; Q-18 to T-237; Q-18 to A-236; Q-18 to L-235; Q-18 to H-234; Q-18 to W-233; Q-18 to S-232; Q-18 to I-231; Q-18 to P-230; Q-18 to E-229; Q-18 to F-228; Q-18 to F-227; Q-18 to T-226; Q-18 to D-225; Q-18 to G-224; Q-18 to I-223; Q-18 to Q-222; Q-18 to V-221; Q-18 to R-220; Q-18 to S-219; Q-18 to E-218; Q-18 to V-217; Q-18 to E-216; Q-18 to R-215; Q-18 to S-214; Q-18 to L-213; Q-18 to H-212; Q-18 to A-211; Q-18 to H-210; Q-18 to R-209; Q-18 to M-208; Q-18 to S-207; Q-18 to C-206; Q-18 to S-205; Q-18 to I-204; Q-18 to S-203; Q-18 to G-202; Q-18 to A-201; Q-18 to N-200; Q-18 to E-199; Q-18 to Q-198; Q-18 to V-197; Q-18 to T-196; Q-18 to L-195; Q-18 to S-194; Q-18 to I-193; Q-18 to E-192; Q-18 to V-191; Q-18 to D-190; Q-18 to F-189; Q-18 to L-188; Q-18 to G-187; Q-18 to E-186; Q-18 to M-185; Q-18 to D-184; Q-18 to R-183; Q-18 to N-182; Q-18 to T-181; Q-18 to R-180; Q-18 to S-179; Q-18 to D-178; Q-18 to T-177; Q-18 to S-176; Q-18 to L-175; Q-18 to D-174; Q-18 to Q-173; Q-18 to G-172; Q-18 to Q-171; Q-18 to P-170; Q-18 to G-169; Q-18 to K-168; Q-18 to W-167; Q-18 to K-166; Q-18 to A-165; Q-18 to T-164; Q-18 to P-163; Q-18 to R-162; Q-18 to P-161; Q-18 to F-160; Q-18 to W-159; Q-18 to G-158; Q-18 to S-157; Q-18 to S-156; Q-18 to Q-155; Q-18 to C-154; Q-18 to L-153; Q-18 to L-152; Q-18 to Q-151; Q-18 to I-150; Q-18 to D-149; Q-18 to R-148; Q-18 to D-147; Q-18 to V-146; Q-18 to Y-145; Q-18 to G-144; Q-18 to T-143; Q-18 to I-142; Q-18 to S-141; Q-18 to I-140; Q-18 to L-139; Q-18 to P-138; Q-18 to V-137; Q-18 to S-136; Q-18 to G-135; Q-18 to L-134; Q-18 to A-133; Q-18 to S-132; Q-18 to V-131; Q-18 to Q-130; Q-18 to L-129; Q-18 to E-128; Q-18 to W-127; Q-18 to I-126; Q-18 to A-125; Q-18 to K-124; Q-18 to Q-123; Q-18 to Y-122; Q-18 to Y-121; Q-18 to S-120; Q-18 to Q-119; Q-18 to S-118; Q-18 to S-117; Q-18 to I-116; Q-18 to R-115; Q-18 to C-114; Q-18 to G-113; Q-18 to Y-112; Q-18 to L-111; Q-18 to G-110; Q-18 to A-109; Q-18 to D-108; Q-18 to L-107; Q-18 to V-106; Q-18 to Y-105; Q-18 to I-104; Q-18 to N-103; Q-18 to E-102; Q-18 to L-101; Q-18 to R-100; Q-18 to L-99; Q-18 to S-98; Q-18 to I-97; Q-18 to R-96; Q-18 to G-95; Q-18 to E-94; Q-18 to A-93; Q-18 to I-92; Q-18 to S-91; Q-18 to D-90; Q-18 to K-89; Q-18 to V-88; Q-18 to L-87; Q-18 to K-86; Q-18 to T-85; Q-18 to R-84; Q-18 to G-83; Q-18 to Q-82; Q-18 to Y-81; Q-18 to Q-80; Q-18 to P-79; Q-18 to M-78; Q-18 to Q-77; Q-18 to M-76; Q-18 to F-75; Q-18 to P-74; Q-18 to Q-73; Q-18 to D-72; Q-18 to K-71; Q-18 to G-70; Q-18 to D-69; Q-18 to R-68; Q-18 to Y-67; Q-18 to L-66; Q-18 to H-65; Q-18 to V-64; Q-18 to V-63; Q-18 to S-62; Q-18 to S-61; Q-18 to F-60; Q-18 to Q-59; Q-18 to G-58; Q-18 to R-57; Q-18 to F-56; Q-18 to F-55; Q-18

WO 02/02587

PCT/US01/20917

to R-54; Q-18 to V-53; Q-18 to E-52; Q-18 to M-51; Q-18 to A-50; Q-18 to E-49; Q-18 to A-48; Q-18 to N-47; Q-18 to T-46; Q-18 to K-45; Q-18 to P-44; Q-18 to S-43; Q-18 to L-42; Q-18 to F-41; Q-18 to C-40; Q-18 to S-39; Q-18 to F-38; Q-18 to A-37; Q-18 to A-36; Q-18 to D-35; Q-18 to E-34; Q-18 to G-33; Q-18 to V-32; Q-18 to L-31; Q-18 to A-30; Q-18 to Q-29; Q-18 to V-28; Q-18 to P-27; Q-18 to K-26; Q-18 to D-25; and/or Q-18 to P-24 of SEQ ID NO: 20. Polynucleotides encoding these polypeptides are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind one or more of these polypeptides. Moreover, fragments and variants of these polypeptides (e.g., fragments as described herein, polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to these polypeptides and polypeptides encoded by the polynucleotide which hybridizes, under stringent conditions, to the polynucleotide encoding these polypeptides, or the complement thereof) are encompassed by the invention. Antibodies that bind these fragments and variants of the invention are also encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these fragments and variants are also encompassed by the invention.

[226] In addition, any of the above listed N- or C-terminal deletions can be combined to produce a N- and C-terminal deleted polypeptide. The invention also provides polypeptides comprising, or alternatively consisting of, one or more amino acids deleted from both the amino and the carboxyl termini, which may be described generally as having residues m-n of SEQ ID NO: 20, where n and m are integers as described above. Fragments and/or variants of these polypeptides, such as, for example, fragments and/or variants as described herein, are encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these polypeptides (including fragments and/or variants) are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind these polypeptides.

[227] The present invention is also directed to proteins containing polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% or 99% identical to a polypeptide sequence set forth herein as m-n. In preferred embodiments, the application is directed to proteins containing polypeptides at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% or 99% identical to polypeptides having the amino acid sequence of the specific N- and C-terminal deletions recited herein. Fragments and/or variants of these polypeptides, such as, for example, fragments and/or variants as described herein, are encompassed by the invention. Polynucleotides encoding these polypeptides (including fragments and/or variants) are also encompassed by the invention, as are antibodies that bind these polypeptides.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[228] Also included are polynucleotide sequences encoding a polypeptide consisting of a portion of the complete amino acid sequence encoded by a cDNA clone contained in ATCC Deposit No. PTA-2332, where this portion excludes any integer of amino acid residues from 1 to about 455 amino acids from the amino terminus of the complete amino acid sequence encoded by a cDNA clone contained in ATCC Deposit No. PTA-2332, or any integer of amino acid residues from 1 to about 455 amino acids from the carboxy terminus, or any combination of the above amino terminal and carboxy terminal deletions, of the complete amino acid sequence encoded by the cDNA clone contained in ATCC Deposit No. PTA-2332. Polypeptides encoded by these polynucleotides also are encompassed by the invention.

[229] As described herein or otherwise known in the art, the polynucleotides of the invention have uses that include, but are not limited to, serving as probes or primers in chromosome identification, chromosome mapping, and linkage analysis.

[230] It has been discovered that this gene is expressed in small intestine and colon tissues.

[231] Polynucleotides, translation products and antibodies corresponding to this gene are useful as reagents for differential identification of gastrointestinal system tissue(s) or cell type(s) present in a biological sample and for diagnosis of diseases and conditions which include, but are not limited to, diseases and/or disorders involving immune system activation, stimulation and/or surveillance, particularly involving T cells, in addition to other immune system cells such as dendritic cells, neutrophils, and leukocytes, as well as diseases and/or disorders of the gastrointestinal system. Similarly, polypeptides and antibodies directed to these polypeptides are useful in providing immunological probes for differential identification of the tissue(s) or cell type(s). Particularly contemplated are the use of antibodies directed against the extracellular portion of this protein which act as antagonists for the activity of the B7-H13 protein. Such antagonistic antibodies would be useful for the prevention and/or inhibition of such biological activities as are disclosed herein (e.g. T cell modulated activities).

[232] For a number of disorders of the above tissues or cells, particularly of the gastrointestinal and immune systems, expression of this gene at significantly higher or lower levels may be routinely detected in certain tissues or cell types (e.g., gastrointestinal, neural, cancerous and wounded tissues) or bodily fluids (e.g., lymph, serum, plasma, urine, synovial fluid and spinal fluid) or another tissue or cell sample taken from an individual having such a

WO 02/02587

PCT/US01/20917

disorder, relative to the standard gene expression level, i.e., the expression level in healthy tissue or bodily fluid from an individual not having the disorder.

[233] The homology to members of the B7 family of ligands indicates that the polynucleotides, translation products and antibodies corresponding to this gene are useful for the diagnosis, detection and/or treatment of diseases and/or disorders involving immune system activation, stimulation and/or surveillance, particularly as relating to T cells, neutrophils, dendritic cells, leukocytes, and other immune system cells. In particular, the translation product of the B7-H13 gene may be involved in the costimulation of T cells, binding to ICOS, and/or may play a role in modulation of the expression of particular cytokines, for example.

[234] More generally, the tissue distribution in immune system cells indicates that this gene product may be involved in the regulation of cytokine production, antigen presentation, or other processes that may also suggest a usefulness in the treatment of cancer (e.g. by boosting immune responses). Since the gene is expressed in cells of immune system origin, polynucleotides, translation products and antibodies corresponding to this gene may show utility as a tumor marker and/or immunotherapy targets for the above listed tissues.

[235] Polynucleotides, translation products and antibodies corresponding to this gene may be also used as an agent for immunological disorders including arthritis, asthma, immune deficiency diseases such as AIDS, leukemia, rheumatoid arthritis, inflammatory bowel disease, sepsis, acne, and psoriasis. In addition, this gene product may have commercial utility in the expansion of stem cells and committed progenitors of various blood lineages, and in the differentiation and/or proliferation of various cell types. Additionally, polynucleotides, translation products and antibodies corresponding to this gene may show utility as a tumor marker and/or immunotherapy targets for the above listed tissues. Furthermore, the protein may also be used to determine biological activity, to raise antibodies, as tissue markers, to isolate cognate ligands or receptors, to identify agents that modulate their interactions, in addition to its use as a nutritional supplement.

[236] Expression within gastrointestinal tissue indicates that polynucleotides, translation products and antibodies corresponding to this gene are useful for the diagnosis and/or treatment of disorders involving the small intestine. This may include diseases associated with digestion and food absorption, as well as hematopoietic disorders involving the Peyer's patches of the small intestine, or other hematopoietic cells and tissues within the body.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Similarly, expression of this gene product in colon tissue suggests again involvement in digestion, processing, and elimination of food, as well as a potential role for this gene as a diagnostic marker or causative agent in the development of colon cancer, and cancer in general. Additionally, translation products corresponding to this gene, as well as antibodies directed against these translation products, may show utility as a tumor marker and/or immunotherapy targets for the above listed tissues.

TABLE 1

Gene No.	cDNA Plasmid:V	ATCC Deposit No.Z and Date	Vector	NT SEQ ID NO: X	Total NT Seq.	5' NT of Clonc Seq.	3' NT of Clonc Seq.	5' NT of Start Codon	AA SEQ ID NO: Y	Last AA of ORF
1	HE8NC81	PTA-2332 08/07/00	Uni-ZAP XR	2	3357	1	3357	419	14	282
1	HE8NC81	PTA-2332 08/07/00	Uni-ZAP XR	9	2626	1	2626	74	21	13
2	HDPPA04	PTA-2332 08/07/00	pCMVSpot 3.0	3	2406	1	2406	271	15	283
2	HDPPA04	PTA-2332 08/07/00	pCMVSpot 3.0	10	1675	1	1613		22	23
2	HDPPA04	PTA-2332 08/07/00	pCMVSpot 3.0	11	786	1	786	261	23	93
3	HTTDB46	PTA-2332 08/07/00	Uni-ZAP XR	4	3059	1	3059	55	16	318
3	HTTDB46	PTA-2332 08/07/00	Uni-ZAP XR	12	2008	215	2008	153	24	461
4	HCECR39	PTA-2332 08/07/00	Uni-ZAP XR	5	2682	1	2682	135	17	454
4	HCECR39	PTA-2332 08/07/00	Uni-ZAP XR	13	2799	122	2799	249	25	402
5	HCE2X64	PTA-2332 08/07/00	Uni-ZAP XR	6	1726	1	1726	219	18	414
6	HEMFH17	PTA-2332 08/07/00	Uni-ZAP XR	7	1021	1	1021	135	19	159
7	HSIDS22	PTA-2332 08/07/00	Uni-ZAP XR	8	1835	1	1835	9	20	461

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[237] Table 1 summarizes the information corresponding to each "Gene No." described above. The nucleotide sequence identified as "NT SEQ ID NO:X" was assembled from partially homologous ("overlapping") sequences obtained from the "cDNA Plasmid:V" identified in Table 1 and, in some cases, from additional related DNA clones. The overlapping sequences were assembled into a single contiguous sequence of high redundancy (usually three to five overlapping sequences at each nucleotide position), resulting in a final sequence identified as SEQ ID NO:X.

[238] The cDNA Plasmid:V was deposited on the date and given the corresponding deposit number listed in "ATCC Deposit No:Z and Date." Some of the deposits contain multiple different clones corresponding to the same gene. "Vector" refers to the type of vector contained in cDNA Plasmid:V.

[239] "Total NT Seq." refers to the total number of nucleotides in the contig identified by "Gene No.:". The deposited plasmid contains all of these sequences, reflected by the nucleotide position indicated as "5' NT of Clone Seq." and the "3' NT of Clone Seq." of SEQ ID NO:X. The nucleotide position of SEQ ID NO:X of the putative methionine start codon (if present) is identified as "5' NT of Start Codon." Similarly, the nucleotide position of SEQ ID NO:X of the predicted signal sequence (if present) is identified as "5' NT of First AA of Signal Pep."

[240] The translated amino acid sequence, beginning with the first translated codon of the polynucleotide sequence, is identified as "AA SEQ ID NO:Y," although other reading frames can also be easily translated using known molecular biology techniques. The polypeptides produced by these alternative open reading frames are specifically contemplated by the present invention.

[241] SEQ ID NO:X (where X may be any of the polynucleotide sequences disclosed in the sequence listing) and the translated SEQ ID NO:Y (where Y may be any of the polypeptide sequences disclosed in the sequence listing) are sufficiently accurate and otherwise suitable for a variety of uses well known in the art and described further below. For instance, SEQ ID NO:X has uses including, but not limited to, in designing nucleic acid hybridization probes that will detect nucleic acid sequences contained in SEQ ID NO:X or the cDNA contained in a deposited plasmid. These probes will also hybridize to nucleic acid molecules in biological samples, thereby enabling a variety of forensic and diagnostic

WO 02/02587

PCT/US01/20917

methods of the invention. Similarly, polypeptides identified from SEQ ID NO:Y have uses that include, but are not limited to generating antibodies, which bind specifically to the secreted proteins encoded by the cDNA clones identified in Table 1.

[242] Nevertheless, DNA sequences generated by sequencing reactions can contain sequencing errors. The errors exist as misidentified nucleotides, or as insertions or deletions of nucleotides in the generated DNA sequence. The erroneously inserted or deleted nucleotides cause frame shifts in the reading frames of the predicted amino acid sequence. In these cases, the predicted amino acid sequence diverges from the actual amino acid sequence, even though the generated DNA sequence may be greater than 99.9% identical to the actual DNA sequence (for example, one base insertion or deletion in an open reading frame of over 1000 bases).

[243] Accordingly, for those applications requiring precision in the nucleotide sequence or the amino acid sequence, the present invention provides not only the generated nucleotide sequence identified as SEQ ID NO:X, and the predicted translated amino acid sequence identified as SEQ ID NO:Y, but also a sample of plasmid DNA containing a human cDNA of the invention deposited with the ATCC, as set forth in Table 1. The nucleotide sequence of each deposited plasmid can readily be determined by sequencing the deposited plasmid in accordance with known methods.

[244] The predicted amino acid sequence can then be verified from such deposits. Moreover, the amino acid sequence of the protein encoded by a particular plasmid can also be directly determined by peptide sequencing or by expressing the protein in a suitable host cell containing the deposited human cDNA, collecting the protein, and determining its sequence.

[245] Also provided in Table 1 is the name of the vector which contains the cDNA plasmid. Each vector is routinely used in the art. The following additional information is provided for convenience.

[246] Vectors Lambda Zap (U.S. Patent Nos. 5,128,256 and 5,286,636), Uni-Zap XR (U.S. Patent Nos. 5,128,256 and 5,286,636), Zap Express (U.S. Patent Nos. 5,128,256 and 5,286,636), pBluescript (pBS) (Short, J. M. et al., *Nucleic Acids Res.* 16:7583-7600 (1988); Altling-Mees, M. A. and Short, J. M., *Nucleic Acids Res.* 17:9494 (1989)) and pBK (Altling-Mees, M. A. et al., *Strategies* 5:53-61 (1992)) are commercially available from Stratagene Cloning Systems, Inc., 11011 N. Torrey Pines Road, La Jolla, CA, 92037. pBS contains an ampicillin resistance gene and pBK contains a neomycin resistance gene. Phagemid pBS

WO 02/02587

PCT/US01/20917

may be excised from the Lambda Zap and Uni-Zap XR vectors, and phagemid pBK may be excised from the Zap Express vector. Both phagemids may be transformed into *E. coli* strain XL-1 Blue, also available from Stratagene.

[247] Vectors pSport1, pCMVSPORT 1.0, pCMVSPORT 2.0 and pCMVSPORT 3.0, were obtained from Life Technologies, Inc., P. O. Box 6009, Gaithersburg, MD 20897. All Sport vectors contain an ampicillin resistance gene and may be transformed into *E. coli* strain DH10B, also available from Life Technologies. See, for instance, Gruber, C. E., et al., *Focus* 15:59 (1993). Vector lacmid BA (Bento Soares, Columbia University, New York, NY) contains an ampicillin resistance gene and can be transformed into *E. coli* strain XL-1 Blue. Vector pCR^{2.1}, which is available from Invitrogen, 1600 Faraday Avenue, Carlsbad, CA 92008, contains an ampicillin resistance gene and may be transformed into *E. coli* strain DH10B, available from Life Technologies. See, for instance, Clark, J. M., *Nuc. Acids Res.* 16:9677-9686 (1988) and Mead, D. et al., *Bio/Technology* 9: (1991).

[248] The present invention also relates to the genes corresponding to SEQ ID NO:X, SEQ ID NO:Y, and/or a deposited plasmid (cDNA plasmid:V). The corresponding gene can be isolated in accordance with known methods using the sequence information disclosed herein. Such methods include, but are not limited to, preparing probes or primers from the disclosed sequence and identifying or amplifying the corresponding gene from appropriate sources of genomic material.

[249] Also provided in the present invention are allelic variants, orthologs, and/or species homologs. Procedures known in the art can be used to obtain full-length genes, allelic variants, splice variants, full-length coding portions, orthologs, and/or species homologs of genes corresponding to SEQ ID NO:X, SEQ ID NO:Y, and/or cDNA plasmid:V, using information from the sequences disclosed herein or the clones deposited with the ATCC. For example, allelic variants and/or species homologs may be isolated and identified by making suitable probes or primers from the sequences provided herein and screening a suitable nucleic acid source for allelic variants and/or the desired homologue.

[250] The present invention provides a polynucleotide comprising, or alternatively consisting of, the nucleic acid sequence of SEQ ID NO:X and/or cDNA plasmid:V. The present invention also provides a polypeptide comprising, or alternatively, consisting of, the polypeptide sequence of SEQ ID NO:Y, a polypeptide encoded by SEQ ID NO:X, and/or a polypeptide encoded by the cDNA in cDNA plasmid:V. Polynucleotides encoding a

WO 02/02587

PCT/US01/20917

polypeptide comprising, or alternatively consisting of the polypeptide sequence of SEQ ID NO:Y, a polypeptide encoded by SEQ ID NO:X and/or a polypeptide encoded by the cDNA in cDNA plasmid:V, are also encompassed by the invention. The present invention further encompasses a polynucleotide comprising, or alternatively consisting of the complement of the nucleic acid sequence of SEQ ID NO:X, and/or the complement of the coding strand of the cDNA in cDNA plasmid:V.

[251] Many polynucleotide sequences, such as EST sequences, are publicly available and accessible through sequence databases and may have been publicly available prior to conception of the present invention. Preferably, such related polynucleotides are specifically excluded from the scope of the present invention. To list every related sequence would unduly burden the disclosure of this application. Accordingly, preferably excluded from SEQ ID NO:X are one or more polynucleotides comprising a nucleotide sequence described by the general formula of a-b, where a is any integer between 1 and the final nucleotide minus 15 of SEQ ID NO:X, b is an integer of 15 to the final nucleotide of SEQ ID NO:X, where both a and b correspond to the positions of nucleotide residues shown in SEQ ID NO:X, and where b is greater than or equal to a + 14.

RACE Protocol For Recovery of Full-Length Genes

[252] Partial cDNA clones can be made full-length by utilizing the rapid amplification of cDNA ends (RACE) procedure described in Frohman, M.A., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85:8998-9002 (1988). A cDNA clone missing either the 5' or 3' end can be reconstructed to include the absent base pairs extending to the translational start or stop codon, respectively. In some cases, cDNAs are missing the start of translation, therefore. The following briefly describes a modification of this original 5' RACE procedure. Poly A⁺ or total RNA is reverse transcribed with Superscript II (Gibco/BRL) and an antisense or complementary primer specific to the cDNA sequence. The primer is removed from the reaction with a Microcon Concentrator (Amicon). The first-strand cDNA is then tailed with dATP and terminal deoxynucleotide transferase (Gibco/BRL). Thus, an anchor sequence is produced which is needed for PCR amplification. The second strand is synthesized from the dA-tail in PCR buffer, Taq DNA polymerase (Perkin-Elmer Cetus), an oligo-dT primer containing three adjacent restriction sites (XhoI, SalI and ClaI) at the 5' end and a primer containing just these restriction sites. This double-stranded cDNA is PCR amplified for 40

WO 02/02587

PCT/US01/20917

cycles with the same primers as well as a nested cDNA-specific antisense primer. The PCR products are size-separated on an ethidium bromide-agarose gel and the region of gel containing cDNA products the predicted size of missing protein-coding DNA is removed. cDNA is purified from the agarose with the Magic PCR Prep kit (Promega), restriction digested with XhoI or SalI, and ligated to a plasmid such as pBluescript SKII (Stratagene) at XhoI and EcoRV sites. This DNA is transformed into bacteria and the plasmid clones sequenced to identify the correct protein-coding inserts. Correct 5' ends are confirmed by comparing this sequence with the putatively identified homologue and overlap with the partial cDNA clone. Similar methods known in the art and/or commercial kits are used to amplify and recover 3' ends.

[253] Several quality-controlled kits are commercially available for purchase. Similar reagents and methods to those above are supplied in kit form from Gibco/BRL for both 5' and 3' RACE for recovery of full length genes. A second kit is available from Clontech which is a modification of a related technique, SLIC (single-stranded ligation to single-stranded cDNA), developed by Dumas et al., *Nucleic Acids Res.*, 19:5227-32 (1991). The major differences in procedure are that the RNA is alkaline hydrolyzed after reverse transcription and RNA ligase is used to join a restriction site-containing anchor primer to the first-strand cDNA. This obviates the necessity for the dA-tailing reaction which results in a polyT stretch that is difficult to sequence past.

[254] An alternative to generating 5' or 3' cDNA from RNA is to use cDNA library double-stranded DNA. An asymmetric PCR-amplified antisense cDNA strand is synthesized with an antisense cDNA-specific primer and a plasmid-anchored primer. These primers are removed and a symmetric PCR reaction is performed with a nested cDNA-specific antisense primer and the plasmid-anchored primer.

RNA Ligase Protocol For Generating The 5' or 3' End Sequences To Obtain Full Length Genes

[255] Once a gene of interest is identified, several methods are available for the identification of the 5' or 3' portions of the gene which may not be present in the original cDNA plasmid. These methods include, but are not limited to, filter probing, clone enrichment using specific probes and protocols similar and identical to 5' and 3'RACE. While the full length gene may be present in the library and can be identified by probing, a

WO 02/02587

PCT/US01/20917

useful method for generating the 5' or 3' end is to use the existing sequence information from the original cDNA to generate the missing information. A method similar to 5'RACE is available for generating the missing 5' end of a desired full-length gene. (This method was published by Fromont-Racine et al., *Nucleic Acids Res.*, 21(7):1683-1684 (1993)). Briefly, a specific RNA oligonucleotide is ligated to the 5' ends of a population of RNA presumably containing full-length gene RNA transcript and a primer set containing a primer specific to the ligated RNA oligonucleotide and a primer specific to a known sequence of the gene of interest, is used to PCR amplify the 5' portion of the desired full length gene which may then be sequenced and used to generate the full length gene. This method starts with total RNA isolated from the desired source, poly A RNA may be used but is not a prerequisite for this procedure. The RNA preparation may then be treated with phosphatase if necessary to eliminate 5' phosphate groups on degraded or damaged RNA which may interfere with the later RNA ligase step. The phosphatase if used is then inactivated and the RNA is treated with tobacco acid pyrophosphatase in order to remove the cap structure present at the 5' ends of messenger RNAs. This reaction leaves a 5' phosphate group at the 5' end of the cap cleaved RNA which can then be ligated to an RNA oligonucleotide using T4 RNA ligase. This modified RNA preparation can then be used as a template for first strand cDNA synthesis using a gene specific oligonucleotide. The first strand synthesis reaction can then be used as a template for PCR amplification of the desired 5' end using a primer specific to the ligated RNA oligonucleotide and a primer specific to the known sequence of the B7-like gene of interest. The resultant product is then sequenced and analyzed to confirm that the 5' end sequence belongs to the relevant B7-like gene.

Polynucleotide and Polypeptide Fragments

[256] The present invention is also directed to polynucleotide fragments of the polynucleotides (nucleic acids) of the invention. In the present invention, a "polynucleotide fragment" refers to a polynucleotide having a nucleic acid sequence which: is a portion of the cDNA contained in cDNA plasmid:V or encoding the polypeptide encoded by the cDNA contained in cDNA plasmid:V; is a portion of the polynucleotide sequence in SEQ ID NO:X or the complementary strand thereto; is a polynucleotide sequence encoding a portion of the polypeptide of SEQ ID NO:Y; or is a polynucleotide sequence encoding a portion of a polypeptide encoded by SEQ ID NO:X. The nucleotide fragments of the invention are

WO 02/02587

PCT/US01/20917

preferably at least about 15 nt, and more preferably at least about 20 nt, still more preferably at least about 30 nt, and even more preferably, at least about 40 nt, at least about 50 nt, at least about 75 nt, at least about 100 nt, at least about 125 nt, or at least about 150 nt in length. A fragment "at least 20 nt in length," for example, is intended to include 20 or more contiguous bases from, for example, the sequence contained in the cDNA in cDNA plasmid:V, or the nucleotide sequence shown in SEQ ID NO:X or the complementary strand thereto. In this context "about" includes the particularly recited value, or a value larger or smaller by several (5, 4, 3, 2, or 1) nucleotides. These nucleotide fragments have uses that include, but are not limited to, as diagnostic probes and primers as discussed herein. Of course, larger fragments (e.g., at least 150, 175, 200, 250, 500, 600, 1000, or 2000 nucleotides in length) are also encompassed by the invention.

[257] Moreover, representative examples of polynucleotide fragments of the invention, include, for example, fragments comprising, or alternatively consisting of, a sequence from about nucleotide number 1-50, 51-100, 101-150, 151-200, 201-250, 251-300, 301-350, 351-400, 401-450, 451-500, 501-550, 551-600, 651-700, 701-750, 751-800, 800-850, 851-900, 901-950, 951-1000, 1001-1050, 1051-1100, 1101-1150, 1151-1200, 1201-1250, 1251-1300, 1301-1350, 1351-1400, 1401-1450, 1451-1500, 1501-1550, 1551-1600, 1601-1650, 1651-1700, 1701-1750, 1751-1800, 1801-1850, 1851-1900, 1901-1950, 1951-2000, 2001-2050, 2051-2100, 2101-2150, 2151-2200, 2201-2250, 2251-2300, 2301-2350, 2351-2400, 2401-2450, 2451-2500, 2501-2550, 2551-2600, 2601-2650, 2651-2700, 2701-2750, 2751-2800, 2801-2850, 2851-2900, 2901-2950, 2951-3000, 3001-3050, 3051-3100, 3101-3150, 3151-3200, 3201-3250, 3251-3300, and/or 3301-3357 of SEQ ID NO:X, or the complementary strand thereto. In this context "about" includes the particularly recited range or a range larger or smaller by several (5, 4, 3, 2, or 1) nucleotides, at either terminus or at both termini. Preferably, these fragments encode a polypeptide which has a functional activity (e.g. biological activity) of the polypeptide encoded by a polynucleotide of which the sequence is a portion. More preferably, these fragments can be used as probes or primers as discussed herein. Polynucleotides which hybridize to one or more of these fragments under stringent hybridization conditions or alternatively, under lower stringency conditions, are also encompassed by the invention, as are polypeptides encoded by these polynucleotides or fragments.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[258] Moreover, representative examples of polynucleotide fragments of the invention, include, for example, fragments comprising, or alternatively consisting of, a sequence from about nucleotide number 1-50, 51-100, 101-150, 151-200, 201-250, 251-300, 301-350, 351-400, 401-450, 451-500, 501-550, 551-600, 601-650, 651-700, 701-750, 751-800, 801-850, 851-900, 901-950, 951-1000, 1001-1050, 1051-1100, 1101-1150, 1151-1200, 1201-1250, 1251-1300, 1301-1350, 1351-1400, 1401-1450, 1451-1500, 1501-1550, 1551-1600, 1601-1650, 1651-1700, 1701-1750, 1751-1800, 1801-1850, 1851-1900, 1901-1950, 1951-2000, 2001-2050, 2051-2100, 2101-2150, 2151-2200, 2201-2250, 2251-2300, 2301-2350, 2351-2400, 2401-2450, 2451-2500, 2501-2550, 2551-2600, 2601-2650, 2651-2700, 2701-2750, 2751-2800, 2801-2850, 2851-2900, 2901-2950, 2951-3000, 3001-3050, 3051-3100, 3101-3150, 3151-3200, 3201-3250, 3251-3300, and/or 3301-3357 of the cDNA nucleotide sequence contained in cDNA plasmid:V, or the complementary strand thereto. In this context "about" includes the particularly recited range or a range larger or smaller by several (5, 4, 3, 2, or 1) nucleotides, at either terminus or at both termini. Preferably, these fragments encode a polypeptide which has a functional activity (e.g. biological activity) of the polypeptide encoded by the cDNA nucleotide sequence contained in cDNA plasmid:V. More preferably, these fragments can be used as probes or primers as discussed herein. Polynucleotides which hybridize to one or more of these fragments under stringent hybridization conditions, or alternatively, under lower stringency conditions are also encompassed by the invention, as are polypeptides encoded by these polynucleotides or fragments.

[259] In the present invention, a "polypeptide fragment" refers to an amino acid sequence which is a portion of that contained in SEQ ID NO:Y, a portion of an amino acid sequence encoded by the polynucleotide sequence of SEQ ID NO:X, and/or encoded by the cDNA in cDNA plasmid:V. Protein (polypeptide) fragments may be "free-standing," or comprised within a larger polypeptide of which the fragment forms a part or region, most preferably as a single continuous region. Representative examples of polypeptide fragments of the invention, include, for example, fragments comprising, or alternatively consisting of, an amino acid sequence from about amino acid number 1-20, 21-40, 41-60, 61-80, 81-100, 101-120, 121-140, 141-160, 161-180, 181-200, 201-220, 221-240, 241-260, 261-280, 281-300, 301-320, 321-340, 341-360, 361-380, 381-400, 401-420, 421-440, and/or 441-461 of the coding region of SEQ ID NO:Y. Moreover, polypeptide fragments of the invention may be at least about 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 100, 110, 120,

WO 02/02587

PCT/US01/20917

130, 140, or 150 amino acids in length. In this context "about" includes the particularly recited ranges or values, or ranges or values larger or smaller by several (5, 4, 3, 2, or 1) amino acids, at either terminus or at both termini. Polynucleotides encoding these polypeptide fragments are also encompassed by the invention.

[260] Even if deletion of one or more amino acids from the N-terminus of a protein results in modification or loss of one or more biological functions of the protein, other functional activities (e.g., biological activities, ability to multimerize, ability to bind a ligand) may still be retained. For example, the ability of shortened muteins to induce and/or bind to antibodies which recognize the complete or mature forms of the polypeptides generally will be retained when less than the majority of the residues of the complete or mature polypeptide are removed from the N-terminus. Whether a particular polypeptide lacking N-terminal residues of a complete polypeptide retains such immunologic activities can readily be determined by routine methods described herein and otherwise known in the art. It is not unlikely that a mutein with a large number of deleted N-terminal amino acid residues may retain some biological or immunogenic activities. In fact, peptides composed of as few as six amino acid residues may often evoke an immune response.

[261] Accordingly, polypeptide fragments of the invention include the secreted protein as well as the mature form. Further preferred polypeptide fragments include the secreted protein or the mature form having a continuous series of deleted residues from the amino or the carboxy terminus, or both. For example, any number of amino acids, ranging from 1-60, can be deleted from the amino terminus of either the secreted polypeptide or the mature form. Similarly, any number of amino acids, ranging from 1-30, can be deleted from the carboxy terminus of the secreted protein or mature form. Furthermore, any combination of the above amino and carboxy terminus deletions are preferred. Similarly, polynucleotides encoding these polypeptide fragments are also preferred.

[262] The present invention further provides polypeptides having one or more residues deleted from the amino terminus of the amino acid sequence of a polypeptide disclosed herein (e.g., a polypeptide of SEQ ID NO:Y, a polypeptide encoded by the polynucleotide sequence contained in SEQ ID NO:X, and/or a polypeptide encoded by the cDNA contained in cDNA plasmid:V). In particular, N-terminal deletions may be described by the general formula m-q, where q is a whole integer representing the total number of amino acid residues in a polypeptide of the invention (e.g., the polypeptide disclosed in SEQ ID NO:Y), and m is

WO 02/02587

PCT/US01/20917

defined as any integer ranging from 2 to q-6. Polynucleotides encoding these polypeptides, including fragments and/or variants, are also encompassed by the invention.

[263] Also as mentioned above, even if deletion of one or more amino acids from the C-terminus of a protein results in modification or loss of one or more biological functions of the protein, other functional activities (e.g., biological activities, ability to multimerize, ability to bind a ligand) may still be retained. For example the ability of the shortened mutin to induce and/or bind to antibodies which recognize the complete or mature forms of the polypeptide generally will be retained when less than the majority of the residues of the complete or mature polypeptide are removed from the C-terminus. Whether a particular polypeptide lacking C-terminal residues of a complete polypeptide retains such immunologic activities can readily be determined by routine methods described herein and otherwise known in the art. It is not unlikely that a mutin with a large number of deleted C-terminal amino acid residues may retain some biological or immunogenic activities. In fact, peptides composed of as few as six amino acid residues may often evoke an immune response.

[264] Accordingly, the present invention further provides polypeptides having one or more residues from the carboxy terminus of the amino acid sequence of a polypeptide disclosed herein (e.g., a polypeptide of SEQ ID NO:Y, a polypeptide encoded by the polynucleotide sequence contained in SEQ ID NO:X, and/or a polypeptide encoded by the cDNA contained in cDNA plasmid:V). In particular, C-terminal deletions may be described by the general formula 1-n, where n is any whole integer ranging from 6 to q-1, and where n corresponds to the position of an amino acid residue in a polypeptide of the invention. Polynucleotides encoding these polypeptides, including fragments and/or variants, are also encompassed by the invention.

[265] In addition, any of the above described N- or C-terminal deletions can be combined to produce a N- and C-terminal deleted polypeptide. The invention also provides polypeptides having one or more amino acids deleted from both the amino and the carboxyl termini, which may be described generally as having residues m-n of a polypeptide encoded by SEQ ID NO:X (e.g., including, but not limited to, the preferred polypeptide disclosed as SEQ ID NO:Y), and/or the cDNA in cDNA plasmid:V, and/or the complement thereof, where n and m are integers as described above. Polynucleotides encoding these polypeptides, including fragments and/or variants, are also encompassed by the invention.

[266] Any polypeptide sequence contained in the polypeptide of SEQ ID NO:Y, encoded

WO 02/02587

PCT/US01/20917

by the polynucleotide sequences set forth as SEQ ID NO:X, or encoded by the cDNA in cDNA plasmid:V may be analyzed to determine certain preferred regions of the polypeptide. For example, the amino acid sequence of a polypeptide encoded by a polynucleotide sequence of SEQ ID NO:X or the cDNA in cDNA plasmid:V may be analyzed using the default parameters of the DNASTAR computer algorithm (DNASTAR, Inc., 1228 S. Park St., Madison, WI 53715 USA; <http://www.dnastar.com/>).

[267] Polypeptide regions that may be routinely obtained using the DNASTAR computer algorithm include, but are not limited to, Garnier-Robson alpha-regions, beta-regions, turn-regions, and coil-regions, Chou-Fasman alpha-regions, beta-regions, and turn-regions, Kyte-Doolittle hydrophilic regions and hydrophobic regions, Eisenberg alpha- and beta-amphipathic regions, Karplus-Schulz flexible regions, Emini surface-forming regions and Jameson-Wolf regions of high antigenic index. Among highly preferred polynucleotides of the invention in this regard are those that encode polypeptides comprising regions that combine several structural features, such as several (e.g., 1, 2, 3 or 4) of the features set out above.

[268] Additionally, Kyte-Doolittle hydrophilic regions and hydrophobic regions, Emini surface-forming regions, and Jameson-Wolf regions of high antigenic index (i.e., containing four or more contiguous amino acids having an antigenic index of greater than or equal to 1.5, as identified using the default parameters of the Jameson-Wolf program) can routinely be used to determine polypeptide regions that exhibit a high degree of potential for antigenicity. Regions of high antigenicity are determined from data by DNASTAR analysis by choosing values which represent regions of the polypeptide which are likely to be exposed on the surface of the polypeptide in an environment in which antigen recognition may occur in the process of initiation of an immune response.

[269] Preferred polypeptide fragments of the invention are fragments comprising, or alternatively, consisting of, an amino acid sequence that displays a functional activity (e.g. biological activity) of the polypeptide sequence of which the amino acid sequence is a fragment. By a polypeptide displaying a "functional activity" is meant a polypeptide capable of one or more known functional activities associated with a full-length protein, such as, for example, biological activity, antigenicity, immunogenicity, and/or multimerization, as described supra.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[270] Other preferred polypeptide fragments are biologically active fragments. Biologically active fragments are those exhibiting activity similar, but not necessarily identical, to an activity of the polypeptide of the present invention. The biological activity of the fragments may include an improved desired activity, or a decreased undesirable activity.

[271] In preferred embodiments, polypeptides of the invention comprise, or alternatively consist of, one, two, three, four, five or more of the antigenic fragments of the polypeptide of SEQ ID NO:Y, or portions thereof. Polynucleotides encoding these polypeptides, including fragments and/or variants, are also encompassed by the invention.

[272] The present invention encompasses polypeptides comprising, or alternatively consisting of, an epitope of the polypeptide sequence shown in SEQ ID NO:Y, or an epitope of the polypeptide sequence encoded by the cDNA in cDNA plasmid:V, or encoded by a polynucleotide that hybridizes to the complement of an epitope encoding sequence of SEQ ID NO:X, or an epitope encoding sequence contained in cDNA plasmid:V under stringent hybridization conditions, or alternatively, under lower stringency hybridization, as defined supra. The present invention further encompasses polynucleotide sequences encoding an epitope of a polypeptide sequence of the invention (such as, for example, the sequence disclosed in SEQ ID NO:X), polynucleotide sequences of the complementary strand of a polynucleotide sequence encoding an epitope of the invention, and polynucleotide sequences which hybridize to this complementary strand under stringent hybridization conditions, or alternatively, under lower stringency hybridization conditions, as defined supra.

[273] The term "epitopes," as used herein, refers to portions of a polypeptide having antigenic or immunogenic activity in an animal, preferably a mammal, and most preferably in a human. In a preferred embodiment, the present invention encompasses a polypeptide comprising an epitope, as well as the polynucleotide encoding this polypeptide. An "immunogenic epitope," as used herein, is defined as a portion of a protein that elicits an antibody response in an animal, as determined by any method known in the art, for example, by the methods for generating antibodies described infra. (See, for example, Geysen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:3998-4002 (1983)). The term "antigenic epitope," as used herein, is defined as a portion of a protein to which an antibody can immunospecifically bind its antigen as determined by any method well known in the art, for example, by the immunoassays described herein. Immunospecific binding excludes non-specific binding but

WO 02/02587

PCT/US01/20917

does not necessarily exclude cross-reactivity with other antigens. Antigenic epitopes need not necessarily be immunogenic.

[274] Fragments which function as epitopes may be produced by any conventional means. (See, e.g., Houghton, R. A., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82:5131-5135 (1985) further described in U.S. Patent No. 4,631,211.)

[275] In the present invention, antigenic epitopes preferably contain a sequence of at least 4, at least 5, at least 6, at least 7, more preferably at least 8, at least 9, at least 10, at least 11, at least 12, at least 13, at least 14, at least 15, at least 20, at least 25, at least 30, at least 40, at least 50, and, most preferably, between about 15 to about 30 amino acids. Preferred polypeptides comprising immunogenic or antigenic epitopes are at least 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, or 100 amino acid residues in length. Additional non-exclusive preferred antigenic epitopes include the antigenic epitopes disclosed herein, as well as portions thereof. Antigenic epitopes are useful, for example, to raise antibodies, including monoclonal antibodies, that specifically bind the epitope. Preferred antigenic epitopes include the antigenic epitopes disclosed herein, as well as any combination of two, three, four, five or more of these antigenic epitopes. Antigenic epitopes can be used as the target molecules in immunoassays. (See, for instance, Wilson et al., *Cell* 37:767-778 (1984); Sutcliffe et al., *Science* 219:660-666 (1983)).

[276] Similarly, immunogenic epitopes can be used, for example, to induce antibodies according to methods well known in the art. (See, for instance, Sutcliffe et al., *supra*; Wilson et al., *supra*; Chow et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82:910-914; and Bittle et al., *J. Gen. Virol.* 66:2347-2354 (1985)). Preferred immunogenic epitopes include the immunogenic epitopes disclosed herein, as well as any combination of two, three, four, five or more of these immunogenic epitopes. The polypeptides comprising one or more immunogenic epitopes may be presented for eliciting an antibody response together with a carrier protein, such as an albumin, to an animal system (such as rabbit or mouse), or, if the polypeptide is of sufficient length (at least about 25 amino acids), the polypeptide may be presented without a carrier. However, immunogenic epitopes comprising as few as 8 to 10 amino acids have been shown to be sufficient to raise antibodies capable of binding to, at the very least, linear epitopes in a denatured polypeptide (e.g., in Western blotting).

[277] Epitope-bearing polypeptides of the present invention may be used to induce antibodies according to methods well known in the art including, but not limited to, in vivo

WO 02/02587

PCT/US01/20917

immunization, in vitro immunization, and phage display methods. See, e.g., Sutcliffe et al., supra; Wilson et al., supra, and Bittle et al., J. Gen. Virol., 66:2347-2354 (1985). If in vivo immunization is used, animals may be immunized with free peptide; however, anti-peptide antibody titer may be boosted by coupling the peptide to a macromolecular carrier, such as keyhole limpet hemacyanin (KLH) or tetanus toxoid. For instance, peptides containing cysteine residues may be coupled to a carrier using a linker such as maleimidobenzoyl-N-hydroxysuccinimide ester (MBS), while other peptides may be coupled to carriers using a more general linking agent such as glutaraldehyde. Animals such as rabbits, rats and mice are immunized with either free or carrier-coupled peptides, for instance, by intraperitoneal and/or intradermal injection of emulsions containing about 100 µg of peptide or carrier protein and Freund's adjuvant or any other adjuvant known for stimulating an immune response. Several booster injections may be needed, for instance, at intervals of about two weeks, to provide a useful titer of anti-peptide antibody which can be detected, for example, by ELISA assay using free peptide adsorbed to a solid surface. The titer of anti-peptide antibodies in serum from an immunized animal may be increased by selection of anti-peptide antibodies, for instance, by adsorption to the peptide on a solid support and elution of the selected antibodies according to methods well known in the art.

[278] As one of skill in the art will appreciate, and as discussed above, the polypeptides of the present invention and immunogenic and/or antigenic epitope fragments thereof can be fused to other polypeptide sequences. For example, the polypeptides of the present invention may be fused with the constant domain of immunoglobulins (IgA, IgE, IgG, IgM), or portions thereof (CH1, CH2, CH3, or any combination thereof and portions thereof) resulting in chimeric polypeptides. Such fusion proteins may facilitate purification and may increase half-life in vivo. This has been shown for chimeric proteins consisting of the first two domains of the human CD4-polypeptide and various domains of the constant regions of the heavy or light chains of mammalian immunoglobulins. See, e.g., EP 394,827; Traunecker et al., Nature, 331:84-86 (1988). Enhanced delivery of an antigen across the epithelial barrier to the immune system has been demonstrated for antigens (e.g., insulin) conjugated to an FcRn binding partner such as IgG or Fc fragments (see, e.g., PCT Publications WO 96/22024 and WO 99/04813). IgG Fusion proteins that have a disulfide-linked dimeric structure due to the IgG portion disulfide bonds have also been found to be more efficient in binding and

WO 02/02587

PCT/US01/20917

neutralizing other molecules than monomeric polypeptides or fragments thereof alone. See, e.g., Fountoulakis et al., *J. Biochem.*, 270:3958-3964 (1995).

[279] Similarly, EP-A-O 464 533 (Canadian counterpart 2045869) discloses fusion proteins comprising various portions of constant region of immunoglobulin molecules together with another human protein or part thereof. In many cases, the Fc part in a fusion protein is beneficial in therapy and diagnosis, and thus can result in, for example, improved pharmacokinetic properties. (EP-A 0232 262.) Alternatively, deleting the Fc part after the fusion protein has been expressed, detected, and purified, may be desired. For example, the Fc portion may hinder therapy and diagnosis if the fusion protein is used as an antigen for immunizations. In drug discovery, for example, human proteins, such as hIL-5, have been fused with Fc portions for the purpose of high-throughput screening assays to identify antagonists of hIL-5. (See, D. Bennett et al., *J. Molecular Recognition* 8:52-58 (1995); K. Johanson et al., *J. Biol. Chem.* 270:9459-9471 (1995)).

[280] Moreover, the polypeptides of the present invention can be fused to marker sequences, such as a peptide which facilitates purification of the fused polypeptide. In preferred embodiments, the marker amino acid sequence is a hexa-histidine peptide, such as the tag provided in a pQE vector (QIAGEN, Inc., 9259 Eton Avenue, Chatsworth, CA, 91311), among others, many of which are commercially available. As described in Gentz et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:821-824 (1989), for instance, hexa-histidine provides for convenient purification of the fusion protein. Another peptide tag useful for purification, the "HA" tag, corresponds to an epitope derived from the influenza hemagglutinin protein. (Wilson et al., *Cell* 37:767 (1984)).

[281] Thus, any of these above fusions can be engineered using the polynucleotides or the polypeptides of the present invention.

[282] Nucleic acids encoding the above epitopes can also be recombined with a gene of interest as an epitope tag (e.g., the hemagglutinin ("HA") tag or flag tag) to aid in detection and purification of the expressed polypeptide. For example, a system described by Janknecht et al. allows for the ready purification of non-denatured fusion proteins expressed in human cell lines (Janknecht et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:8972-897 (1991)). In this system, the gene of interest is subcloned into a vaccinia recombination plasmid such that the open reading frame of the gene is translationally fused to an amino-terminal tag consisting of six histidine residues. The tag serves as a matrix binding domain for the fusion

WO 02/02587

PCT/US01/20917

protein. Extracts from cells infected with the recombinant vaccinia virus are loaded onto Ni²⁺ nitriloacetic acid-agarose column and histidine-tagged proteins can be selectively eluted with imidazole-containing buffers.

[283] Additional fusion proteins of the invention may be generated through the techniques of gene-shuffling, motif-shuffling, exon-shuffling, and/or codon-shuffling (collectively referred to as "DNA shuffling"). DNA shuffling may be employed to modulate the activities of polypeptides of the invention, such methods can be used to generate polypeptides with altered activity, as well as agonists and antagonists of the polypeptides. See, generally, U.S. Patent Nos. 5,605,793; 5,811,238; 5,830,721; 5,834,252; and 5,837,458, and Patten et al., *Curr. Opin. Biotechnol.* 8:724-33 (1997); Harayama, *Trends Biotechnol.* 16(2):76-82 (1998); Hansson, et al., *J. Mol. Biol.* 287:265-76 (1999); and Lorenzo and Blasco, *Biotechniques* 24(2):308-13 (1998) (each of these patents and publications are hereby incorporated by reference in its entirety). In one embodiment, alteration of polynucleotides corresponding to SEQ ID NO:X and the polypeptides encoded by these polynucleotides may be achieved by DNA shuffling. DNA shuffling involves the assembly of two or more DNA segments by homologous or site-specific recombination to generate variation in the polynucleotide sequence. In another embodiment, polynucleotides of the invention, or the encoded polypeptides, may be altered by being subjected to random mutagenesis by error-prone PCR, random nucleotide insertion or other methods prior to recombination. In another embodiment, one or more components, motifs, sections, parts, domains, fragments, etc., of a polynucleotide encoding a polypeptide of the invention may be recombined with one or more components, motifs, sections, parts, domains, fragments, etc. of one or more heterologous molecules.

Polynucleotide and Polypeptide Variants

[284] The invention also encompasses B7-like variants. The present invention is directed to variants of the polynucleotide sequence disclosed in SEQ ID NO:X or the complementary strand thereto, and/or the cDNA sequence contained in cDNA plasmid:V.

[285] The present invention also encompasses variants of the polypeptide sequence disclosed in SEQ ID NO:Y, a polypeptide sequence encoded by the polynucleotide sequence in SEQ ID NO:X and/or a polypeptide sequence encoded by the cDNA in cDNA plasmid:V.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[286] "Variant" refers to a polynucleotide or polypeptide differing from the polynucleotide or polypeptide of the present invention, but retaining properties thereof. Generally, variants are overall closely similar, and, in many regions, identical to the polynucleotide or polypeptide of the present invention.

[287] Thus, one aspect of the invention provides an isolated nucleic acid molecule comprising, or alternatively consisting of, a polynucleotide having a nucleotide sequence selected from the group consisting of: (a) a nucleotide sequence described in SEQ ID NO:X or contained in the cDNA sequence of Plasmid:V; (b) a nucleotide sequence in SEQ ID NO:X or the cDNA in Plasmid:V which encodes the complete amino acid sequence of SEQ ID NO:Y or the complete amino acid sequence encoded by the cDNA in Plasmid:V; (c) a nucleotide sequence in SEQ ID NO:X or the cDNA in Plasmid:V which encodes a mature B7-like polypeptide; (d) a nucleotide sequence in SEQ ID NO:X or the cDNA sequence of Plasmid:V, which encodes a biologically active fragment of a B7-like polypeptide; (e) a nucleotide sequence in SEQ ID NO:X or the cDNA sequence of Plasmid:V, which encodes an antigenic fragment of a B7-like polypeptide; (f) a nucleotide sequence encoding a B7-like polypeptide comprising the complete amino acid sequence of SEQ ID NO:Y or the complete amino acid sequence encoded by the cDNA in Plasmid:V; (g) a nucleotide sequence encoding a mature B7-like polypeptide of the amino acid sequence of SEQ ID NO:Y or the amino acid sequence encoded by the cDNA in Plasmid:V; (h) a nucleotide sequence encoding a biologically active fragment of a B7-like polypeptide having the complete amino acid sequence of SEQ ID NO:Y or the complete amino acid sequence encoded by the cDNA in Plasmid:V; (i) a nucleotide sequence encoding an antigenic fragment of a B7-like polypeptide having the complete amino acid sequence of SEQ ID NO:Y or the complete amino acid sequence encoded by the cDNA in Plasmid:V; and (j) a nucleotide sequence complementary to any of the nucleotide sequences in (a), (b), (c), (d), (e), (f), (g), (h), or (i) above.

[288] The present invention is also directed to nucleic acid molecules which comprise, or alternatively consist of, a nucleotide sequence which is at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% or 100%, identical to, for example, any of the nucleotide sequences in (a), (b), (c), (d), (e), (f), (g), (h), (i), or (j) above, the nucleotide coding sequence in SEQ ID NO:X or the complementary strand thereto, the nucleotide coding sequence of the cDNA contained in Plasmid:V or the complementary strand thereto, a nucleotide sequence encoding

WO 02/02587

PCT/US01/20917

the polypeptide of SEQ ID NO:Y, a nucleotide sequence encoding a polypeptide sequence encoded by the nucleotide sequence in SEQ ID NO:X, a polypeptide sequence encoded by the complement of the polynucleotide sequence in SEQ ID NO:X, a nucleotide sequence encoding the polypeptide encoded by the cDNA contained in Plasmid:V, the nucleotide sequence in SEQ ID NO:X encoding the polypeptide sequence as defined in column 10 of Table 1 or the complementary strand thereto, nucleotide sequences encoding the polypeptide as defined in column 10 of Table 1 or the complementary strand thereto, and/or polynucleotide fragments of any of these nucleic acid molecules (e.g., those fragments described herein). Polynucleotides which hybridize to the complement of these nucleic acid molecules under stringent hybridization conditions or alternatively, under lower stringency conditions, are also encompassed by the invention, as are polypeptides encoded by these polynucleotides and nucleic acids.

[289] In a preferred embodiment, the invention encompasses nucleic acid molecules which comprise, or alternatively, consist of a polynucleotide which hybridizes under stringent hybridization conditions, or alternatively, under lower stringency conditions, to a polynucleotide in (a), (b), (c), (d), (e), (f), (g), (h), or (i), above, as are polypeptides encoded by these polynucleotides. In another preferred embodiment, polynucleotides which hybridize to the complement of these nucleic acid molecules under stringent hybridization conditions, or alternatively, under lower stringency conditions, are also encompassed by the invention, as are polypeptides encoded by these polynucleotides.

[290] In another embodiment, the invention provides a purified protein comprising, or alternatively consisting of, a polypeptide having an amino acid sequence selected from the group consisting of: (a) the complete amino acid sequence of SEQ ID NO:Y or the complete amino acid sequence encoded by the cDNA in Plasmid:V; (b) the amino acid sequence of a mature form of a B7-like polypeptide having the amino acid sequence of SEQ ID NO:Y or the amino acid sequence encoded by the cDNA in Plasmid:V; (c) the amino acid sequence of a biologically active fragment of a B7-like polypeptide having the complete amino acid sequence of SEQ ID NO:Y or the complete amino acid sequence encoded by the cDNA in Plasmid:V; and (d) the amino acid sequence of an antigenic fragment of a B7-like polypeptide having the complete amino acid sequence of SEQ ID NO:Y or the complete amino acid sequence encoded by the cDNA in Plasmid:V.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[291] The present invention is also directed to proteins which comprise, or alternatively consist of, an amino acid sequence which is at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% or 100%, identical to, for example, any of the amino acid sequences in (a), (b), (c), or (d), above, the amino acid sequence shown in SEQ ID NO:Y, the amino acid sequence encoded by the cDNA contained in Plasmid:V, the amino acid sequence as defined in column 10 of Table I, an amino acid sequence encoded by the nucleotide sequence in SEQ ID NO:X, and an amino acid sequence encoded by the complement of the polynucleotide sequence in SEQ ID NO:X. Fragments of these polypeptides are also provided (e.g., those fragments described herein). Further proteins encoded by polynucleotides which hybridize to the complement of the nucleic acid molecules encoding these amino acid sequences under stringent hybridization conditions or alternatively, under lower stringency conditions, are also encompassed by the invention, as are the polynucleotides encoding these proteins.

[292] By a nucleic acid having a nucleotide sequence at least, for example, 95% "identical" to a reference nucleotide sequence of the present invention, it is intended that the nucleotide sequence of the nucleic acid is identical to the reference sequence except that the nucleotide sequence may include up to five point mutations per each 100 nucleotides of the reference nucleotide sequence encoding the polypeptide. In other words, to obtain a nucleic acid having a nucleotide sequence at least 95% identical to a reference nucleotide sequence, up to 5% of the nucleotides in the reference sequence may be deleted or substituted with another nucleotide, or a number of nucleotides up to 5% of the total nucleotides in the reference sequence may be inserted into the reference sequence. The query sequence may be an entire sequence referred to in Table I, the ORF (open reading frame), or any fragment specified as described herein.

[293] As a practical matter, whether any particular nucleic acid molecule or polypeptide is at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% or 99% identical to a nucleotide sequence of the present invention can be determined conventionally using known computer programs. A preferred method for determining the best overall match between a query sequence (a sequence of the present invention) and a subject sequence, also referred to as a global sequence alignment, can be determined using the FASTDB computer program based on the algorithm of Brutlag et al. (Comp. App. Biosci. 6:237-245 (1990)). In a sequence alignment the query and subject sequences are both DNA sequences. An RNA sequence can be compared by converting U's to T's. The result of said global sequence alignment is in

WO 02/02587

PCT/US01/20917

percent identity. Preferred parameters used in a FASTDB alignment of DNA sequences to calculate percent identity are: Matrix=Unitary, k-tuple=4, Mismatch Penalty=1, Joining Penalty=30, Randomization Group Length=0, Cutoff Score=1, Gap Penalty=5, Gap Size Penalty 0.05, Window Size=500 or the length of the subject nucleotide sequence, whichever is shorter.

[294] If the subject sequence is shorter than the query sequence because of 5' or 3' deletions, not because of internal deletions, a manual correction must be made to the results. This is because the FASTDB program does not account for 5' and 3' truncations of the subject sequence when calculating percent identity. For subject sequences truncated at the 5' or 3' ends, relative to the query sequence, the percent identity is corrected by calculating the number of bases of the query sequence that are 5' and 3' of the subject sequence, which are not matched/aligned, as a percent of the total bases of the query sequence. Whether a nucleotide is matched/aligned is determined by results of the FASTDB sequence alignment. This percentage is then subtracted from the percent identity, calculated by the above FASTDB program using the specified parameters, to arrive at a final percent identity score. This corrected score is what is used for the purposes of the present invention. Only bases outside the 5' and 3' bases of the subject sequence, as displayed by the FASTDB alignment, which are not matched/aligned with the query sequence, are calculated for the purposes of manually adjusting the percent identity score.

[295] For example, a 90 base subject sequence is aligned to a 100 base query sequence to determine percent identity. The deletions occur at the 5' end of the subject sequence and therefore, the FASTDB alignment does not show a matched/alignment of the first 10 bases at 5' end. The 10 unpaired bases represent 10% of the sequence (number of bases at the 5' and 3' ends not matched/total number of bases in the query sequence) so 10% is subtracted from the percent identity score calculated by the FASTDB program. If the remaining 90 bases were perfectly matched the final percent identity would be 90%. In another example, a 90 base subject sequence is compared with a 100 base query sequence. This time the deletions are internal deletions so that there are no bases on the 5' or 3' of the subject sequence which are not matched/aligned with the query. In this case the percent identity calculated by FASTDB is not manually corrected. Once again, only bases 5' and 3' of the subject sequence which are not matched/aligned with the query sequence are manually corrected for. No other manual corrections are to be made for the purposes of the present invention.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[296] By a polypeptide having an amino acid sequence at least, for example, 95% "identical" to a query amino acid sequence of the present invention, it is intended that the amino acid sequence of the subject polypeptide is identical to the query sequence except that the subject polypeptide sequence may include up to five amino acid alterations per each 100 amino acids of the query amino acid sequence. In other words, to obtain a polypeptide having an amino acid sequence at least 95% identical to a query amino acid sequence, up to 5% of the amino acid residues in the subject sequence may be inserted, deleted, (indels) or substituted with another amino acid. These alterations of the reference sequence may occur at the amino or carboxy terminal positions of the reference amino acid sequence or anywhere between those terminal positions, interspersed either individually among residues in the reference sequence or in one or more contiguous groups within the reference sequence.

[297] As a practical matter, whether any particular polypeptide is at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% or 99% identical to, for instance, the amino acid sequence referred to in Table 1 or a fragment thereof, the amino acid sequence encoded by the nucleotide sequence in SEQ ID NO:X or a fragment thereof, or to the amino acid sequence encoded by the cDNA in cDNA plasmid:V, or a fragment thereof, can be determined conventionally using known computer programs. A preferred method for determining the best overall match between a query sequence (a sequence of the present invention) and a subject sequence, also referred to as a global sequence alignment, can be determined using the FASTDB computer program based on the algorithm of Brutlag et al. (Comp. App. Biosci.6:237-245(1990)). In a sequence alignment the query and subject sequences are either both nucleotide sequences or both amino acid sequences. The result of said global sequence alignment is in percent identity. Preferred parameters used in a FASTDB amino acid alignment are: Matrix=PAM 0, k-tuple=2, Mismatch Penalty=1, Joining Penalty=20, Randomization Group Length=0, Cutoff Score=1, Window Size=sequence length, Gap Penalty=5, Gap Size Penalty=0.05, Window Size=500 or the length of the subject amino acid sequence, whichever is shorter.

[298] If the subject sequence is shorter than the query sequence due to N- or C-terminal deletions, not because of internal deletions, a manual correction must be made to the results. This is because the FASTDB program does not account for N- and C-terminal truncations of the subject sequence when calculating global percent identity. For subject sequences truncated at the N- and C-termini, relative to the query sequence, the percent identity is

WO 02/02587

PCT/US01/20917

corrected by calculating the number of residues of the query sequence that are N- and C-terminal of the subject sequence, which are not matched/aligned with a corresponding subject residue, as a percent of the total bases of the query sequence. Whether a residue is matched/aligned is determined by results of the FASTDB sequence alignment. This percentage is then subtracted from the percent identity, calculated by the above FASTDB program using the specified parameters, to arrive at a final percent identity score. This final percent identity score is what is used for the purposes of the present invention. Only residues to the N- and C-termini of the subject sequence, which are not matched/aligned with the query sequence, are considered for the purposes of manually adjusting the percent identity score. That is, only query residue positions outside the farthest N- and C- terminal residues of the subject sequence.

[299] For example, a 90 amino acid residue subject sequence is aligned with a 100 residue query sequence to determine percent identity. The deletion occurs at the N-terminus of the subject sequence and therefore, the FASTDB alignment does not show a matching/alignment of the first 10 residues at the N-terminus. The 10 unpaired residues represent 10% of the sequence (number of residues at the N- and C- termini not matched/total number of residues in the query sequence) so 10% is subtracted from the percent identity score calculated by the FASTDB program. If the remaining 90 residues were perfectly matched the final percent identity would be 90%. In another example, a 90 residue subject sequence is compared with a 100 residue query sequence. This time the deletions are internal deletions so there are no residues at the N- or C-termini of the subject sequence which are not matched/aligned with the query. In this case the percent identity calculated by FASTDB is not manually corrected. Once again, only residue positions outside the N- and C-terminal ends of the subject sequence, as displayed in the FASTDB alignment, which are not matched/aligned with the query sequence are manually corrected for. No other manual corrections are to be made for the purposes of the present invention.

[300] The variants may contain alterations in the coding regions, non-coding regions, or both. Especially preferred are polynucleotide variants containing alterations which produce silent substitutions, additions, or deletions, but do not alter the properties or activities of the encoded polypeptide. Nucleotide variants produced by silent substitutions due to the degeneracy of the genetic code are preferred. Moreover, variants in which less than 50, less than 40, less than 30, less than 20, less than 10, or 5-50, 5-25, 5-10, 1-5, or 1-2 amino acids

WO 02/02587

PCT/US01/20917

are substituted, deleted, or added in any combination are also preferred. Polynucleotide variants can be produced for a variety of reasons, e.g., to optimize codon expression for a particular host (change codons in the human mRNA to those preferred by a bacterial host such as *E. coli*).

[301] Naturally occurring variants are called "allelic variants," and refer to one of several alternate forms of a gene occupying a given locus on a chromosome of an organism. (Genes II, Lewin, B., ed., John Wiley & Sons, New York (1985)). These allelic variants can vary at either the polynucleotide and/or polypeptide level and are included in the present invention. Alternatively, non-naturally occurring variants may be produced by mutagenesis techniques or by direct synthesis.

[302] Using known methods of protein engineering and recombinant DNA technology, variants may be generated to improve or alter the characteristics of the polypeptides of the present invention. For instance, as discussed herein, one or more amino acids can be deleted from the N-terminus or C-terminus of the polypeptide of the present invention without substantial loss of biological function. The authors of Ron et al., *J. Biol. Chem.* 268: 2984-2988 (1993), reported variant KGF proteins having heparin binding activity even after deleting 3, 8, or 27 amino-terminal amino acid residues. Similarly, Interferon gamma exhibited up to ten times higher activity after deleting 8-10 amino acid residues from the carboxy terminus of this protein. (Dobeli et al., *J. Biotechnology* 7:199-216 (1988)).

[303] Moreover, ample evidence demonstrates that variants often retain a biological activity similar to that of the naturally occurring protein. For example, Gayle and coworkers (*J. Biol. Chem.* 268:22105-22111 (1993)) conducted extensive mutational analysis of human cytokine IL-1a. They used random mutagenesis to generate over 3,500 individual IL-1a mutants that averaged 2.5 amino acid changes per variant over the entire length of the molecule. Multiple mutations were examined at every possible amino acid position. The investigators found that "[m]ost of the molecule could be altered with little effect on either [binding or biological activity]." (See, Abstract.) In fact, only 23 unique amino acid sequences, out of more than 3,500 nucleotide sequences examined, produced a protein that significantly differed in activity from wild-type.

[304] Furthermore, as discussed herein, even if deleting one or more amino acids from the N-terminus or C-terminus of a polypeptide results in modification or loss of one or more biological functions, other biological activities may still be retained. For example, the ability

WO 02/02587

PCT/US01/20917

of a deletion variant to induce and/or to bind antibodies which recognize the secreted form will likely be retained when less than the majority of the residues of the secreted form are removed from the N-terminus or C-terminus. Whether a particular polypeptide lacking N- or C-terminal residues of a protein retains such immunogenic activities can readily be determined by routine methods described herein and otherwise known in the art.

[305] Thus, the invention further includes polypeptide variants which show a functional activity (e.g. biological activity) of the polypeptide of the invention, of which they are a variant. Such variants include deletions, insertions, inversions, repeats, and substitutions selected according to general rules known in the art so as have little effect on activity.

[306] The present application is directed to nucleic acid molecules at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% or 100% identical to the nucleic acid sequences disclosed herein, (e.g., encoding a polypeptide having the amino acid sequence of an N and/or C terminal deletion), irrespective of whether they encode a polypeptide having functional activity. This is because even where a particular nucleic acid molecule does not encode a polypeptide having functional activity, one of skill in the art would still know how to use the nucleic acid molecule, for instance, as a hybridization probe or a polymerase chain reaction (PCR) primer. Uses of the nucleic acid molecules of the present invention that do not encode a polypeptide having functional activity include, inter alia, (1) isolating a gene or allelic or splice variants thereof in a cDNA library; (2) in situ hybridization (e.g., "FISH") to metaphase chromosomal spreads to provide precise chromosomal location of the gene, as described in Verma et al., *Human Chromosomes: A Manual of Basic Techniques*, Pergamon Press, New York (1988); and (3) Northern Blot analysis for detecting mRNA expression in specific tissues.

[307] Preferred, however, are nucleic acid molecules having sequences at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% or 100% identical to the nucleic acid sequences disclosed herein, which do, in fact, encode a polypeptide having functional activity of a polypeptide of the invention.

[308] Of course, due to the degeneracy of the genetic code, one of ordinary skill in the art will immediately recognize that a large number of the nucleic acid molecules having a sequence at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, or 100% identical to, for example, the nucleic acid sequence of the cDNA in cDNA plasmid V, the nucleic acid sequence referred to in Table 1 (SEQ ID NO:XX), or fragments thereof, will encode

WO 02/02587

PCT/US01/20917

polypeptides "having functional activity." In fact, since degenerate variants of any of these nucleotide sequences all encode the same polypeptide, in many instances, this will be clear to the skilled artisan even without performing the above described comparison assay. It will be further recognized in the art that, for such nucleic acid molecules that are not degenerate variants, a reasonable number will also encode a polypeptide having functional activity. This is because the skilled artisan is fully aware of amino acid substitutions that are either less likely or not likely to significantly effect protein function (e.g., replacing one aliphatic amino acid with a second aliphatic amino acid), as further described below.

[309] For example, guidance concerning how to make phenotypically silent amino acid substitutions is provided in Bowie et al., "Deciphering the Message in Protein Sequences: Tolerance to Amino Acid Substitutions," *Science* 247:1306-1310 (1990), wherein the authors indicate that there are two main strategies for studying the tolerance of an amino acid sequence to change.

[310] The first strategy exploits the tolerance of amino acid substitutions by natural selection during the process of evolution. By comparing amino acid sequences in different species, conserved amino acids can be identified. These conserved amino acids are likely important for protein function. In contrast, the amino acid positions where substitutions have been tolerated by natural selection indicates that these positions are not critical for protein function. Thus, positions tolerating amino acid substitution could be modified while still maintaining biological activity of the protein.

[311] The second strategy uses genetic engineering to introduce amino acid changes at specific positions of a cloned gene to identify regions critical for protein function. For example, site directed mutagenesis or alanine-scanning mutagenesis (introduction of single alanine mutations at every residue in the molecule) can be used. (Cunningham and Wells, *Science* 244:1081-1085 (1989)). The resulting mutant molecules can then be tested for biological activity.

[312] As the authors state, these two strategies have revealed that proteins are surprisingly tolerant of amino acid substitutions. The authors further indicate which amino acid changes are likely to be permissive at certain amino acid positions in the protein. For example, most buried (within the tertiary structure of the protein) amino acid residues require nonpolar side chains, whereas few features of surface side chains are generally conserved. Moreover, tolerated conservative amino acid substitutions involve replacement of the

WO 02/02587

PCT/US01/20917

aliphatic or hydrophobic amino acids Ala, Val, Leu and Ile; replacement of the hydroxyl residues Ser and Thr; replacement of the acidic residues Asp and Glu; replacement of the amide residues Asn and Gln; replacement of the basic residues Lys, Arg, and His; replacement of the aromatic residues Phe, Tyr, and Trp, and replacement of the small-sized amino acids Ala, Ser, Thr, Met, and Gly. Besides conservative amino acid substitution, variants of the present invention include (i) substitutions with one or more of the non-conserved amino acid residues, where the substituted amino acid residues may or may not be one encoded by the genetic code, or (ii) substitution with one or more of amino acid residues having a substituent group, or (iii) fusion of the mature polypeptide with another compound, such as a compound to increase the stability and/or solubility of the polypeptide (for example, polyethylene glycol), or (iv) fusion of the polypeptide with additional amino acids, such as, for example, an IgG Fc fusion region peptide, or leader or secretory sequence, or a sequence facilitating purification or (v) fusion of the polypeptide with another compound, such as albumin (including but not limited to recombinant albumin (see, e.g., U.S. Patent No. 5,876,969, issued March 2, 1999, EP Patent 0 413 622, and U.S. Patent No. 5,766,883, issued June 16, 1998, herein incorporated by reference in their entirety)). Such variant polypeptides are deemed to be within the scope of those skilled in the art from the teachings herein.

[313] For example, polypeptide variants containing amino acid substitutions of charged amino acids with other charged or neutral amino acids may produce proteins with improved characteristics, such as less aggregation. Aggregation of pharmaceutical formulations both reduces activity and increases clearance due to the aggregate's immunogenic activity. (Pinckard et al., *Clin. Exp. Immunol.* 2:331-340 (1967); Robbins et al., *Diabetes* 36: 838-845 (1987); Cleland et al., *Crit. Rev. Therapeutic Drug Carrier Systems* 10:307-377 (1993)).

[314] A further embodiment of the invention relates to a polypeptide which comprises the amino acid sequence of a polypeptide having an amino acid sequence which contains at least one amino acid substitution, but not more than 50 amino acid substitutions, even more preferably, not more than 40 amino acid substitutions, still more preferably, not more than 30 amino acid substitutions, and still even more preferably, not more than 20 amino acid substitutions. Of course it is highly preferable for a polypeptide to have an amino acid sequence which comprises the amino acid sequence of a polypeptide of SEQ ID NO:Y, an amino acid sequence encoded by SEQ ID NO:X, and/or the amino acid sequence encoded by the cDNA in cDNA plasmid:V which contains, in order of ever-increasing preference, at least

WO 02/02587

PCT/US01/20917

one, but not more than 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 or 1 amino acid substitutions. In specific embodiments, the number of additions, substitutions, and/or deletions in the amino acid sequence of SEQ ID NO:Y or fragments thereof (e.g., the mature form and/or other fragments described herein), an amino acid sequence encoded by SEQ ID NO:X or fragments thereof, and/or the amino acid sequence encoded by cDNA plasmid:V or fragments thereof, is 1-5, 5-10, 5-25, 5-50, 10-50 or 50-150, conservative amino acid substitutions are preferable. As discussed herein, any polypeptide of the present invention can be used to generate fusion proteins. For example, the polypeptide of the present invention, when fused to a second protein, can be used as an antigenic tag. Antibodies raised against the polypeptide of the present invention can be used to indirectly detect the second protein by binding to the polypeptide. Moreover, because secreted proteins target cellular locations based on trafficking signals, polypeptides of the present invention which are shown to be secreted can be used as targeting molecules once fused to other proteins.

[315] Examples of domains that can be fused to polypeptides of the present invention include not only heterologous signal sequences, but also other heterologous functional regions. The fusion does not necessarily need to be direct, but may occur through linker sequences.

[316] In certain preferred embodiments, proteins of the invention comprise fusion proteins wherein the polypeptides are N and/or C-terminal deletion mutants. In preferred embodiments, the application is directed to nucleic acid molecules at least 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% or 99% identical to the nucleic acid sequences encoding polypeptides having the amino acid sequence of the specific N- and C-terminal deletions mutants. Polynucleotides encoding these polypeptides, including fragments and/or variants, are also encompassed by the invention.

[317] Moreover, fusion proteins may also be engineered to improve characteristics of the polypeptide of the present invention. For instance, a region of additional amino acids, particularly charged amino acids, may be added to the N-terminus of the polypeptide to improve stability and persistence during purification from the host cell or subsequent handling and storage. Also, peptide moieties may be added to the polypeptide to facilitate purification. Such regions may be removed prior to final preparation of the polypeptide. The addition of peptide moieties to facilitate handling of polypeptides are familiar and routine techniques in the art.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[318] As one of skill in the art will appreciate, polypeptides of the present invention of the present invention and the epitope-bearing fragments thereof described above can be combined with heterologous polypeptide sequences. For example, the polypeptides of the present invention may be fused with heterologous polypeptide sequences, for example, the polypeptides of the present invention may be fused with the constant domain of immunoglobulins (IgA, IgE, IgG, IgM) or portions thereof (CH1, CH2, CH3, and any combination thereof, including both entire domains and portions thereof), resulting in chimeric polypeptides. These fusion proteins facilitate purification and show an increased half-life in vivo. One reported example describes chimeric proteins consisting of the first two domains of the human CD4-polypeptide and various domains of the constant regions of the heavy or light chains of mammalian immunoglobulins. (EP A 394,827; Trautncker et al., Nature 331:84-86 (1988)). Fusion proteins having disulfide-linked dimeric structures (due to the IgG) can also be more efficient in binding and neutralizing other molecules, than the monomeric protein or protein fragment alone. (Fountoulakis et al., J. Biochem. 270:3958-3964 (1995)).

Vectors, Host Cells, and Protein Production

[319] The present invention also relates to vectors containing the polynucleotide of the present invention, host cells, and the production of polypeptides by recombinant techniques. The vector may be, for example, a phage, plasmid, viral, or retroviral vector. Retroviral vectors may be replication competent or replication defective. In the latter case, viral propagation generally will occur only in complementing host cells.

[320] The polynucleotides of the invention may be joined to a vector containing a selectable marker for propagation in a host. Generally, a plasmid vector is introduced in a precipitate, such as a calcium phosphate precipitate, or in a complex with a charged lipid. If the vector is a virus, it may be packaged in vitro using an appropriate packaging cell line and then transduced into host cells.

[321] The polynucleotide insert should be operatively linked to an appropriate promoter, such as the phage lambda PL promoter, the E. coli lac, trp, phoA and tac promoters, the SV40 early and late promoters and promoters of retroviral LTRs, to name a few. Other suitable promoters will be known to the skilled artisan. The expression constructs will further contain sites for transcription initiation, termination, and, in the transcribed region, a ribosome

WO 02/02587

PCT/US01/20917

binding site for translation. The coding portion of the transcripts expressed by the constructs will preferably include a translation initiating codon at the beginning and a termination codon (UAA, UGA or UAG) appropriately positioned at the end of the polypeptide to be translated.

[322] As indicated, the expression vectors will preferably include at least one selectable marker. Such markers include dihydrofolate reductase, G418 or neomycin resistance for eukaryotic cell culture and tetracycline, kanamycin or ampicillin resistance genes for culturing in *E. coli* and other bacteria. Representative examples of appropriate hosts include, but are not limited to, bacterial cells, such as *E. coli*, *Streptomyces* and *Salmonella typhimurium* cells; fungal cells, such as yeast cells (e.g., *Saccharomyces cerevisiae* or *Pichia pastoris* (ATCC Accession No. 201178)); insect cells such as *Drosophila* S2 and *Spodoptera* Sf9 cells; animal cells such as CHO, COS, 293, and Bowes melanoma cells; and plant cells. Appropriate culture mediums and conditions for the above-described host cells are known in the art.

[323] Among vectors preferred for use in bacteria include pQE70, pQE60 and pQE-9, available from QIAGEN, Inc.; pBluescript vectors, Phagescript vectors, pNH8A, pNH16a, pNH18A, pNH46A, available from Stratagene Cloning Systems, Inc.; and ptc99a, pKK223-3, pKK223-3, pDR540, pRT15 available from Pharmacia Biotech, Inc. Among preferred eukaryotic vectors are pWLNEO, pSV2CAT, pOG44, pXT1 and pSG available from Stratagene; and pSVK3, pBPV, pMSG and pSVL available from Pharmacia. Preferred expression vectors for use in yeast systems include, but are not limited to pYES2, pYD1, pTEF1/Zeo, pYES2/GS, pPICZ, pGAPZ, pGAPZalph, pPIC9, pPIC3.5, pHL-D2, pHL-S1, pPIC3.5K, pPIC9K, and PAO815 (all available from Invitrogen, Carlsbad, CA). Other suitable vectors will be readily apparent to the skilled artisan.

[324] Introduction of the construct into the host cell can be effected by calcium phosphate transfection, DEAE-dextran mediated transfection, cationic lipid-mediated transfection, electroporation, transduction, infection, or other methods. Such methods are described in many standard laboratory manuals, such as Davis et al., *Basic Methods In Molecular Biology* (1986). It is specifically contemplated that the polypeptides of the present invention may in fact be expressed by a host cell lacking a recombinant vector.

[325] A polypeptide of this invention can be recovered and purified from recombinant cell cultures by well-known methods including ammonium sulfate or ethanol precipitation, acid extraction, anion or cation exchange chromatography, phosphocellulose

WO 02/02587

PCT/US01/20917

chromatography, hydrophobic interaction chromatography, affinity chromatography, hydroxylapatite chromatography and lectin chromatography. Most preferably, high performance liquid chromatography ("HPLC") is employed for purification.

[326] Polypeptides of the present invention can also be recovered from: products purified from natural sources, including bodily fluids, tissues and cells, whether directly isolated or cultured; products of chemical synthetic procedures; and products produced by recombinant techniques from a prokaryotic or eukaryotic host, including, for example, bacterial, yeast, higher plant, insect, and mammalian cells. Depending upon the host employed in a recombinant production procedure, the polypeptides of the present invention may be glycosylated or may be non-glycosylated. In addition, polypeptides of the invention may also include an initial modified methionine residue, in some cases as a result of host-mediated processes. Thus, it is well known in the art that the N-terminal methionine encoded by the translation initiation codon generally is removed with high efficiency from any protein after translation in all eukaryotic cells. While the N-terminal methionine on most proteins also is efficiently removed in most prokaryotes, for some proteins, this prokaryotic removal process is inefficient, depending on the nature of the amino acid to which the N-terminal methionine is covalently linked.

[327] In one embodiment, the yeast *Pichia pastoris* is used to express polypeptides of the invention in a eukaryotic system. *Pichia pastoris* is a methylotrophic yeast which can metabolize methanol as its sole carbon source. A main step in the methanol metabolization pathway is the oxidation of methanol to formaldehyde using O₂. This reaction is catalyzed by the enzyme alcohol oxidase. In order to metabolize methanol as its sole carbon source, *Pichia pastoris* must generate high levels of alcohol oxidase due, in part, to the relatively low affinity of alcohol oxidase for O₂. Consequently, in a growth medium depending on methanol as a main carbon source, the promoter region of one of the two alcohol oxidase genes (*AOX1*) is highly active. In the presence of methanol, alcohol oxidase produced from the *AOX1* gene comprises up to approximately 30% of the total soluble protein in *Pichia pastoris*. See, Ellis, S.B., et al., *Mol. Cell. Biol.* 5:1111-21 (1985); Kautz, P.J., et al., *Yeast* 5:167-77 (1989); Tschopp, J.F., et al., *Nucl. Acids Res.* 15:3859-76 (1987). Thus, a heterologous coding sequence, such as, for example, a polynucleotide of the present

WO 02/02587

PCT/US01/20917

invention, under the transcriptional regulation of all or part of the *AOX1* regulatory sequence is expressed at exceptionally high levels in *Pichia* yeast grown in the presence of methanol.

[328] In one example, the plasmid vector pPIC9K is used to express DNA encoding a polypeptide of the invention, as set forth herein, in a *Pichea* yeast system essentially as described in "*Pichia* Protocols: Methods in Molecular Biology," D.R. Higgins and J. Cregg, eds. The Humana Press, Totowa, NJ, 1998. This expression vector allows expression and secretion of a polypeptide of the invention by virtue of the strong *AOX1* promoter linked to the *Pichia pastoris* alkaline phosphatase (*PHO*) secretory signal peptide (i.e., leader) located upstream of a multiple cloning site.

[329] Many other yeast vectors could be used in place of pPIC9K, such as, pYES2, pYD1, pTEF1/*Zeo*, pYES2/*G5*, pPICZ, pGAPZ, pGAPZalpha, pPIC9, pPIC3.5, pHL-D2, pHL-S1, pPIC3.5K, and PAO815, as one skilled in the art would readily appreciate, as long as the proposed expression construct provides appropriately located signals for transcription, translation, secretion (if desired), and the like, including an in-frame AUG as required.

[330] In another embodiment, high-level expression of a heterologous coding sequence, such as, for example, a polynucleotide of the present invention, may be achieved by cloning the heterologous polynucleotide of the invention into an expression vector such as, for example, pGAPZ or pGAPZalpha, and growing the yeast culture in the absence of methanol.

[331] In addition to encompassing host cells containing the vector constructs discussed herein, the invention also encompasses primary, secondary, and immortalized host cells of vertebrate origin, particularly mammalian origin, that have been engineered to delete or replace endogenous genetic material (e.g., coding sequence), and/or to include genetic material (e.g., heterologous polynucleotide sequences) that is operably associated with polynucleotides of the invention, and which activates, alters, and/or amplifies endogenous polynucleotides. For example, techniques known in the art may be used to operably associate heterologous control regions (e.g., promoter and/or enhancer) and endogenous polynucleotide sequences via homologous recombination (see, e.g., U.S. Patent No. 5,641,670, issued June 24, 1997; International Publication No. WO 96/29411, published September 26, 1996; International Publication No. WO 94/12650, published August 4, 1994; Koller et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:8932-8935 (1989); and Zijlstra et al., Nature

WO 02/02587

PCT/US01/20917

342:435-438 (1989), the disclosures of each of which are incorporated by reference in their entireties).

[332] In addition, polypeptides of the invention can be chemically synthesized using techniques known in the art (e.g., see Creighton, 1983, *Proteins: Structures and Molecular Principles*, W.H. Freeman & Co., N.Y., and Hunkapiller et al., *Nature*, 310:105-111 (1984)). For example, a polypeptide corresponding to a fragment of a polypeptide can be synthesized by use of a peptide synthesizer. Furthermore, if desired, nonclassical amino acids or chemical amino acid analogs can be introduced as a substitution or addition into the polypeptide sequence. Non-classical amino acids include, but are not limited to, the D-isomers of the common amino acids, 2,4-diaminobutyric acid, α -amino isobutyric acid, 4-aminobutyric acid, Abu, 2-amino butyric acid, g-Abu, ϵ -Abx, 6-amino hexanoic acid, Aib, 2-amino isobutyric acid, 3-amino propionic acid, ornithine, norleucine, norvaline, hydroxyproline, sarcosine, citrulline, homocitrulline, cysteic acid, t-butylglycine, t-butylalanine, phenylglycine, cyclohexylalanine, β -alanine, fluoro-amino acids, designer amino acids such as β -methyl amino acids, Ca-methyl amino acids, Na-methyl amino acids, and amino acid analogs in general. Furthermore, the amino acid can be D (dextrorotary) or L (levorotary).

[333] The invention encompasses polypeptides of the present invention which are differentially modified during or after translation, e.g., by glycosylation, acetylation, phosphorylation, amidation, derivatization by known protecting/blocking groups, proteolytic cleavage, linkage to an antibody molecule or other cellular ligand, etc. Any of numerous chemical modifications may be carried out by known techniques, including but not limited, to specific chemical cleavage by cyanogen bromide, trypsin, chymotrypsin, papain, V8 protease, NaBH_4 ; acetylation, formylation, oxidation, reduction; metabolic synthesis in the presence of tunicamycin; etc.

[334] Additional post-translational modifications encompassed by the invention include, for example, e.g., N-linked or O-linked carbohydrate chains, processing of N-terminal or C-terminal ends), attachment of chemical moieties to the amino acid backbone, chemical modifications of N-linked or O-linked carbohydrate chains, and addition or deletion of an N-terminal methionine residue as a result of procaryotic host cell expression. The polypeptides may also be modified with a detectable label, such as an enzymatic, fluorescent, isotopic or affinity label to allow for detection and isolation of the protein.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[335] Also provided by the invention are chemically modified derivatives of the polypeptides of the invention which may provide additional advantages such as increased solubility, stability and circulating time of the polypeptide, or decreased immunogenicity (see U.S. Patent No. 4,179,337). The chemical moieties for derivitization may be selected from water soluble polymers such as polyethylene glycol, ethylene glycol/propylene glycol copolymers, carboxymethylcellulose, dextran, polyvinyl alcohol and the like. The polypeptides may be modified at random positions within the molecule, or at predetermined positions within the molecule and may include one, two, three or more attached chemical moieties.

[336] The polymer may be of any molecular weight, and may be branched or unbranched. For polyethylene glycol, the preferred molecular weight is between about 1 kDa and about 100 kDa (the term "about" indicating that in preparations of polyethylene glycol, some molecules will weigh more, some less, than the stated molecular weight) for ease in handling and manufacturing. Other sizes may be used, depending on the desired therapeutic profile (e.g., the duration of sustained release desired, the effects, if any on biological activity, the ease in handling, the degree or lack of antigenicity and other known effects of the polyethylene glycol to a therapeutic protein or analog).

[337] The polyethylene glycol molecules (or other chemical moieties) should be attached to the protein with consideration of effects on functional or antigenic domains of the protein. There are a number of attachment methods available to those skilled in the art, e.g., EP 0 401 384, herein incorporated by reference (coupling PEG to G-CSF), see also Malik et al., Exp. Hematol. 20:1028-1035 (1992) (reporting pegylation of GM-CSF using trisyl chloride). For example, polyethylene glycol may be covalently bound through amino acid residues via a reactive group, such as, a free amino or carboxyl group. Reactive groups are those to which an activated polyethylene glycol molecule may be bound. The amino acid residues having a free amino group may include lysine residues and the N-terminal amino acid residues; those having a free carboxyl group may include aspartic acid residues glutamic acid residues and the C-terminal amino acid residue. Sulfhydryl groups may also be used as a reactive group for attaching the polyethylene glycol molecules. Preferred for therapeutic purposes is attachment at an amino group, such as attachment at the N-terminus or lysine group.

[338] One may specifically desire proteins chemically modified at the N-terminus. Using polyethylene glycol as an illustration of the present composition, one may select from

WO 02/02587

PCT/US01/20917

a variety of polyethylene glycol molecules (by molecular weight, branching, etc.), the proportion of polyethylene glycol molecules to protein (polypeptide) molecules in the reaction mix, the type of pegylation reaction to be performed, and the method of obtaining the selected N-terminally pegylated protein. The method of obtaining the N-terminally pegylated preparation (i.e., separating this moiety from other monopegylated moieties if necessary) may be by purification of the N-terminally pegylated material from a population of pegylated protein molecules. Selective proteins chemically modified at the N-terminus modification may be accomplished by reductive alkylation which exploits differential reactivity of different types of primary amino groups (lysine versus the N-terminal) available for derivatization in a particular protein. Under the appropriate reaction conditions, substantially selective derivatization of the protein at the N-terminus with a carbonyl group containing polymer is achieved.

[339] The polypeptides of the invention may be in monomers or multimers (i.e., dimers, trimers, tetramers and higher multimers). Accordingly, the present invention relates to monomers and multimers of the polypeptides of the invention, their preparation, and compositions (preferably, Therapeutics) containing them. In specific embodiments, the polypeptides of the invention are monomers, dimers, trimers or tetramers. In additional embodiments, the multimers of the invention are at least dimers, at least trimers, or at least tetramers.

[340] Multimers encompassed by the invention may be homomers or heteromers. As used herein, the term homomer, refers to a multimer containing only polypeptides corresponding to the amino acid sequence of SEQ ID NO:Y or an amino acid sequence encoded by SEQ ID NO:X or the complement of SEQ ID NO:X, and/or an amino acid sequence encoded by cDNA Plasmid:V (including fragments, variants, splice variants, and fusion proteins, corresponding to these as described herein). These homomers may contain polypeptides having identical or different amino acid sequences. In a specific embodiment, a homomer of the invention is a multimer containing only polypeptides having an identical amino acid sequence. In another specific embodiment, a homomer of the invention is a multimer containing polypeptides having different amino acid sequences. In specific embodiments, the multimer of the invention is a homodimer (e.g., containing polypeptides having identical or different amino acid sequences) or a homotrimer (e.g., containing polypeptides having identical and/or different amino acid sequences). In additional

WO 02/02587

PCT/US01/20917

embodiments, the homomeric multimer of the invention is at least a homodimer, at least a homotrimer, or at least a homotetramer.

[341] As used herein, the term heteromer refers to a multimer containing one or more heterologous polypeptides (i.e., polypeptides of different proteins) in addition to the polypeptides of the invention. In a specific embodiment, the multimer of the invention is a heterodimer, a heterotrimer, or a heterotetramer. In additional embodiments, the heteromeric multimer of the invention is at least a heterodimer, at least a heterotrimer, or at least a heterotetramer.

[342] Multimers of the invention may be the result of hydrophobic, hydrophilic, ionic and/or covalent associations and/or may be indirectly linked, by for example, liposome formation. Thus, in one embodiment, multimers of the invention, such as, for example, homodimers or homotrimers, are formed when polypeptides of the invention contact one another in solution. In another embodiment, heteromultimers of the invention, such as, for example, heterotrimers or heterotetramers, are formed when polypeptides of the invention contact antibodies to the polypeptides of the invention (including antibodies to the heterologous polypeptide sequence in a fusion protein of the invention) in solution. In other embodiments, multimers of the invention are formed by covalent associations with and/or between the polypeptides of the invention. Such covalent associations may involve one or more amino acid residues contained in the polypeptide sequence (e.g., that recited in SEQ ID NO:Y, or contained in a polypeptide encoded by SEQ ID NO:X, and/or the cDNA plasmid:V). In one instance, the covalent associations are cross-linking between cysteine residues located within the polypeptide sequences which interact in the native (i.e., naturally occurring) polypeptide. In another instance, the covalent associations are the consequence of chemical or recombinant manipulation. Alternatively, such covalent associations may involve one or more amino acid residues contained in the heterologous polypeptide sequence in a fusion protein. In one example, covalent associations are between the heterologous sequence contained in a fusion protein of the invention (see, e.g., US Patent Number 5,478,925). In a specific example, the covalent associations are between the heterologous sequence contained in a Fc fusion protein of the invention (as described herein). In another specific example, covalent associations of fusion proteins of the invention are between heterologous polypeptide sequence from another protein that is capable of forming covalently associated multimers, such as for example, osteoprotegerin (see, e.g., International

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Publication NO: WO 98/49305, the contents of which are herein incorporated by reference in its entirety). In another embodiment, two or more polypeptides of the invention are joined through peptide linkers. Examples include those peptide linkers described in U.S. Pat. No. 5,073,627 (hereby incorporated by reference). Proteins comprising multiple polypeptides of the invention separated by peptide linkers may be produced using conventional recombinant DNA technology.

[343] Another method for preparing multimer polypeptides of the invention involves use of polypeptides of the invention fused to a leucine zipper or isoleucine zipper polypeptide sequence. Leucine zipper and isoleucine zipper domains are polypeptides that promote multimerization of the proteins in which they are found. Leucine zippers were originally identified in several DNA-binding proteins (Landschulz et al., *Science* 240:1759, (1988)), and have since been found in a variety of different proteins. Among the known leucine zippers are naturally occurring peptides and derivatives thereof that dimerize or trimerize. Examples of leucine zipper domains suitable for producing soluble multimeric proteins of the invention are those described in PCT application WO 94/10308, hereby incorporated by reference. Recombinant fusion proteins comprising a polypeptide of the invention fused to a polypeptide sequence that dimerizes or trimerizes in solution are expressed in suitable host cells, and the resulting soluble multimeric fusion protein is recovered from the culture supernatant using techniques known in the art.

[344] Trimeric polypeptides of the invention may offer the advantage of enhanced biological activity. Preferred leucine zipper moieties and isoleucine moieties are those that preferentially form trimers. One example is a leucine zipper derived from lung surfactant protein D (SPD), as described in Hoppe et al. (*FEBS Letters* 344:191, (1994)) and in U.S. patent application Ser. No. 08/446,922, hereby incorporated by reference. Other peptides derived from naturally occurring trimeric proteins may be employed in preparing trimeric polypeptides of the invention.

[345] In another example, proteins of the invention are associated by interactions between Flag® polypeptide sequence contained in fusion proteins of the invention containing Flag® polypeptide sequence. In a further embodiment, associations proteins of the invention are associated by interactions between heterologous polypeptide sequence contained in Flag® fusion proteins of the invention and anti-Flag® antibody.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[346] The multimers of the invention may be generated using chemical techniques known in the art. For example, polypeptides desired to be contained in the multimers of the invention may be chemically cross-linked using linker molecules and linker molecule length optimization techniques known in the art (see, e.g., US Patent Number 5,478,925, which is herein incorporated by reference in its entirety). Additionally, multimers of the invention may be generated using techniques known in the art to form one or more inter-molecule cross-links between the cysteine residues located within the sequence of the polypeptides desired to be contained in the multimer (see, e.g., US Patent Number 5,478,925, which is herein incorporated by reference in its entirety). Further, polypeptides of the invention may be routinely modified by the addition of cysteine or biotin to the C-terminus or N-terminus of the polypeptide and techniques known in the art may be applied to generate multimers containing one or more of these modified polypeptides (see, e.g., US Patent Number 5,478,925, which is herein incorporated by reference in its entirety). Additionally, techniques known in the art may be applied to generate liposomes containing the polypeptide components desired to be contained in the multimer of the invention (see, e.g., US Patent Number 5,478,925, which is herein incorporated by reference in its entirety).

[347] Alternatively, multimers of the invention may be generated using genetic engineering techniques known in the art. In one embodiment, polypeptides contained in multimers of the invention are produced recombinantly using fusion protein technology described herein or otherwise known in the art (see, e.g., US Patent Number 5,478,925, which is herein incorporated by reference in its entirety). In a specific embodiment, polynucleotides coding for a homodimer of the invention are generated by ligating a polynucleotide sequence encoding a polypeptide of the invention to a sequence encoding a linker polypeptide and then further to a synthetic polynucleotide encoding the translated product of the polypeptide in the reverse orientation from the original C-terminus to the N-terminus (lacking the leader sequence) (see, e.g., US Patent Number 5,478,925, which is herein incorporated by reference in its entirety). In another embodiment, recombinant techniques described herein or otherwise known in the art are applied to generate recombinant polypeptides of the invention which contain a transmembrane domain (or hydrophobic or signal peptide) and which can be incorporated by membrane reconstitution techniques into liposomes (see, e.g., US Patent Number 5,478,925, which is herein incorporated by reference in its entirety).

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Antibodies

[348] Further polypeptides of the invention relate to antibodies and T-cell antigen receptors (TCR) which immunospecifically bind a polypeptide, polypeptide fragment, or variant of SEQ ID NO:Y, and/or an epitope, of the present invention (as determined by immunoassays well known in the art for assaying specific antibody-antigen binding). Antibodies of the invention include, but are not limited to, polyclonal, monoclonal, multispecific, human, humanized or chimeric antibodies, single chain antibodies, Fab fragments, F(ab') fragments, fragments produced by a Fab expression library, anti-idiotypic (anti-Id) antibodies (including, e.g., anti-Id antibodies to antibodies of the invention), and epitope-binding fragments of any of the above. The term "antibody," as used herein, refers to immunoglobulin molecules and immunologically active portions of immunoglobulin molecules, i.e., molecules that contain an antigen binding site that immunospecifically binds an antigen. The immunoglobulin molecules of the invention can be of any type (e.g., IgG, IgE, IgM, IgD, IgA and IgY), class (e.g., IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 and IgA2) or subclass of immunoglobulin molecule.

[349] Most preferably the antibodies are human antigen-binding antibody fragments of the present invention and include, but are not limited to, Fab, Fab' and F(ab')₂, Fd, single-chain Fvs (scFv), single-chain antibodies, disulfide-linked Fvs (sdFv) and fragments comprising either a VL or VH domain. Antigen-binding antibody fragments, including single-chain antibodies, may comprise the variable region(s) alone or in combination with the entirety or a portion of the following: hinge region, CH1, CH2, and CH3 domains. Also included in the invention are antigen-binding fragments also comprising any combination of variable region(s) with a hinge region, CH1, CH2, and CH3 domains. The antibodies of the invention may be from any animal origin including birds and mammals. Preferably, the antibodies are human, murine (e.g., mouse and rat), donkey, ship rabbit, goat, guinea pig, camel, horse, or chicken. As used herein, "human" antibodies include antibodies having the amino acid sequence of a human immunoglobulin and include antibodies isolated from human immunoglobulin libraries or from animals transgenic for one or more human immunoglobulin and that do not express endogenous immunoglobulins, as described infra and, for example in, U.S. Patent No. 5,939,598 by Kuchelapati et al.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[350] The antibodies of the present invention may be monospecific, bispecific, trispecific or of greater multispecificity. Multispecific antibodies may be specific for different epitopes of a polypeptide of the present invention or may be specific for both a polypeptide of the present invention as well as for a heterologous epitope, such as a heterologous polypeptide or solid support material. See, e.g., PCT publications WO 93/17715; WO 92/03802; WO 91/00360; WO 92/05793; Tutt, et al., J. Immunol. 147:60-69 (1991); U.S. Patent Nos. 4,474,893; 4,714,681; 4,925,648; 5,573,920; 5,601,819; Kostelny et al., J. Immunol. 148:1547-1553 (1992).

[351] Antibodies of the present invention may be described or specified in terms of the epitope(s) or portion(s) of a polypeptide of the present invention which they recognize or specifically bind. The epitope(s) or polypeptide portion(s) may be specified as described herein, e.g., by N-terminal and C-terminal positions, or by size in contiguous amino acid residues. Antibodies which specifically bind any epitope or polypeptide of the present invention may also be excluded. Therefore, the present invention includes antibodies that specifically bind polypeptides of the present invention, and allows for the exclusion of the same.

[352] Antibodies of the present invention may also be described or specified in terms of their cross-reactivity. Antibodies that do not bind any other analog, ortholog, or homolog of a polypeptide of the present invention are included. Antibodies that bind polypeptides with at least 95%, at least 90%, at least 85%, at least 80%, at least 75%, at least 70%, at least 65%, at least 60%, at least 55%, and at least 50% identity (as calculated using methods known in the art and described herein) to a polypeptide of the present invention are also included in the present invention. In specific embodiments, antibodies of the present invention cross-react with murine, rat and/or rabbit homologs of human proteins and the corresponding epitopes thereof. Antibodies that do not bind polypeptides with less than 95%, less than 90%, less than 85%, less than 80%, less than 75%, less than 70%, less than 65%, less than 60%, less than 55%, and less than 50% identity (as calculated using methods known in the art and described herein) to a polypeptide of the present invention are also included in the present invention. In a specific embodiment, the above-described cross-reactivity is with respect to any single specific antigenic or immunogenic polypeptide, or combination(s) of 2, 3, 4, 5, or more of the specific antigenic and/or immunogenic polypeptides disclosed herein. Further included in the present invention are antibodies which bind polypeptides encoded by polynucleotides which

WO 02/02587

PCT/US01/20917

hybridize to a polynucleotide of the present invention under stringent hybridization conditions (as described herein). Antibodies of the present invention may also be described or specified in terms of their binding affinity to a polypeptide of the invention. Preferred binding affinities include those with a dissociation constant or K_d less than 5×10^{-2} M, 10^{-2} M, 5×10^{-3} M, 10^{-3} M, 5×10^{-4} M, 10^{-4} M, 5×10^{-5} M, 10^{-5} M, 5×10^{-6} M, 10^{-6} M, 5×10^{-7} M, 10^{-7} M, 5×10^{-8} M, 10^{-8} M, 5×10^{-9} M, 10^{-9} M, 5×10^{-10} M, 10^{-10} M, 5×10^{-11} M, 10^{-11} M, 5×10^{-12} M, 10^{-12} M, 5×10^{-13} M, 10^{-13} M, 5×10^{-14} M, 10^{-14} M, 5×10^{-15} M, or 10^{-15} M.

[353] The invention also provides antibodies that competitively inhibit binding of an antibody to an epitope of the invention as determined by any method known in the art for determining competitive binding, for example, the immunoassays described herein. In preferred embodiments, the antibody competitively inhibits binding to the epitope by at least 95%, at least 90%, at least 85%, at least 80%, at least 75%, at least 70%, at least 60%, or at least 50%.

[354] Antibodies of the present invention may act as agonists or antagonists of the polypeptides of the present invention. For example, the present invention includes antibodies which disrupt the receptor/ligand interactions with the polypeptides of the invention either partially or fully. Preferably, antibodies of the present invention bind an antigenic epitope disclosed herein, or a portion thereof. The invention features both receptor-specific antibodies and ligand-specific antibodies. The invention also features receptor-specific antibodies which do not prevent ligand binding but prevent receptor activation. Receptor activation (i.e., signaling) may be determined by techniques described herein or otherwise known in the art. For example, receptor activation can be determined by detecting the phosphorylation (e.g., tyrosine or serine/threonine) of the receptor or its substrate by immunoprecipitation followed by western blot analysis (for example, as described supra). In specific embodiments, antibodies are provided that inhibit ligand activity or receptor activity by at least 95%, at least 90%, at least 85%, at least 80%, at least 75%, at least 70%, at least 60%, or at least 50% of the activity in absence of the antibody.

[355] The invention also features receptor-specific antibodies which both prevent ligand binding and receptor activation as well as antibodies that recognize the receptor-ligand complex, and, preferably, do not specifically recognize the unbound receptor or the unbound ligand. Likewise, included in the invention are neutralizing antibodies which bind the ligand and prevent binding of the ligand to the receptor, as well as antibodies which bind the ligand,

WO 02/02587

PCT/US01/20917

thereby preventing receptor activation, but do not prevent the ligand from binding the receptor. Further included in the invention are antibodies which activate the receptor. These antibodies may act as receptor agonists, i.e., potentiate or activate either all or a subset of the biological activities of the ligand-mediated receptor activation, for example, by inducing dimerization of the receptor. The antibodies may be specified as agonists, antagonists or inverse agonists for biological activities comprising the specific biological activities of the peptides of the invention disclosed herein. The above antibody agonists can be made using methods known in the art. See, e.g., PCT publication WO 96/40281; U.S. Patent No. 5,811,097; Deng et al., *Blood* 92(6):1981-1988 (1998); Chen et al., *Cancer Res.* 58(16):3668-3678 (1998); Harrop et al., *J. Immunol.* 161(4):1786-1794 (1998); Zhu et al., *Cancer Res.* 58(15):3209-3214 (1998); Yoon et al., *J. Immunol.* 160(7):3170-3179 (1998); Prat et al., *J. Cell. Sci.* 111(Pt2):237-247 (1998); Pitard et al., *J. Immunol. Methods* 205(2):177-190 (1997); Liautard et al., *Cytokine* 9(4):233-241 (1997); Carlson et al., *J. Biol. Chem.* 272(17):11295-11301 (1997); Taryman et al., *Neuron* 14(4):755-762 (1995); Muller et al., *Structure* 6(9):1153-1167 (1998); Bartunck et al., *Cytokine* 8(1):14-20 (1996) (which are all incorporated by reference herein in their entireties).

[356] Antibodies of the present invention may be used, for example, but not limited to, to purify, detect, and target the polypeptides of the present invention, including both in vitro and in vivo diagnostic and therapeutic methods. For example, the antibodies have use in immunoassays for qualitatively and quantitatively measuring levels of the polypeptides of the present invention in biological samples. See, e.g., Harlow et al., *Antibodies: A Laboratory Manual*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988) (incorporated by reference herein in its entirety).

[357] As discussed in more detail below, the antibodies of the present invention may be used either alone or in combination with other compositions. The antibodies may further be recombinantly fused to a heterologous polypeptide at the N- or C-terminus or chemically conjugated (including covalently and non-covalently conjugations) to polypeptides or other compositions. For example, antibodies of the present invention may be recombinantly fused or conjugated to molecules useful as labels in detection assays and effector molecules such as heterologous polypeptides, drugs, radionuclides, or toxins. See, e.g., PCT publications WO 92/08495; WO 91/14438; WO 89/12624; U.S. Patent No. 5,314,995; and EP 396,387.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[358] The antibodies of the invention include derivatives that are modified, i.e., by the covalent attachment of any type of molecule to the antibody such that covalent attachment does not prevent the antibody from generating an anti-idiotypic response. For example, but not by way of limitation, the antibody derivatives include antibodies that have been modified, e.g., by glycosylation, acetylation, pegylation, phosphorylation, amidation, derivatization by known protecting/blocking groups, proteolytic cleavage, linkage to a cellular ligand or other protein, etc. Any of numerous chemical modifications may be carried out by known techniques, including, but not limited to specific chemical cleavage, acetylation, formylation, metabolic synthesis of tunicamycin, etc. Additionally, the derivative may contain one or more non-classical amino acids.

[359] The antibodies of the present invention may be generated by any suitable method known in the art. Polyclonal antibodies to an antigen-of-interest can be produced by various procedures well known in the art. For example, a polypeptide of the invention can be administered to various host animals including, but not limited to, rabbits, mice, rats, etc. to induce the production of sera containing polyclonal antibodies specific for the antigen. Various adjuvants may be used to increase the immunological response, depending on the host species, and include but are not limited to, Freund's (complete and incomplete), mineral gels such as aluminum hydroxide, surface active substances such as lysolecithin, pluronic polyols, polyanions, peptides, oil emulsions, keyhole limpet hemocyanins, dinitrophenol, and potentially useful human adjuvants such as BCG (bacille Calmette-Guerin) and corynebacterium parvum. Such adjuvants are also well known in the art.

[360] Monoclonal antibodies can be prepared using a wide variety of techniques known in the art including the use of hybridoma, recombinant, and phage display technologies, or a combination thereof. For example, monoclonal antibodies can be produced using hybridoma techniques including those known in the art and taught, for example, in Harlow et al., *Antibodies: A Laboratory Manual*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988); Hammerling, et al., in: *Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas* 563-681 (Elsevier, N.Y., 1981) (said references incorporated by reference in their entireties). The term "monoclonal antibody" as used herein is not limited to antibodies produced through hybridoma technology. The term "monoclonal antibody" refers to an antibody that is derived from a single clone, including any eukaryotic, prokaryotic, or phage clone, and not the method by which it is produced.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[361] Methods for producing and screening for specific antibodies using hybridoma technology are routine and well known in the art and are discussed in detail in the Examples. In a non-limiting example, mice can be immunized with a polypeptide of the invention or a cell expressing such peptide. Once an immune response is detected, e.g., antibodies specific for the antigen are detected in the mouse serum, the mouse spleen is harvested and splenocytes isolated. The splenocytes are then fused by well known techniques to any suitable myeloma cells, for example cells from cell line SP20 available from the ATCC. Hybridomas are selected and cloned by limited dilution. The hybridoma clones are then assayed by methods known in the art for cells that secrete antibodies capable of binding a polypeptide of the invention. Ascites fluid, which generally contains high levels of antibodies, can be generated by immunizing mice with positive hybridoma clones.

[362] Accordingly, the present invention provides methods of generating monoclonal antibodies as well as antibodies produced by the method comprising culturing a hybridoma cell secreting an antibody of the invention wherein, preferably, the hybridoma is generated by fusing splenocytes isolated from a mouse immunized with an antigen of the invention with myeloma cells and then screening the hybridomas resulting from the fusion for hybridoma clones that secrete an antibody able to bind a polypeptide of the invention.

[363] Antibody fragments which recognize specific epitopes may be generated by known techniques. For example, Fab and F(ab')₂ fragments of the invention may be produced by proteolytic cleavage of immunoglobulin molecules, using enzymes such as papain (to produce Fab fragments) or pepsin (to produce F(ab')₂ fragments). F(ab')₂ fragments contain the variable region, the light chain constant region and the C_H1 domain of the heavy chain.

[364] For example, the antibodies of the present invention can also be generated using various phage display methods known in the art. In phage display methods, functional antibody domains are displayed on the surface of phage particles which carry the polynucleotide sequences encoding them. In a particular embodiment, such phage can be utilized to display antigen binding domains expressed from a repertoire or combinatorial antibody library (e.g., human or murine). Phage expressing an antigen binding domain that binds the antigen of interest can be selected or identified with antigen, e.g., using labeled antigen or antigen bound or captured to a solid surface or bead. Phage used in these methods are typically filamentous phage including fd and M13 binding domains expressed from phage with Fab, Fv or disulfide stabilized Fv antibody domains recombinantly fused to either the

WO 02/02587

PCT/US01/20917

phage gene III or gene VIII protein. Examples of phage display methods that can be used to make the antibodies of the present invention include those disclosed in Brinkman et al., *J. Immunol. Methods* 182:41-50 (1995); Ames et al., *J. Immunol. Methods* 184:177-186 (1995); Kettleborough et al., *Eur. J. Immunol.* 24:952-958 (1994); Persic et al., *Gene* 187 9-18 (1997); Burton et al., *Advances in Immunology* 57:191-230 (1994); PCT application No. PCT/GB91/01134; PCT publications WO 90/02309; WO 91/10737; WO 92/01047; WO 92/18619; WO 93/11236; WO 95/15982; WO 95/20401; and U.S. Patent Nos. 5,698,426; 5,223,409; 5,403,484; 5,580,717; 5,427,908; 5,750,753; 5,821,047; 5,571,698; 5,427,908; 5,516,637; 5,780,225; 5,658,727; 5,733,743 and 5,969,108; each of which is incorporated herein by reference in its entirety.

[365] As described in the above references, after phage selection, the antibody coding regions from the phage can be isolated and used to generate whole antibodies, including human antibodies, or any other desired antigen binding fragment, and expressed in any desired host, including mammalian cells, insect cells, plant cells, yeast, and bacteria, e.g., as described in detail below. For example, techniques to recombinantly produce Fab, Fab' and F(ab')₂ fragments can also be employed using methods known in the art such as those disclosed in PCT publication WO 92/22324; Mullinax et al., *BioTechniques* 12(6):864-869 (1992); and Sawai et al., *AJRI* 34:26-34 (1995); and Better et al., *Science* 240:1041-1043 (1988) (said references incorporated by reference in their entireties).

[366] Examples of techniques which can be used to produce single-chain Fvs and antibodies include those described in U.S. Patents 4,946,778 and 5,258,498; Huston et al., *Methods in Enzymology* 203:46-88 (1991); Shu et al., *PNAS* 90:7995-7999 (1993); and Skerra et al., *Science* 240:1038-1040 (1988). For some uses, including in vivo use of antibodies in humans and in vitro detection assays, it may be preferable to use chimeric, humanized, or human antibodies. A chimeric antibody is a molecule in which different portions of the antibody are derived from different animal species, such as antibodies having a variable region derived from a murine monoclonal antibody and a human immunoglobulin constant region. Methods for producing chimeric antibodies are known in the art. See e.g., Morrison, *Science* 229:1202 (1985); Oi et al., *BioTechniques* 4:214 (1986); Gillies et al., (1989) *J. Immunol. Methods* 125:191-202; U.S. Patent Nos. 5,807,715; 4,816,567; and 4,816,397, which are incorporated herein by reference in their entirety. Humanized antibodies are antibody molecules from non-human species antibody that binds the desired

WO 02/02587

PCT/US01/20917

antigen having one or more complementarity determining regions (CDRs) from the non-human species and a framework regions from a human immunoglobulin molecule. Often, framework residues in the human framework regions will be substituted with the corresponding residue from the CDR donor antibody to alter, preferably improve, antigen binding. These framework substitutions are identified by methods well known in the art, e.g., by modeling of the interactions of the CDR and framework residues to identify framework residues important for antigen binding and sequence comparison to identify unusual framework residues at particular positions. (See, e.g., Queen et al., U.S. Patent No. 5,585,089; Riechmann et al., Nature 332:323 (1988), which are incorporated herein by reference in their entireties.) Antibodies can be humanized using a variety of techniques known in the art including, for example, CDR-grafting (EP 239,400; PCT publication WO 91/09967; U.S. Patent Nos. 5,225,539; 5,530,101; and 5,585,089), veneering or resurfacing (EP 592,106; EP 519,596; Padlan, Molecular Immunology 28(4/5):489-498 (1991); Studnicka et al., Protein Engineering 7(6):805-814 (1994); Roguska, et al., PNAS 91:969-973 (1994)), and chain shuffling (U.S. Patent No. 5,565,332).

[367] Completely human antibodies are particularly desirable for therapeutic treatment of human patients. Human antibodies can be made by a variety of methods known in the art including phage display methods described above using antibody libraries derived from human immunoglobulin sequences. See also, U.S. Patent Nos. 4,444,887 and 4,716,111; and PCT publications WO 98/46645, WO 98/50433, WO 98/24893, WO 98/16654, WO 96/34096, WO 96/33735, and WO 91/10741; each of which is incorporated herein by reference in its entirety.

[368] Human antibodies can also be produced using transgenic mice which are incapable of expressing functional endogenous immunoglobulins, but which can express human immunoglobulin genes. For example, the human heavy and light chain immunoglobulin gene complexes may be introduced randomly or by homologous recombination into mouse embryonic stem cells. Alternatively, the human variable region, constant region, and diversity region may be introduced into mouse embryonic stem cells in addition to the human heavy and light chain genes. The mouse heavy and light chain immunoglobulin genes may be rendered non-functional separately or simultaneously with the introduction of human immunoglobulin loci by homologous recombination. In particular, homozygous deletion of the JH region prevents endogenous antibody production. The modified embryonic stem cells

WO 02/02587

PCT/US01/20917

are expanded and microinjected into blastocysts to produce chimeric mice. The chimeric mice are then bred to produce homozygous offspring which express human antibodies. The transgenic mice are immunized in the normal fashion with a selected antigen, e.g., all or a portion of a polypeptide of the invention. Monoclonal antibodies directed against the antigen can be obtained from the immunized, transgenic mice using conventional hybridoma technology. The human immunoglobulin transgenes harbored by the transgenic mice rearrange during B cell differentiation, and subsequently undergo class switching and somatic mutation. Thus, using such a technique, it is possible to produce therapeutically useful IgG, IgA, IgM and IgE antibodies. For an overview of this technology for producing human antibodies, see Lonberg and Huszar, *Int. Rev. Immunol.* 13:65-93 (1995). For a detailed discussion of this technology for producing human antibodies and human monoclonal antibodies and protocols for producing such antibodies, see, e.g., PCT publications WO 98/24893; WO 92/01047; WO 96/34096; WO 96/33735; European Patent No. 0 598 877; U.S. Patent Nos. 5,413,923; 5,625,126; 5,633,425; 5,569,825; 5,661,016; 5,545,806; 5,814,318; 5,885,793; 5,916,771; and 5,939,598, which are incorporated by reference herein in their entirety. In addition, companies such as Abgenix, Inc. (Freemont, CA) and Genpharm (San Jose, CA) can be engaged to provide human antibodies directed against a selected antigen using technology similar to that described above.

[369] Completely human antibodies which recognize a selected epitope can be generated using a technique referred to as "guided selection." In this approach a selected non-human monoclonal antibody, e.g., a mouse antibody, is used to guide the selection of a completely human antibody recognizing the same epitope. (Jespers et al., *Bio/technology* 12:899-903 (1988)).

[370] Further, antibodies to the polypeptides of the invention can, in turn, be utilized to generate anti-idiotypic antibodies that "mimic" polypeptides of the invention using techniques well known to those skilled in the art. (See, e.g., Greenspan & Bona, *FASEB J.* 7(5):437-444; (1989) and Nissinoff, *J. Immunol.* 147(8):2429-2438 (1991)). For example, antibodies which bind to and competitively inhibit polypeptide multimerization and/or binding of a polypeptide of the invention to a ligand can be used to generate anti-idiotypes that "mimic" the polypeptide multimerization and/or binding domain and, as a consequence, bind to and neutralize polypeptide and/or its ligand. Such neutralizing anti-idiotypes or Fab fragments of such anti-idiotypes can be used in therapeutic regimens to neutralize polypeptide ligand. For

WO 02/02597

PCT/US01/20917

example, such anti-idiotypic antibodies can be used to bind a polypeptide of the invention and/or to bind its ligands/receptors, and thereby block its biological activity.

Polynucleotides Encoding Antibodies

[371] The invention further provides polynucleotides comprising a nucleotide sequence encoding an antibody of the invention and fragments thereof. The invention also encompasses polynucleotides that hybridize under stringent or alternatively, under lower stringency hybridization conditions, e.g., as defined supra, to polynucleotides that encode an antibody, preferably, that specifically binds to a polypeptide of the invention, preferably, an antibody that binds to a polypeptide having the amino acid sequence of SEQ ID NO:Y.

[372] The polynucleotides may be obtained, and the nucleotide sequence of the polynucleotides determined, by any method known in the art. For example, if the nucleotide sequence of the antibody is known, a polynucleotide encoding the antibody may be assembled from chemically synthesized oligonucleotides (e.g., as described in Kutmeier et al., *BioTechniques* 17:242 (1994)), which, briefly, involves the synthesis of overlapping oligonucleotides containing portions of the sequence encoding the antibody, annealing and ligating of those oligonucleotides, and then amplification of the ligated oligonucleotides by PCR.

[373] Alternatively, a polynucleotide encoding an antibody may be generated from nucleic acid from a suitable source. If a clone containing a nucleic acid encoding a particular antibody is not available, but the sequence of the antibody molecule is known, a nucleic acid encoding the immunoglobulin may be chemically synthesized or obtained from a suitable source (e.g., an antibody cDNA library, or a cDNA library generated from, or nucleic acid, preferably poly A+ RNA, isolated from, any tissue or cells expressing the antibody, such as hybridoma cells selected to express an antibody of the invention) by PCR amplification using synthetic primers hybridizable to the 3' and 5' ends of the sequence or by cloning using an oligonucleotide probe specific for the particular gene sequence to identify, e.g., a cDNA clone from a cDNA library that encodes the antibody. Amplified nucleic acids generated by PCR may then be cloned into replicable cloning vectors using any method well known in the art.

[374] Once the nucleotide sequence and corresponding amino acid sequence of the antibody is determined, the nucleotide sequence of the antibody may be manipulated using

WO 02/02587

PCT/US01/20917

methods well known in the art for the manipulation of nucleotide sequences, e.g., recombinant DNA techniques, site directed mutagenesis, PCR, etc. (see, for example, the techniques described in Sambrook et al., 1990, *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, 2d Ed., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY and Ausubel et al., eds., 1998, *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, NY, which are both incorporated by reference herein in their entireties), to generate antibodies having a different amino acid sequence, for example to create amino acid substitutions, deletions, and/or insertions.

[375] In a specific embodiment, the amino acid sequence of the heavy and/or light chain variable domains may be inspected to identify the sequences of the complementarity determining regions (CDRs) by methods that are well known in the art, e.g., by comparison to known amino acid sequences of other heavy and light chain variable regions to determine the regions of sequence hypervariability. Using routine recombinant DNA techniques, one or more of the CDRs may be inserted within framework regions, e.g., into human framework regions to humanize a non-human antibody, as described supra. The framework regions may be naturally occurring or consensus framework regions, and preferably human framework regions (see, e.g., Chothia et al., *J. Mol. Biol.* 278: 457-479 (1998) for a listing of human framework regions). Preferably, the polynucleotide generated by the combination of the framework regions and CDRs encodes an antibody that specifically binds a polypeptide of the invention. Preferably, as discussed supra, one or more amino acid substitutions may be made within the framework regions, and, preferably, the amino acid substitutions improve binding of the antibody to its antigen. Additionally, such methods may be used to make amino acid substitutions or deletions of one or more variable region cysteine residues participating in an intrachain disulfide bond to generate antibody molecules lacking one or more intrachain disulfide bonds. Other alterations to the polynucleotide are encompassed by the present invention and within the skill of the art.

[376] In addition, techniques developed for the production of "chimeric antibodies" (Morrison et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.* 81:851-855 (1984); Neuberger et al., *Nature* 312:604-608 (1984); Takeda et al., *Nature* 314:452-454 (1985)) by splicing genes from a mouse antibody molecule of appropriate antigen specificity together with genes from a human antibody molecule of appropriate biological activity can be used. As described supra, a chimeric antibody is a molecule in which different portions are derived from different

WO 02/02587

PCT/US01/20917

animal species, such as those having a variable region derived from a murine mAb and a human immunoglobulin constant region, e.g., humanized antibodies.

[377] Alternatively, techniques described for the production of single chain antibodies (U.S. Patent No. 4,946,778; Bird, *Science* 242:423-42 (1988); Huston et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883 (1988); and Ward et al., *Nature* 334:544-54 (1989)) can be adapted to produce single chain antibodies. Single chain antibodies are formed by linking the heavy and light chain fragments of the Fv region via an amino acid bridge, resulting in a single chain polypeptide. Techniques for the assembly of functional Fv fragments in *E. coli* may also be used (Skerra et al., *Science* 242:1038-1041 (1988)).

Methods of Producing Antibodies

[378] The antibodies of the invention can be produced by any method known in the art for the synthesis of antibodies, in particular, by chemical synthesis or preferably, by recombinant expression techniques.

[379] Recombinant expression of an antibody of the invention, or fragment, derivative or analog thereof, (e.g., a heavy or light chain of an antibody of the invention or a single chain antibody of the invention), requires construction of an expression vector containing a polynucleotide that encodes the antibody. Once a polynucleotide encoding an antibody molecule or a heavy or light chain of an antibody, or portion thereof (preferably containing the heavy or light chain variable domain), of the invention has been obtained, the vector for the production of the antibody molecule may be produced by recombinant DNA technology using techniques well known in the art. Thus, methods for preparing a protein by expressing a polynucleotide containing an antibody encoding nucleotide sequence are described herein. Methods which are well known to those skilled in the art can be used to construct expression vectors containing antibody coding sequences and appropriate transcriptional and translational control signals. These methods include, for example, in vitro recombinant DNA techniques, synthetic techniques, and in vivo genetic recombination. The invention, thus, provides replicable vectors comprising a nucleotide sequence encoding an antibody molecule of the invention, or a heavy or light chain thereof, or a heavy or light chain variable domain, operably linked to a promoter. Such vectors may include the nucleotide sequence encoding the constant region of the antibody molecule (see, e.g., PCT Publication WO 86/05807; PCT

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Publication WO 89/01036; and U.S. Patent No. 5,122,464) and the variable domain of the antibody may be cloned into such a vector for expression of the entire heavy or light chain.

[380] The expression vector is transferred to a host cell by conventional techniques and the transfected cells are then cultured by conventional techniques to produce an antibody of the invention. Thus, the invention includes host cells containing a polynucleotide encoding an antibody of the invention, or a heavy or light chain thereof, or a single chain antibody of the invention, operably linked to a heterologous promoter. In preferred embodiments for the expression of double-chained antibodies, vectors encoding both the heavy and light chains may be co-expressed in the host cell for expression of the entire immunoglobulin molecule, as detailed below.

[381] A variety of host-expression vector systems may be utilized to express the antibody molecules of the invention. Such host-expression systems represent vehicles by which the coding sequences of interest may be produced and subsequently purified, but also represent cells which may, when transformed or transfected with the appropriate nucleotide coding sequences, express an antibody molecule of the invention in situ. These include but are not limited to microorganisms such as bacteria (e.g., *E. coli*, *B. subtilis*) transformed with recombinant bacteriophage DNA, plasmid DNA or cosmid DNA expression vectors containing antibody coding sequences; yeast (e.g., *Saccharomyces*, *Pichia*) transformed with recombinant yeast expression vectors containing antibody coding sequences; insect cell systems infected with recombinant virus expression vectors (e.g., baculovirus) containing antibody coding sequences; plant cell systems infected with recombinant virus expression vectors (e.g., cauliflower mosaic virus, CaMV; tobacco mosaic virus, TMV) or transformed with recombinant plasmid expression vectors (e.g., Ti plasmid) containing antibody coding sequences; or mammalian cell systems (e.g., COS, CHO, BHK, 293, 3T3 cells) harboring recombinant expression constructs containing promoters derived from the genome of mammalian cells (e.g., metallothionein promoter) or from mammalian viruses (e.g., the adenovirus late promoter; the vaccinia virus 7.5K promoter). Preferably, bacterial cells such as *Escherichia coli*, and more preferably, eukaryotic cells, especially for the expression of whole recombinant antibody molecule, are used for the expression of a recombinant antibody molecule. For example, mammalian cells such as Chinese hamster ovary cells (CHO), in conjunction with a vector such as the major intermediate early gene promoter element from

WO 02/02587

PCT/US01/20917

human cytomegalovirus is an effective expression system for antibodies (Foecking et al., Gene 45:101 (1986); Cockett et al., Bio/Technology 8:2 (1990)).

[382] In bacterial systems, a number of expression vectors may be advantageously selected depending upon the use intended for the antibody molecule being expressed. For example, when a large quantity of such a protein is to be produced, for the generation of pharmaceutical compositions of an antibody molecule, vectors which direct the expression of high levels of fusion protein products that are readily purified may be desirable. Such vectors include, but are not limited, to the *E. coli* expression vector pUR278 (Ruther et al., EMBO J. 2:1791 (1983)), in which the antibody coding sequence may be ligated individually into the vector in frame with the lac Z coding region so that a fusion protein is produced; pIN vectors (Inouye & Inouye, Nucleic Acids Res. 13:3101-3109 (1985); Van Heeke & Schuster, J. Biol. Chem. 24:5503-5509 (1989)); and the like. pGEX vectors may also be used to express foreign polypeptides as fusion proteins with glutathione S-transferase (GST). In general, such fusion proteins are soluble and can easily be purified from lysed cells by adsorption and binding to matrix glutathione-agarose beads followed by elution in the presence of free glutathione. The pGEX vectors are designed to include thrombin or factor Xa protease cleavage sites so that the cloned target gene product can be released from the GST moiety.

[383] In an insect system, *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus (AcNPV) is used as a vector to express foreign genes. The virus grows in *Spodoptera frugiperda* cells. The antibody coding sequence may be cloned individually into non-essential regions (for example the polyhedrin gene) of the virus and placed under control of an AcNPV promoter (for example the polyhedrin promoter).

[384] In mammalian host cells, a number of viral-based expression systems may be utilized. In cases where an adenovirus is used as an expression vector, the antibody coding sequence of interest may be ligated to an adenovirus transcription/translation control complex, e.g., the late promoter and tripartite leader sequence. This chimeric gene may then be inserted in the adenovirus genome by in vitro or in vivo recombination. Insertion in a non-essential region of the viral genome (e.g., region E1 or E3) will result in a recombinant virus that is viable and capable of expressing the antibody molecule in infected hosts. (e.g., see Logan & Shenk, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:355-359 (1984)). Specific initiation signals may also be required for efficient translation of inserted antibody coding sequences. These signals include the ATG initiation codon and adjacent sequences. Furthermore, the initiation

WO 02/02587

PCT/US01/20917

codon must be in phase with the reading frame of the desired coding sequence to ensure translation of the entire insert. These exogenous translational control signals and initiation codons can be of a variety of origins, both natural and synthetic. The efficiency of expression may be enhanced by the inclusion of appropriate transcription enhancer elements, transcription terminators, etc. (see Bitner et al., *Methods in Enzymol.* 153:51-544 (1987)).

[385] In addition, a host cell strain may be chosen which modulates the expression of the inserted sequences, or modifies and processes the gene product in the specific fashion desired. Such modifications (e.g., glycosylation) and processing (e.g., cleavage) of protein products may be important for the function of the protein. Different host cells have characteristic and specific mechanisms for the post-translational processing and modification of proteins and gene products. Appropriate cell lines or host systems can be chosen to ensure the correct modification and processing of the foreign protein expressed. To this end, eukaryotic host cells which possess the cellular machinery for proper processing of the primary transcript, glycosylation, and phosphorylation of the gene product may be used. Such mammalian host cells include but are not limited to CHO, VERY, BHK, HeLa, COS, MDCK, 293, 3T3, WB33, and in particular, breast cancer cell lines such as, for example, BT483, Hs578T, HTB2, BT20 and T47D, and normal mammary gland cell line such as, for example, CRL7030 and Hs578Bst.

[386] For long-term, high-yield production of recombinant proteins, stable expression is preferred. For example, cell lines which stably express the antibody molecule may be engineered. Rather than using expression vectors which contain viral origins of replication, host cells can be transformed with DNA controlled by appropriate expression control elements (e.g., promoter, enhancer, sequences, transcription terminators, polyadenylation sites, etc.) and a selectable marker. Following the introduction of the fusion DNA

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[387] A number of selection systems may be used, including but not limited to the herpes simplex virus thymidine kinase (Wigler et al., *Cell* 11:223 (1977)), hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase (Szybalska & Szybalski, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 48:202 (1992)), and adenine phosphoribosyltransferase (Lowy et al., *Cell* 22:817 (1980)) genes can be employed in tk-, hgprt- or aprt- cells, respectively. Also, antimetabolite resistance can be used as the basis of selection for the following genes: dhfr, which confers resistance to methotrexate (Wigler et al., *Natl. Acad. Sci. USA* 77:357 (1980); O'Hare et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78:1527 (1981)); gpt, which confers resistance to mycophenolic acid (Mulligan & Berg, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78:2072 (1981)); neo, which confers resistance to the aminoglycoside G-418 *Clinical Pharmacy* 12:488-505; Wu and Wu, *Biotherapy* 3:87-95 (1991); Tolstoshev, *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 32:573-596 (1993); Mulligan, *Science* 260:926-932 (1993); and Morgan and Anderson, *Ann. Rev. Biochem.* 62:191-217 (1993); May, 1993, *TIB TECH* 11(5):155-215; and hygro, which confers resistance to hygromycin (Santerre et al., *Gene* 30:147 (1984)). Methods commonly known in the art of recombinant DNA technology may be routinely applied to select the desired recombinant clone, and such methods are described, for example, in Ausubel et al. (eds.), *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, NY (1993); Kriegler, *Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual*, Stockton Press, NY (1990); and in Chapters 12 and 13, Dracopoli et al. (eds), *Current Protocols in Human Genetics*, John Wiley & Sons, NY (1994); Colberre-Garapin et al., *J. Mol. Biol.* 150:1 (1981), which are incorporated by reference herein in their entireties.

[388] The expression levels of an antibody molecule can be increased by vector amplification (for a review, see Bebbington and Hentschel, *The use of vectors based on gene amplification for the expression of cloned genes in mammalian cells in DNA cloning*, Vol.3. (Academic Press, New York, 1987)). When a marker in the vector system expressing antibody is amplifiable, increase in the level of inhibitor present in culture of host cell will increase the number of copies of the marker gene. Since the amplified region is associated with the antibody gene, production of the antibody will also increase (Crouse et al., *Mol. Cell. Biol.* 3:257 (1983)).

[389] The host cell may be co-transfected with two expression vectors of the invention, the first vector encoding a heavy chain derived polypeptide and the second vector encoding a light chain derived polypeptide. The two vectors may contain identical selectable markers

WO 02/02587

PCT/US01/20917

which enable equal expression of heavy and light chain polypeptides. Alternatively, a single vector may be used which encodes, and is capable of expressing, both heavy and light chain polypeptides. In such situations, the light chain should be placed before the heavy chain to avoid an excess of toxic free heavy chain (Proudfoot, Nature 322:52 (1986); Kohler, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:2197 (1980)). The coding sequences for the heavy and light chains may comprise cDNA or genomic DNA.

[390] Once an antibody molecule of the invention has been produced by an animal, chemically synthesized, or recombinantly expressed, it may be purified by any method known in the art for purification of an immunoglobulin molecule, for example, by chromatography (e.g., ion exchange, affinity, particularly by affinity for the specific antigen after Protein A, and sizing column chromatography), centrifugation, differential solubility, or by any other standard technique for the purification of proteins. In addition, the antibodies of the present invention or fragments thereof can be fused to heterologous polypeptide sequences described herein or otherwise known in the art, to facilitate purification.

[391] The present invention encompasses antibodies recombinantly fused or chemically conjugated (including both covalently and non-covalently conjugations) to a polypeptide (or portion thereof, preferably at least 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 or 100 amino acids of the polypeptide) of the present invention to generate fusion proteins. The fusion does not necessarily need to be direct, but may occur through linker sequences. The antibodies may be specific for antigens other than polypeptides (or portion thereof, preferably at least 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 or 100 amino acids of the polypeptide) of the present invention. For example, antibodies may be used to target the polypeptides of the present invention to particular cell types, either in vitro or in vivo, by fusing or conjugating the polypeptides of the present invention to antibodies specific for particular cell surface receptors. Antibodies fused or conjugated to the polypeptides of the present invention may also be used in in vitro immunoassays and purification methods using methods known in the art. See e.g., Harbor et al., supra, and PCT publication WO 93/21232; EP 439,095; Naramura et al., Immunol. Lett. 39:91-99 (1994); U.S. Patent 5,474,981; Gillics et al., PNAS 89:1428-1432 (1992); Fell et al., J. Immunol. 146:2446-2452(1991), which are incorporated by reference in their entireties.

[392] The present invention further includes compositions comprising the polypeptides of the present invention fused or conjugated to antibody domains other than the variable regions. For example, the polypeptides of the present invention may be fused or conjugated

WO 02/02587

PCT/US01/20917

to an antibody Fc region, or portion thereof. The antibody portion fused to a polypeptide of the present invention may comprise the constant region, hinge region, CH1 domain, CH2 domain, and CH3 domain or any combination of whole domains or portions thereof. The polypeptides may also be fused or conjugated to the above antibody portions to form multimers. For example, Fc portions fused to the polypeptides of the present invention can form dimers through disulfide bonding between the Fc portions. Higher multimeric forms can be made by fusing the polypeptides to portions of IgA and IgM. Methods for fusing or conjugating the polypeptides of the present invention to antibody portions are known in the art. See, e.g., U.S. Patent Nos. 5,336,603; 5,622,929; 5,359,046; 5,349,053; 5,447,851; 5,112,946; EP 307,434; EP 367,166; PCT publications WO 96/04388; WO 91/06570; Ashkenazi et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:10535-10539 (1991); Zheng et al., J. Immunol. 154:5590-5600 (1995); and Vil et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:11337-11341 (1992) (said references incorporated by reference in their entireties).

[393] As discussed, supra, the polypeptides corresponding to a polypeptide, polypeptide fragment, or a variant of SEQ ID NO:Y may be fused or conjugated to the above antibody portions to increase the in vivo half life of the polypeptides or for use in immunoassays using methods known in the art. Further, the polypeptides corresponding to SEQ ID NO:Y may be fused or conjugated to the above antibody portions to facilitate purification. One reported example describes chimeric proteins consisting of the first two domains of the human CD4 polypeptide and various domains of the constant regions of the heavy or light chains of mammalian immunoglobulins. (EP 394,827; Traunecker et al., Nature 331:84-86 (1988)). The polypeptides of the present invention fused or conjugated to an antibody having disulfide-linked dimeric structures (due to the IgG) may also be more efficient in binding and neutralizing other molecules, than the monomeric secreted protein or protein fragment alone. (Tountoulakis et al., J. Biochem. 270:3958-3964 (1995)). In many cases, the Fc part in a fusion protein is beneficial in therapy and diagnosis, and thus can result in, for example, improved pharmacokinetic properties. (EP A 232,262). Alternatively, deleting the Fc part after the fusion protein has been expressed, detected, and purified, would be desired. For example, the Fc portion may hinder therapy and diagnosis if the fusion protein is used as an antigen for immunizations. In drug discovery, for example, human proteins, such as hLL-5, have been fused with Fc portions for the purpose of high-throughput screening assays to

WO 02/02587

PCT/US01/20917

identify antagonists of hIL-5. (See, Bennett et al., *J. Molecular Recognition* 8:52-58 (1995); Johanson et al., *J. Biol. Chem.* 270:9459-9471 (1995).

[394] Moreover, the antibodies or fragments thereof of the present invention can be fused to marker sequences, such as a peptide to facilitate purification. In preferred embodiments, the marker amino acid sequence is a hexa-histidine peptide, such as the tag provided in a pQE vector (QIAGEN, Inc., 9259 Eton Avenue, Chatsworth, CA, 91311), among others, many of which are commercially available. As described in Gentz et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:821-824 (1989), for instance, hexa-histidine provides for convenient purification of the fusion protein. Other peptide tags useful for purification include, but are not limited to, the "HA" tag, which corresponds to an epitope derived from the influenza hemagglutinin protein (Wilson et al., *Cell* 37:767 (1984)) and the "flag" tag.

[395] The present invention further encompasses antibodies or fragments thereof conjugated to a diagnostic or therapeutic agent. The antibodies can be used diagnostically to, for example, monitor the development or progression of a tumor as part of a clinical testing procedure to, e.g., determine the efficacy of a given treatment regimen. Detection can be facilitated by coupling the antibody to a detectable substance. Examples of detectable substances include various enzymes, prosthetic groups, fluorescent materials, luminescent materials, bioluminescent materials, radioactive materials, positron emitting metals using various positron emission tomographies, and nonradioactive paramagnetic metal ions. The detectable substance may be coupled or conjugated either directly to the antibody (or fragment thereof) or indirectly, through an intermediate (such as, for example, a linker known in the art) using techniques known in the art. See, for example, U.S. Patent No. 4,741,900 for metal ions which can be conjugated to antibodies for use as diagnostics according to the present invention. Examples of suitable enzymes include horseradish peroxidase, alkaline phosphatase, beta-galactosidase, or acetylcholinesterase; examples of suitable prosthetic group complexes include streptavidin/biotin and avidin/biotin; examples of suitable fluorescent materials include umbelliferone, fluorescein, fluorescein isothiocyanate, rhodamine, dichlorotriazinylamine fluorescein, dansyl chloride or phycoerythrin; an example of a luminescent material includes luminol; examples of bioluminescent materials include luciferase, luciferin, and aequorin; and examples of suitable radioactive material include ¹²⁵I, ¹³¹I, ¹¹¹In or ⁹⁹Tc.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[396] Further, an antibody or fragment thereof may be conjugated to a therapeutic moiety such as a cytotoxin, e.g., a cytostatic or cytotoxic agent, a therapeutic agent or a radioactive metal ion, e.g., alpha-emitters such as, for example, ²¹³Bi. A cytotoxin or cytotoxic agent includes any agent that is detrimental to cells. Examples include paclitaxol, cytochalasin B, gramicidin D, ethidium bromide, emetine, mitomycin, etoposide, teniposide, vincristine, vinblastine, colchicin, doxorubicin, daunorubicin, dihydroxy anthracin dione, mitoxantrone, mithramycin, actinomycin D, 1-dehydrotestosterone, glucocorticoids, procaine, tetracaine, lidocaine, propranolol, and puromycin and analogs or homologs thereof. Therapeutic agents include, but are not limited to, antimetabolites (e.g., methotrexate, 6-mercaptopurine, 6-thioguanine, cytarabine, 5-fluorouracil decarbazine), alkylating agents (e.g., mechlorethamine, thioepa chlorambucil, melphalan, carmustine (BSNU) and lomustine (CCNU), cyclophosphamide, busulfan, dibromomannitol, streptozotocin, mitomycin C, and cis-dichlorodiamine platinum (II) (DDP) cisplatin), anthracyclines (e.g., daunorubicin (formerly daunomycin) and doxorubicin), antibiotics (e.g., dactinomycin (formerly actinomycin), bleomycin, mithramycin, and anthramycin (AMC)), and anti-mitotic agents (e.g., vincristine and vinblastine).

[397] The conjugates of the invention can be used for modifying a given biological response, the therapeutic agent or drug moiety is not to be construed as limited to classical chemical therapeutic agents. For example, the drug moiety may be a protein or polypeptide possessing a desired biological activity. Such proteins may include, for example, a toxin such as abrin, ricin A, pseudomonas exotoxin, or diphtheria toxin; a protein such as tumor necrosis factor, alpha-interferon, beta-interferon, nerve growth factor, platelet derived growth factor, tissue plasminogen activator, an apoptotic agent, e.g., TNF-alpha, TNF-beta, AIM I (See, International Publication No. WO 97/33899), AIM II (See, International Publication No. WO 97/34911), Fas Ligand (Takahashi *et al.*, *Int. Immunol.*, 6:1567-1574 (1994)), VEGF (See, International Publication No. WO 99/23105), a thrombotic agent or an anti-angiogenic agent, e.g., angiostatin or endostatin; or, biological response modifiers such as, for example, lymphokines, interleukin-1 ("IL-1"), interleukin-2 ("IL-2"), interleukin-6 ("IL-6"), granulocyte macrophage colony stimulating factor ("GM-CSF"), granulocyte colony stimulating factor ("G-CSF"), or other growth factors.

[398] Antibodies may also be attached to solid supports, which are particularly useful for immunoassays or purification of the target antigen. Such solid supports include, but are not

WO 02/02587

PCT/US01/20917

limited to, glass, cellulose, polyacrylamide, nylon, polystyrene, polyvinyl chloride or polypropylene.

[399] Techniques for conjugating such therapeutic moiety to antibodies are well known, see, e.g., Arnon et al., "Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy", in *Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy*, Reisfeld et al. (eds.), pp. 243-56 (Alan R. Liss, Inc. 1985); Hellstrom et al., "Antibodies For Drug Delivery", in *Controlled Drug Delivery (2nd Ed.)*, Robinson et al. (eds.), pp. 623-53 (Marcel Dekker, Inc. 1987); Thorpe, "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review", in *Monoclonal Antibodies '84: Biological And Clinical Applications*, Pinchera et al. (eds.), pp. 475-506 (1985); "Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy", in *Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy*, Baldwin et al. (eds.), pp. 303-16 (Academic Press 1985), and Thorpe et al., "The Preparation And Cytotoxic Properties Of Antibody-Toxin Conjugates", *Immunol. Rev.* 62:119-58 (1982).

[400] Alternatively, an antibody can be conjugated to a second antibody to form an antibody heteroconjugate as described by Segal in U.S. Patent No. 4,676,980, which is incorporated herein by reference in its entirety.

[401] An antibody, with or without a therapeutic moiety conjugated to it, administered alone or in combination with cytotoxic factor(s) and/or cytokine(s) can be used as a therapeutic.

Immunophenotyping

[402] The antibodies of the invention may be utilized for immunophenotyping of cell lines and biological samples. The translation product of the gene of the present invention may be useful as a cell specific marker, or more specifically as a cellular marker that is differentially expressed at various stages of differentiation and/or maturation of particular cell types. Monoclonal antibodies directed against a specific epitope, or combination of epitopes, will allow for the screening of cellular populations expressing the marker. Various techniques can be utilized using monoclonal antibodies to screen for cellular populations expressing the marker(s), and include magnetic separation using antibody-coated magnetic beads, "panning" with antibody attached to a solid matrix (i.e., plate), and flow cytometry (See, e.g., U.S. Patent 5,985,660, and Morrison et al., *Cell*, 96:737-49 (1999)).

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[403] These techniques allow for the screening of particular populations of cells, such as might be found with hematological malignancies (i.e. minimal residual disease (MRD) in acute leukemic patients) and "non-self" cells in transplantations to prevent Graft-versus-Host Disease (GVHD). Alternatively, these techniques allow for the screening of hematopoietic stem and progenitor cells capable of undergoing proliferation and/or differentiation, as might be found in human umbilical cord blood.

Assays For Antibody Binding

[404] The antibodies of the invention may be assayed for immunospecific binding by any method known in the art. The immunoassays which can be used include but are not limited to competitive and non-competitive assay systems using techniques such as western blots, radioimmunoassays, ELISA (enzyme linked immunosorbent assay), "sandwich" immunoassays, immunoprecipitation assays, precipitin reactions, gel diffusion precipitin reactions, immunodiffusion assays, agglutination assays, complement-fixation assays, immunoradiometric assays, fluorescent immunoassays, protein A immunoassays, to name but a few. Such assays are routine and well known in the art (see, e.g., Ausubel et al, eds, 1994, Current Protocols in Molecular Biology, Vol. 1, John Wiley & Sons, Inc., New York, which is incorporated by reference herein in its entirety). Exemplary immunoassays are described briefly below (but are not intended by way of limitation).

[405] Immunoprecipitation protocols generally comprise lysing a population of cells in a lysis buffer such as RPA buffer (1% NP-40 or Triton X- 100, 1% sodium deoxycholate, 0.1% SDS, 0.15 M NaCl, 0.01 M sodium phosphate at pH 7.2, 1% Trasylol) supplemented with protein phosphatase and/or protease inhibitors (e.g., EDTA, PMSF, aprotinin, sodium vanadate), adding the antibody of interest to the cell lysate, incubating for a period of time (e.g., 1-4 hours) at 4° C, adding protein A and/or protein G sepharose beads to the cell lysate, incubating for about an hour or more at 4° C, washing the beads in lysis buffer and resuspending the beads in SDS/sample buffer. The ability of the antibody of interest to immunoprecipitate a particular antigen can be assessed by, e.g., western blot analysis. One of skill in the art would be knowledgeable as to the parameters that can be modified to increase the binding of the antibody to an antigen and decrease the background (e.g., pre-clearing the cell lysate with sepharose beads). For further discussion regarding immunoprecipitation

WO 02/02587

PCT/US01/20917

protocols see, e.g., Ausubel et al, eds, 1994, Current Protocols in Molecular Biology, Vol. 1, John Wiley & Sons, Inc., New York at 10.16.1.

[406] Western blot analysis generally comprises preparing protein samples, electrophoresis of the protein samples in a polyacrylamide gel (e.g., 8%-20% SDS-PAGE depending on the molecular weight of the antigen), transferring the protein sample from the polyacrylamide gel to a membrane such as nitrocellulose, PVDF or nylon, blocking the membrane in blocking solution (e.g., PBS with 3% BSA or non-fat milk), washing the membrane in washing buffer (e.g., PBS-Tween 20), blocking the membrane with primary antibody (the antibody of interest) diluted in blocking buffer, washing the membrane in washing buffer, blocking the membrane with a secondary antibody (which recognizes the primary antibody, e.g., an anti-human antibody) conjugated to an enzymatic substrate (e.g., horseradish peroxidase or alkaline phosphatase) or radioactive molecule (e.g., ³²P or ¹²⁵I) diluted in blocking buffer, washing the membrane in wash buffer, and detecting the presence of the antigen. One of skill in the art would be knowledgeable as to the parameters that can be modified to increase the signal detected and to reduce the background noise. For further discussion regarding western blot protocols see, e.g., Ausubel et al, eds, 1994, Current Protocols in Molecular Biology, Vol. 1, John Wiley & Sons, Inc., New York at 10.8.1.

[407] ELISAs comprise preparing antigen, coating the well of a 96 well microtiter plate with the antigen, adding the antibody of interest conjugated to a detectable compound such as an enzymatic substrate (e.g., horseradish peroxidase or alkaline phosphatase) to the well and incubating for a period of time, and detecting the presence of the antigen. In ELISAs the antibody of interest does not have to be conjugated to a detectable compound; instead, a second antibody (which recognizes the antibody of interest) conjugated to a detectable compound may be added to the well. Further, instead of coating the well with the antigen, the antibody may be coated to the well. In this case, a second antibody conjugated to a detectable compound may be added following the addition of the antigen of interest to the coated well. One of skill in the art would be knowledgeable as to the parameters that can be modified to increase the signal detected as well as other variations of ELISAs known in the art. For further discussion regarding ELISAs see, e.g., Ausubel et al, eds, 1994, Current Protocols in Molecular Biology, Vol. 1, John Wiley & Sons, Inc., New York at 11.2.1.

[408] The binding affinity of an antibody to an antigen and the off-rate of an antibody-antigen interaction can be determined by competitive binding assays. One example of a

WO 02/02587

PCT/US01/20917

competitive binding assay is a radioimmunoassay comprising the incubation of labeled antigen (e.g., ^3H or ^{125}I) with the antibody of interest in the presence of increasing amounts of unlabeled antigen, and the detection of the antibody bound to the labeled antigen. The affinity of the antibody of interest for a particular antigen and the binding off-rates can be determined from the data by scatchard plot analysis. Competition with a second antibody can also be determined using radioimmunoassays. In this case, the antigen is incubated with antibody of interest conjugated to a labeled compound (e.g., ^3H or ^{125}I) in the presence of increasing amounts of an unlabeled second antibody.

Therapeutic Uses

[409] The present invention is further directed to antibody-based therapeutics which involve administering antibodies of the invention to an animal, preferably a mammal, and most preferably a human, patient for treating one or more of the disclosed diseases, disorders, or conditions. Therapeutic compounds of the invention include, but are not limited to, antibodies of the invention (including fragments, analogs and derivatives thereof as described herein) and nucleic acids encoding antibodies of the invention (including fragments, analogs and derivatives thereof and anti-idiotypic antibodies as described herein). The antibodies of the invention can be used to treat, inhibit or prevent diseases, disorders or conditions associated with aberrant expression and/or activity of a polypeptide of the invention, including, but not limited to, any one or more of the diseases, disorders, or conditions described herein. The treatment and/or prevention of diseases, disorders, or conditions associated with aberrant expression and/or activity of a polypeptide of the invention includes, but is not limited to, alleviating symptoms associated with those diseases, disorders or conditions. Antibodies of the invention may be provided in pharmaceutically acceptable compositions as known in the art or as described herein.

[410] A summary of the ways in which the antibodies of the present invention may be used therapeutically includes binding polynucleotides or polypeptides of the present invention locally or systemically in the body or by direct cytotoxicity of the antibody, e.g. as mediated by complement (CDC) or by effector cells (ADCC). Some of these approaches are described in more detail below. Armed with the teachings provided herein, one of ordinary skill in the art will know how to use the antibodies of the present invention for diagnostic, monitoring or therapeutic purposes without undue experimentation.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[411] The antibodies of this invention may be advantageously utilized in combination with other monoclonal or chimeric antibodies, or with lymphokines or hematopoietic growth factors (such as, e.g., IL-2, IL-3 and IL-7), for example, which serve to increase the number or activity of effector cells which interact with the antibodies.

[412] The antibodies of the invention may be administered alone or in combination with other types of treatments (e.g., radiation therapy, chemotherapy, hormonal therapy, immunotherapy and anti-tumor agents). Generally, administration of products of a species origin or species reactivity (in the case of antibodies) that is the same species as that of the patient is preferred. Thus, in a preferred embodiment, human antibodies, fragments derivatives, analogs, or nucleic acids, are administered to a human patient for therapy or prophylaxis.

[413] It is preferred to use high affinity and/or potent in vivo inhibiting and/or neutralizing antibodies against polypeptides or polynucleotides of the present invention, fragments or regions thereof, for both immunoassays directed to and therapy of disorders related to polynucleotides or polypeptides, including fragments thereof, of the present invention. Such antibodies, fragments, or regions, will preferably have an affinity for polynucleotides or polypeptides of the invention, including fragments thereof. Preferred binding affinities include those with a dissociation constant or K_d less than 5×10^{-2} M, 10^{-2} M, 5×10^{-3} M, 10^{-3} M, 5×10^{-4} M, 10^{-4} M, 5×10^{-5} M, 10^{-5} M, 5×10^{-6} M, 10^{-6} M, 5×10^{-7} M, 10^{-7} M, 5×10^{-8} M, 10^{-8} M, 5×10^{-9} M, 10^{-9} M, 5×10^{-10} M, 10^{-10} M, 5×10^{-11} M, 10^{-11} M, 5×10^{-12} M, 10^{-12} M, 5×10^{-13} M, 10^{-13} M, 5×10^{-14} M, 10^{-14} M, 5×10^{-15} M, and 10^{-15} M.

Gene Therapy

[414] In a specific embodiment, nucleic acids comprising sequences encoding antibodies or functional derivatives thereof, are administered to treat, inhibit or prevent a disease or disorder associated with aberrant expression and/or activity of a polypeptide of the invention, by way of gene therapy. Gene therapy refers to therapy performed by the administration to a subject of an expressed or expressible nucleic acid. In this embodiment of the invention, the nucleic acids produce their encoded protein that mediates a therapeutic effect.

[415] Any of the methods for gene therapy available in the art can be used according to the present invention. Exemplary methods are described below.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[416] For general reviews of the methods of gene therapy, see Goldspicel et al., *Clinical Pharmacy* 12:488-505 (1993); Wu and Wu, *Biotherapy* 3:87-95 (1991); Tolstoshev, *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 32:573-596 (1993); Mulligan, *Science* 260:926-932 (1993); and Morgan and Anderson, *Ann. Rev. Biochem.* 62:191-217 (1993); May, *TIBTECH* 11(5):155-215 (1993). Methods commonly known in the art of recombinant DNA technology which can be used are described in Ausubel et al. (eds.), *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, NY (1993); and Krieglter, *Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual*, Stockton Press, NY (1990).

[417] In a preferred aspect, the compound comprises nucleic acid sequences encoding an antibody, said nucleic acid sequences being part of expression vectors that express the antibody or fragments or chimeric proteins or heavy or light chains thereof in a suitable host. In particular, such nucleic acid sequences have promoters operably linked to the antibody coding region, said promoter being inducible or constitutive, and, optionally, tissue-specific. In another particular embodiment, nucleic acid molecules are used in which the antibody coding sequences and any other desired sequences are flanked by regions that promote homologous recombination at a desired site in the genome, thus providing for intrachromosomal expression of the antibody encoding nucleic acids (Koeller and Smithies, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:8932-8935 (1989); Zijlstra et al., *Nature* 342:435-438 (1989)). In specific embodiments, the expressed antibody molecule is a single chain antibody; alternatively, the nucleic acid sequences include sequences encoding both the heavy and light chains, or fragments thereof, of the antibody.

[418] Delivery of the nucleic acids into a patient may be either direct, in which case the patient is directly exposed to the nucleic acid or nucleic acid-carrying vectors, or indirect, in which case, cells are first transformed with the nucleic acids in vitro, then transplanted into the patient. These two approaches are known, respectively, as in vivo or ex vivo gene therapy.

[419] In a specific embodiment, the nucleic acid sequences are directly administered in vivo, where it is expressed to produce the encoded product. This can be accomplished by any of numerous methods known in the art, e.g., by constructing them as part of an appropriate nucleic acid expression vector and administering it so that they become intracellular, e.g., by infection using defective or attenuated retrovirals or other viral vectors (see U.S. Patent No. 4,980,286), or by direct injection of naked DNA, or by use of

WO 02/02587

PCT/US01/20917

microparticle bombardment (e.g., a gene gun; Biolistic, Dupont), or coating with lipids or cell-surface receptors or transfecting agents, encapsulation in liposomes, microparticles, or microcapsules, or by administering them in linkage to a peptide which is known to enter the nucleus, by administering it in linkage to a ligand subject to receptor-mediated endocytosis (see, e.g., Wu and Wu, *J. Biol. Chem.* 262:4429-4432 (1987)) (which can be used to target cell types specifically expressing the receptors), etc. In another embodiment, nucleic acid-ligand complexes can be formed in which the ligand comprises a fusogenic viral peptide to disrupt endosomes, allowing the nucleic acid to avoid lysosomal degradation. In yet another embodiment, the nucleic acid can be targeted *in vivo* for cell specific uptake and expression, by targeting a specific receptor (see, e.g., PCT Publications WO 92/06180; WO 92/22635; WO92/20316; WO93/14188, WO 93/20221). Alternatively, the nucleic acid can be introduced intracellularly and incorporated within host cell DNA for expression, by homologous recombination (Koller and Smithies, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:8932-8935 (1989); Zijlstra et al., *Nature* 342:435-438 (1989)).

[420] In a specific embodiment, viral vectors that contains nucleic acid sequences encoding an antibody of the invention are used. For example, a retroviral vector can be used (see Miller et al., *Methods Enzymol.* 217:581-599 (1993)). These retroviral vectors contain the components necessary for the correct packaging of the viral genome and integration into the host cell DNA. The nucleic acid sequences encoding the antibody to be used in gene therapy are cloned into one or more vectors, which facilitates delivery of the gene into a patient. More detail about retroviral vectors can be found in Bocscn et al., *Biotherapy* 6:291-302 (1994), which describes the use of a retroviral vector to deliver the *mdr1* gene to hematopoietic stem cells in order to make the stem cells more resistant to chemotherapy. Other references illustrating the use of retroviral vectors in gene therapy are: Clowes et al., *J. Clin. Invest.* 93:644-651 (1994); Kiem et al., *Blood* 83:1467-1473 (1994); Salmons and Gunzberg, *Human Gene Therapy* 4:129-141 (1993); and Grossman and Wilson, *Curr. Opin. in Genetics and Devel.* 3:110-114 (1993).

[421] Adenoviruses are other viral vectors that can be used in gene therapy. Adenoviruses are especially attractive vehicles for delivering genes to respiratory epithelia. Adenoviruses naturally infect respiratory epithelia where they cause a mild disease. Other targets for adenovirus-based delivery systems are liver, the central nervous system, endothelial cells, and muscle. Adenoviruses have the advantage of being capable of infecting

WO 02/02587

PCT/US01/20917

non-dividing cells. Kozarsky and Wilson, *Current Opinion in Genetics and Development* 3:499-503 (1993) present a review of adenovirus-based gene therapy. Bout et al., *Human Gene Therapy* 5:3-10 (1994) demonstrated the use of adenovirus vectors to transfer genes to the respiratory epithelia of rhesus monkeys. Other instances of the use of adenoviruses in gene therapy can be found in Rosenfeld et al., *Science* 252:431-434 (1991); Rosenfeld et al., *Cell* 68:143-155 (1992); Mastrangeli et al., *J. Clin. Invest.* 91:225-234 (1993); PCT Publication WO94/12649; and Wang, et al., *Gene Therapy* 2:775-783 (1995). In a preferred embodiment, adenovirus vectors are used.

[422] Adeno-associated virus (AAV) has also been proposed for use in gene therapy (Walsh et al., *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 204:289-300 (1993); U.S. Patent No. 5,436,146).

[423] Another approach to gene therapy involves transferring a gene to cells in tissue culture by such methods as electroporation, lipofection, calcium phosphate mediated transfection, or viral infection. Usually, the method of transfer includes the transfer of a selectable marker to the cells. The cells are then placed under selection to isolate those cells that have taken up and are expressing the transferred gene. Those cells are then delivered to a patient.

[424] In this embodiment, the nucleic acid is introduced into a cell prior to administration in vivo of the resulting recombinant cell. Such introduction can be carried out by any method known in the art, including but not limited to transfection, electroporation, microinjection, infection with a viral or bacteriophage vector containing the nucleic acid sequences, cell fusion, chromosome-mediated gene transfer, microcell-mediated gene transfer, spheroplast fusion, etc. Numerous techniques are known in the art for the introduction of foreign genes into cells (see, e.g., Loeffler and Behr, *Meth. Enzymol.* 217:599-618 (1993); Cohen et al., *Meth. Enzymol.* 217:618-644 (1993); Cline, *Pharmac. Ther.* 29:69-92m (1985) and may be used in accordance with the present invention, provided that the necessary developmental and physiological functions of the recipient cells are not disrupted. The technique should provide for the stable transfer of the nucleic acid to the cell, so that the nucleic acid is expressible by the cell and preferably heritable and expressible by its cell progeny.

[425] The resulting recombinant cells can be delivered to a patient by various methods known in the art. Recombinant blood cells (e.g., hematopoietic stem or progenitor cells) are

WO 02/02587

PCT/US01/20917

preferably administered intravenously. The amount of cells envisioned for use depends on the desired effect, patient state, etc., and can be determined by one skilled in the art.

[426] Cells into which a nucleic acid can be introduced for purposes of gene therapy encompass any desired, available cell type, and include but are not limited to epithelial cells, endothelial cells, keratinocytes, fibroblasts, muscle cells, hepatocytes; blood cells such as T lymphocytes, B lymphocytes, monocytes, macrophages, neutrophils, eosinophils, megakaryocytes, granulocytes; various stem or progenitor cells, in particular hematopoietic stem or progenitor cells, e.g., as obtained from bone marrow, umbilical cord blood, peripheral blood, fetal liver, etc.

[427] In a preferred embodiment, the cell used for gene therapy is autologous to the patient.

[428] In an embodiment in which recombinant cells are used in gene therapy, nucleic acid sequences encoding an antibody are introduced into the cells such that they are expressible by the cells or their progeny, and the recombinant cells are then administered in vivo for therapeutic effect. In a specific embodiment, stem or progenitor cells are used. Any stem and/or progenitor cells which can be isolated and maintained in vitro can potentially be used in accordance with this embodiment of the present invention (see e.g. PCT Publication WO 94/08598; Stemple and Anderson, Cell 71:973-985 (1992); Rheinwald, Meth. Cell Bio. 21A:229 (1980); and Pitelkow and Scott, Mayo Clinic Proc. 61:771 (1986)).

[429] In a specific embodiment, the nucleic acid to be introduced for purposes of gene therapy comprises an inducible promoter operably linked to the coding region, such that expression of the nucleic acid is controllable by controlling the presence or absence of the appropriate inducer of transcription. Demonstration of Therapeutic or Prophylactic Activity

[430] The compounds or pharmaceutical compositions of the invention are preferably tested in vitro, and then in vivo for the desired therapeutic or prophylactic activity, prior to use in humans. For example, in vitro assays to demonstrate the therapeutic or prophylactic utility of a compound or pharmaceutical composition include, the effect of a compound on a cell line or a patient tissue sample. The effect of the compound or composition on the cell line and/or tissue sample can be determined utilizing techniques known to those of skill in the art including, but not limited to, rosette formation assays and cell lysis assays. In accordance with the invention, in vitro assays which can be used to determine whether administration of a specific compound is indicated, include in vitro cell culture assays in which a patient tissue

WO 02/02587

PCT/US01/20917

sample is grown in culture, and exposed to or otherwise administered a compound, and the effect of such compound upon the tissue sample is observed.

Therapeutic/Prophylactic Administration and Composition

[431] The invention provides methods of treatment, inhibition and prophylaxis by administration to a subject of an effective amount of a compound or pharmaceutical composition of the invention, preferably a polypeptide or antibody of the invention. In a preferred aspect, the compound is substantially purified (e.g., substantially free from substances that limit its effect or produce undesired side-effects). The subject is preferably an animal, including but not limited to animals such as cows, pigs, horses, chickens, cats, dogs, etc., and is preferably a mammal, and most preferably human.

[432] Formulations and methods of administration that can be employed when the compound comprises a nucleic acid or an immunoglobulin are described above; additional appropriate formulations and routes of administration can be selected from among those described herein below.

[433] Various delivery systems are known and can be used to administer a compound of the invention, e.g., encapsulation in liposomes, microparticles, microcapsules, recombinant cells capable of expressing the compound, receptor-mediated endocytosis (see, e.g., Wu and Wu, *J. Biol. Chem.* 262:4429-4432 (1987)), construction of a nucleic acid as part of a retroviral or other vector, etc. Methods of introduction include but are not limited to intradermal, intramuscular, intraperitoneal, intravenous, subcutaneous, intranasal, epidural, and oral routes. The compounds or compositions may be administered by any convenient route, for example by infusion or bolus injection, by absorption through epithelial or mucocutaneous linings (e.g., oral mucosa, rectal and intestinal mucosa, etc.) and may be administered together with other biologically active agents. Administration can be systemic or local. In addition, it may be desirable to introduce the pharmaceutical compounds or compositions of the invention into the central nervous system by any suitable route, including intraventricular and intrathecal injection; intraventricular injection may be facilitated by an intraventricular catheter, for example, attached to a reservoir, such as an Ommaya reservoir. Pulmonary administration can also be employed, e.g., by use of an inhaler or nebulizer, and formulation with an aerosolizing agent.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[434] In a specific embodiment, it may be desirable to administer the pharmaceutical compounds or compositions of the invention locally to the area in need of treatment; this may be achieved by, for example, and not by way of limitation, local infusion during surgery, topical application, e.g., in conjunction with a wound dressing after surgery, by injection, by means of a catheter, by means of a suppository, or by means of an implant, said implant being of a porous, non-porous, or gelatinous material, including membranes, such as sialastic membranes, or fibers. Preferably, when administering a protein, including an antibody, of the invention, care must be taken to use materials to which the protein does not adsorb.

[435] In another embodiment, the compound or composition can be delivered in a vesicle, in particular a liposome (see Langer, *Science* 249:1527-1533 (1990); Treut et al., in *Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer*, Lopez-Berestein and Fidler (eds.), Liss, New York, pp. 353- 365 (1989); Lopez-Berestein, *ibid.*, pp. 317-327; see generally *ibid.*)

[436] In yet another embodiment, the compound or composition can be delivered in a controlled release system. In one embodiment, a pump may be used (see Langer, *supra*; Sefton, *CRC Crit. Ref. Biomed. Eng.* 14:201 (1987); Buchwald et al., *Surgery* 88:507 (1980); Saudek et al., *N. Engl. J. Med.* 321:574 (1989)). In another embodiment, polymeric materials can be used (see *Medical Applications of Controlled Release*, Langer and Wise (eds.), CRC Press, Boca Raton, Florida (1974); *Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance*, Smolen and Ball (eds.), Wiley, New York (1984); Ranger and Peppas, *J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem.* 23:61 (1983); see also Levy et al., *Science* 228:190 (1985); Doring et al., *Ann. Neurol.* 25:351 (1989); Howard et al., *J. Neurosurg.* 71:105 (1989)). In yet another embodiment, a controlled release system can be placed in proximity of the therapeutic target, i.e., the brain, thus requiring only a fraction of the systemic dose (see, e.g., Goodson, in *Medical Applications of Controlled Release*, *supra*, vol. 2, pp. 115-138 (1984)).

[437] Other controlled release systems are discussed in the review by Langer (*Science* 249:1527-1533 (1990)).

[438] In a specific embodiment where the compound of the invention is a nucleic acid encoding a protein, the nucleic acid can be administered *in vivo* to promote expression of its encoded protein, by constructing it as part of an appropriate nucleic acid expression vector and administering it so that it becomes intracellular, e.g., by use of a retroviral vector (see

WO 02/02587

PCT/US01/20917

U.S. Patent No. 4,980,286), or by direct injection, or by use of microparticle bombardment (e.g., a gene gun; Biolistic, Dupont), or coating with lipids or cell-surface receptors or transfecting agents, or by administering it in linkage to a homocobalamin-like peptide which is known to enter the nucleus (see e.g., Joliet et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:1864-1868 (1991)), etc. Alternatively, a nucleic acid can be introduced intracellularly and incorporated within host cell DNA for expression, by homologous recombination.

[439] The present invention also provides pharmaceutical compositions. Such compositions comprise a therapeutically effective amount of a compound, and a pharmaceutically acceptable carrier. In a specific embodiment, the term "pharmaceutically acceptable" means approved by a regulatory agency of the Federal or a state government or listed in the U.S. Pharmacopeia or other generally recognized pharmacopeia for use in animals, and more particularly in humans. The term "carrier" refers to a diluent, adjuvant, excipient, or vehicle with which the therapeutic is administered. Such pharmaceutical carriers can be sterile liquids, such as water and oils, including those of petroleum, animal, vegetable or synthetic origin, such as peanut oil, soybean oil, mineral oil, sesame oil and the like. Water is a preferred carrier when the pharmaceutical composition is administered intravenously. Saline solutions and aqueous dextrose and glycerol solutions can also be employed as liquid carriers, particularly for injectable solutions. Suitable pharmaceutical excipients include starch, glucose, lactose, sucrose, gelatin, malt, rice, flour, chalk, silica gel, sodium stearate, glycerol monostearate, talc, sodium chloride, dried skim milk, glycerol, propylene glycol, water, ethanol and the like. The composition, if desired, can also contain minor amounts of wetting or emulsifying agents, or pH buffering agents. These compositions can take the form of solutions, suspensions, emulsion, tablets, pills, capsules, powders, sustained-release formulations and the like. The composition can be formulated as a suppository, with traditional binders and carriers such as triglycerides. Oral formulation can include standard carriers such as pharmaceutical grades of mannitol, lactose, starch, magnesium stearate, sodium saccharine, cellulose, magnesium carbonate, etc. Examples of suitable pharmaceutical carriers are described in "Remington's Pharmaceutical Sciences" by E.W. Martin. Such compositions will contain a therapeutically effective amount of the compound, preferably in purified form, together with a suitable amount of carrier so as to provide the form for proper administration to the patient. The formulation should suit the mode of administration.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[440] In a preferred embodiment, the composition is formulated in accordance with routine procedures as a pharmaceutical composition adapted for intravenous administration to human beings. Typically, compositions for intravenous administration are solutions in sterile isotonic aqueous buffer. Where necessary, the composition may also include a solubilizing agent and a local anesthetic such as lignocaine to ease pain at the site of the injection. Generally, the ingredients are supplied either separately or mixed together in unit dosage form, for example, as a dry lyophilized powder or water free concentrate in a hermetically sealed container such as an ampoule or sachette indicating the quantity of active agent. Where the composition is to be administered by infusion, it can be dispensed with an infusion bottle containing sterile pharmaceutical grade water or saline. Where the composition is administered by injection, an ampoule of sterile water for injection or saline can be provided so that the ingredients may be mixed prior to administration.

[441] The compounds of the invention can be formulated as neutral or salt forms. Pharmaceutically acceptable salts include those formed with anions such as those derived from hydrochloric, phosphoric, acetic, oxalic, tartaric acids, etc., and those formed with cations such as those derived from sodium, potassium, ammonium, calcium, ferric hydroxides, isopropylamine, triethylamine, 2-ethylamino ethanol, histidine, procaine, etc.

[442] The amount of the compound of the invention which will be effective in the treatment, inhibition and prevention of a disease or disorder associated with aberrant expression and/or activity of a polypeptide of the invention can be determined by standard clinical techniques. In addition, in vitro assays may optionally be employed to help identify optimal dosage ranges. The precise dose to be employed in the formulation will also depend on the route of administration, and the seriousness of the disease or disorder, and should be decided according to the judgment of the practitioner and each patient's circumstances. Effective doses may be extrapolated from dose-response curves derived from in vitro or animal model test systems.

[443] For antibodies, the dosage administered to a patient is typically 0.1 mg/kg to 100 mg/kg of the patient's body weight. Preferably, the dosage administered to a patient is between 0.1 mg/kg and 20 mg/kg of the patient's body weight, more preferably 1 mg/kg to 10 mg/kg of the patient's body weight. Generally, human antibodies have a longer half-life within the human body than antibodies from other species due to the immune response to the foreign polypeptides. Thus, lower dosages of human antibodies and less frequent

WO 02/02587

PCT/US01/20917

administration is often possible. Further, the dosage and frequency of administration of antibodies of the invention may be reduced by enhancing uptake and tissue penetration (e.g., into the brain) of the antibodies by modifications such as, for example, lipidation.

[444] The invention also provides a pharmaceutical pack or kit comprising one or more containers filled with one or more of the ingredients of the pharmaceutical compositions of the invention. Optionally associated with such container(s) can be a notice in the form prescribed by a governmental agency regulating the manufacture, use or sale of pharmaceuticals or biological products, which notice reflects approval by the agency of manufacture, use or sale for human administration.

Diagnosis and Imaging

[445] Labeled antibodies, and derivatives and analogs thereof, which specifically bind to a polypeptide of interest can be used for diagnostic purposes to detect, diagnose, or monitor diseases, disorders, and/or conditions associated with the aberrant expression and/or activity of a polypeptide of the invention. The invention provides for the detection of aberrant expression of a polypeptide of interest, comprising (a) assaying the expression of the polypeptide of interest in cells or body fluid of an individual using one or more antibodies specific to the polypeptide interest and (b) comparing the level of gene expression with a standard gene expression level, whereby an increase or decrease in the assayed polypeptide gene expression level compared to the standard expression level is indicative of aberrant expression.

[446] The invention provides a diagnostic assay for diagnosing a disorder, comprising (a) assaying the expression of the polypeptide of interest in cells or body fluid of an individual using one or more antibodies specific to the polypeptide interest and (b) comparing the level of gene expression with a standard gene expression level, whereby an increase or decrease in the assayed polypeptide gene expression level compared to the standard expression level is indicative of a particular disorder. With respect to cancer, the presence of a relatively high amount of transcript in biopsied tissue from an individual may indicate a predisposition for the development of the disease, or may provide a means for detecting the disease prior to the appearance of actual clinical symptoms. A more definitive diagnosis of this type may allow health professionals to employ preventative measures or aggressive treatment earlier thereby preventing the development or further progression of the cancer.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[447] Antibodies of the invention can be used to assay protein levels in a biological sample using classical immunohistological methods known to those of skill in the art (e.g., see Jalkanen, et al., *J. Cell. Biol.* 101:976-985 (1985); Jalkanen, et al., *J. Cell. Biol.* 105:3087-3096 (1987)). Other antibody-based methods useful for detecting protein gene expression include immunoassays, such as the enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) and the radioimmunoassay (RIA). Suitable antibody assay labels are known in the art and include enzyme labels, such as, glucose oxidase; radioisotopes, such as iodine (125I, 121I), carbon (14C), sulfur (35S), tritium (3H), indium (112In), and technetium (99Tc); luminescent labels, such as luminol; and fluorescent labels, such as fluorescein and rhodamine, and biotin.

[448] One aspect of the invention is the detection and diagnosis of a disease or disorder associated with aberrant expression of a polypeptide of interest in an animal, preferably a mammal and most preferably a human. In one embodiment, diagnosis comprises: a) administering (for example, parenterally, subcutaneously, or intraperitoneally) to a subject an effective amount of a labeled molecule which specifically binds to the polypeptide of interest; b) waiting for a time interval following the administering for permitting the labeled molecule to preferentially concentrate at sites in the subject where the polypeptide is expressed (and for unbound labeled molecule to be cleared to background level); c) determining background level; and d) detecting the labeled molecule in the subject, such that detection of labeled molecule above the background level indicates that the subject has a particular disease or disorder associated with aberrant expression of the polypeptide of interest. Background level can be determined by various methods including, comparing the amount of labeled molecule detected to a standard value previously determined for a particular system.

[449] It will be understood in the art that the size of the subject and the imaging system used will determine the quantity of imaging moiety needed to produce diagnostic images. In the case of a radioisotope moiety, for a human subject, the quantity of radioactivity injected will normally range from about 5 to 20 millicuries of 99mTc. The labeled antibody or antibody fragment will then preferentially accumulate at the location of cells which contain the specific protein. In vivo tumor imaging is described in S.W. Burchiel et al., "Immunopharmacokinetics of Radiolabeled Antibodies and Their Fragments." (Chapter 13

WO 02/02587

PCT/US01/20917

in *Tumor Imaging: The Radiochemical Detection of Cancer*, S.W. Burchiel and B. A. Rhodes, eds., Masson Publishing Inc. (1982).

[450] Depending on several variables, including the type of label used and the mode of administration, the time interval following the administration for permitting the labeled molecule to preferentially concentrate at sites in the subject and for unbound labeled molecule to be cleared to background level is 6 to 48 hours or 6 to 24 hours or 6 to 12 hours. In another embodiment the time interval following administration is 5 to 20 days or 5 to 10 days.

[451] In an embodiment, monitoring of the disease or disorder is carried out by repeating the method for diagnosing the disease or disorder, for example, one month after initial diagnosis, six months after initial diagnosis, one year after initial diagnosis, etc.

[452] Presence of the labeled molecule can be detected in the patient using methods known in the art for *in vivo* scanning. These methods depend upon the type of label used. Skilled artisans will be able to determine the appropriate method for detecting a particular label. Methods and devices that may be used in the diagnostic methods of the invention include, but are not limited to, computed tomography (CT), whole body scan such as positron emission tomography (PET), magnetic resonance imaging (MRI), and sonography.

[453] In a specific embodiment, the molecule is labeled with a radioisotope and is detected in the patient using a radiation responsive surgical instrument (Thurston et al., U.S. Patent No. 5,441,050). In another embodiment, the molecule is labeled with a fluorescent compound and is detected in the patient using a fluorescence responsive scanning instrument. In another embodiment, the molecule is labeled with a positron emitting metal and is detected in the patient using positron emission tomography. In yet another embodiment, the molecule is labeled with a paramagnetic label and is detected in a patient using magnetic resonance imaging (MRI).

Kits

[454] The present invention provides kits that can be used in the above methods. In one embodiment, a kit comprises an antibody of the invention, preferably a purified antibody, in one or more containers. In a specific embodiment, the kits of the present invention contain a substantially isolated polypeptide comprising an epitope which is specifically immunoreactive with an antibody included in the kit. Preferably, the kits of the present

WO 02/02587

PCT/US01/20917

invention further comprise a control antibody which does not react with the polypeptide of interest. In another specific embodiment, the kits of the present invention contain a means for detecting the binding of an antibody to a polypeptide of interest (e.g., the antibody may be conjugated to a detectable substrate such as a fluorescent compound, an enzymatic substrate, a radioactive compound or a luminescent compound, or a second antibody which recognizes the first antibody may be conjugated to a detectable substrate).

[455] In another specific embodiment of the present invention, the kit is a diagnostic kit for use in screening serum containing antibodies specific against proliferative and/or cancerous polynucleotides and polypeptides. Such a kit may include a control antibody that does not react with the polypeptide of interest. Such a kit may include a substantially isolated polypeptide antigen comprising an epitope which is specifically immunoreactive with at least one anti-polypeptide antigen antibody. Further, such a kit includes means for detecting the binding of said antibody to the antigen (e.g., the antibody may be conjugated to a fluorescent compound such as fluorescein or rhodamine which can be detected by flow cytometry). In specific embodiments, the kit may include a recombinantly produced or chemically synthesized polypeptide antigen. The polypeptide antigen of the kit may also be attached to a solid support.

[456] In a more specific embodiment the detecting means of the above-described kit includes a solid support to which said polypeptide antigen is attached. Such a kit may also include a non-attached reporter-labeled anti-human antibody. In this embodiment, binding of the antibody to the polypeptide antigen can be detected by binding of the said reporter-labeled antibody.

[457] In an additional embodiment, the invention includes a diagnostic kit for use in screening serum containing antigens of the polypeptide of the invention. The diagnostic kit includes a substantially isolated antibody specifically immunoreactive with polypeptide or polynucleotide antigens, and means for detecting the binding of the polynucleotide or polypeptide antigen to the antibody. In one embodiment, the antibody is attached to a solid support. In a specific embodiment, the antibody may be a monoclonal antibody. The detecting means of the kit may include a second, labeled monoclonal antibody. Alternatively, or in addition, the detecting means may include a labeled, competing antigen.

[458] In one diagnostic configuration, test serum is reacted with a solid phase reagent having a surface-bound antigen obtained by the methods of the present invention. After

WO 02/02587

PCT/US01/20917

binding with specific antigen antibody to the reagent and removing unbound serum components by washing, the reagent is reacted with reporter-labeled anti-human antibody to bind reporter to the reagent in proportion to the amount of bound anti-antigen antibody on the solid support. The reagent is again washed to remove unbound labeled antibody, and the amount of reporter associated with the reagent is determined. Typically, the reporter is an enzyme which is detected by incubating the solid phase in the presence of a suitable fluorometric, luminescent or colorimetric substrate (Sigma, St. Louis, MO).

[459] The solid surface reagent in the above assay is prepared by known techniques for attaching protein material to solid support material, such as polymeric beads, dip sticks, 96-well plate or filter material. These attachment methods generally include non-specific adsorption of the protein to the support or covalent attachment of the protein, typically through a free amine group, to a chemically reactive group on the solid support, such as an activated carboxyl, hydroxyl, or aldehyde group. Alternatively, streptavidin coated plates can be used in conjunction with biotinylated antigen(s).

[460] Thus, the invention provides an assay system or kit for carrying out this diagnostic method. The kit generally includes a support with surface-bound recombinant antigens, and a reporter-labeled anti-human antibody for detecting surface-bound anti-antigen antibody.

Uses of the Polynucleotides

[461] Each of the polynucleotides identified herein can be used in numerous ways as reagents. The following description should be considered exemplary and utilizes known techniques.

[462] The polynucleotides of the present invention are useful for chromosome identification. There exists an ongoing need to identify new chromosome markers, since few chromosome marking reagents, based on actual sequence data (repeat polymorphisms), are presently available. Each sequence is specifically targeted to and can hybridize with a particular location on an individual human chromosome, thus each polynucleotide of the present invention can routinely be used as a chromosome marker using techniques known in the art.

[463] Briefly, sequences can be mapped to chromosomes by preparing PCR primers (preferably at least 15 bp (e.g., 15-25 bp) from the sequences shown in SEQ ID NO:X.

WO 02/02597

PCT/US01/20917

Primers can optionally be selected using computer analysis so that primers do not span more than one predicted exon in the genomic DNA. These primers are then used for PCR screening of somatic cell hybrids containing individual human chromosomes. Only those hybrids containing the human gene corresponding to SEQ ID NO:X will yield an amplified fragment.

[464] Similarly, somatic hybrids provide a rapid method of PCR mapping the polynucleotides to particular chromosomes. Three or more clones can be assigned per day using a single thermal cycler. Moreover, sublocalization of the polynucleotides can be achieved with panels of specific chromosome fragments. Other gene mapping strategies that can be used include in situ hybridization, prescreening with labeled flow-sorted chromosomes, preselection by hybridization to construct chromosome specific-cDNA libraries, and computer mapping techniques (See, e.g., Shuler, *Trends Biotechnol* 16:456-459 (1998) which is hereby incorporated by reference in its entirety).

[465] Precise chromosomal location of the polynucleotides can also be achieved using fluorescence in situ hybridization (FISH) of a metaphase chromosomal spread. This technique uses polynucleotides as short as 500 or 600 bases; however, polynucleotides 2,000-4,000 bp are preferred. For a review of this technique, see Verma et al., "Human Chromosomes: a Manual of Basic Techniques," Pergamon Press, New York (1988).

[466] For chromosome mapping, the polynucleotides can be used individually (to mark a single chromosome or a single site on that chromosome) or in panels (for marking multiple sites and/or multiple chromosomes).

[467] Thus, the present invention also provides a method for chromosomal localization which involves (a) preparing PCR primers from the polynucleotide sequences in Table 1 and SEQ ID NO:X and (b) screening somatic cell hybrids containing individual chromosomes.

[468] The polynucleotides of the present invention would likewise be useful for radiation hybrid mapping, HAPPY mapping, and long range restriction mapping. For a review of these techniques and others known in the art, see, e.g. Dear, "Genomic Mapping: A Practical Approach," IRL Press at Oxford University Press, London (1997); Aydin, *J. Mol. Med.* 77:691-694 (1999); Hacia et al., *Mol. Psychiatry* 3:483-492 (1998); Herrick et al., *Chromosome Res.* 7:409-423 (1999); Hamilton et al., *Methods Cell Biol.* 62:265-280 (2000); and/or Ott, *J. Hered.* 90:68-70 (1999) each of which is hereby incorporated by reference in its entirety.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[469] Once a polynucleotide has been mapped to a precise chromosomal location, the physical position of the polynucleotide can be used in linkage analysis. Linkage analysis establishes coinherence between a chromosomal location and presentation of a particular disease. (Disease mapping data are found, for example, in V. McKusick, Mendelian Inheritance in Man (available on line through Johns Hopkins University Welch Medical Library)). Assuming 1 megabase mapping resolution and one gene per 20 kb, a cDNA precisely localized to a chromosomal region associated with the disease could be one of 50-500 potential causative genes.

[470] Thus, once coinherence is established, differences in a polynucleotide of the invention and the corresponding gene between affected and unaffected individuals can be examined. First, visible structural alterations in the chromosomes, such as deletions or translocations, are examined in chromosome spreads or by PCR. If no structural alterations exist, the presence of point mutations are ascertained. Mutations observed in some or all affected individuals, but not in normal individuals, indicates that the mutation may cause the disease. However, complete sequencing of the polypeptide and the corresponding gene from several normal individuals is required to distinguish the mutation from a polymorphism. If a new polymorphism is identified, this polymorphic polypeptide can be used for further linkage analysis.

[471] Furthermore, increased or decreased expression of the gene in affected individuals as compared to unaffected individuals can be assessed using the polynucleotides of the invention. Any of these alterations (altered expression, chromosomal rearrangement, or mutation) can be used as a diagnostic or prognostic marker.

[472] Thus, the invention also provides a diagnostic method useful during diagnosis of a disorder, involving measuring the expression level of polynucleotides of the present invention in cells or body fluid from an individual and comparing the measured gene expression level with a standard level of polynucleotide expression level, whereby an increase or decrease in the gene expression level compared to the standard is indicative of a disorder.

[473] In still another embodiment, the invention includes a kit for analyzing samples for the presence of proliferative and/or cancerous polynucleotides derived from a test subject. In a general embodiment, the kit includes at least one polynucleotide probe containing a nucleotide sequence that will specifically hybridize with a polynucleotide of the invention and a suitable container. In a specific embodiment, the kit includes two polynucleotide probes

WO 02/02587

PCT/US01/20917

defining an internal region of the polynucleotide of the invention, where each probe has one strand containing a 31'ner-end internal to the region. In a further embodiment, the probes may be useful as primers for polymerase chain reaction amplification.

[474] Where a diagnosis of a related disorder, including, for example, diagnosis of a tumor, has already been made according to conventional methods, the present invention is useful as a prognostic indicator, whereby patients exhibiting enhanced or depressed polynucleotide of the invention expression will experience a worse clinical outcome relative to patients expressing the gene at a level nearer the standard level.

[475] By "measuring the expression level of polynucleotides of the invention" is intended qualitatively or quantitatively measuring or estimating the level of the polypeptide of the invention or the level of the mRNA encoding the polypeptide of the invention in a first biological sample either directly (e.g., by determining or estimating absolute protein level or mRNA level) or relatively (e.g., by comparing to the polypeptide level or mRNA level in a second biological sample). Preferably, the polypeptide level or mRNA level in the first biological sample is measured or estimated and compared to a standard polypeptide level or mRNA level, the standard being taken from a second biological sample obtained from an individual not having the related disorder or being determined by averaging levels from a population of individuals not having a related disorder. As will be appreciated in the art, once a standard polypeptide level or mRNA level is known, it can be used repeatedly as a standard for comparison.

[476] By "biological sample" is intended any biological sample obtained from an individual, body fluid, cell line, tissue culture, or other source which contains polypeptide of the present invention or the corresponding mRNA. As indicated, biological samples include body fluids (such as semen, lymph, sera, plasma, urine, synovial fluid and spinal fluid) which contain the polypeptide of the present invention, and tissue sources found to express the polypeptide of the present invention. Methods for obtaining tissue biopsies and body fluids from mammals are well known in the art. Where the biological sample is to include mRNA, a tissue biopsy is the preferred source.

[477] The method(s) provided above may preferably be applied in a diagnostic method and/or kits in which polynucleotides and/or polypeptides of the invention are attached to a solid support. In one exemplary method, the support may be a "gene chip" or a "biological chip" as described in US Patents 5,837,832, 5,874,219, and 5,856,174. Further, such a gene

WO 02/02587

PCT/US01/20917

chip with polynucleotides of the invention attached may be used to identify polymorphisms between the isolated polynucleotide sequences of the invention, with polynucleotides isolated from a test subject. The knowledge of such polymorphisms (i.e. their location, as well as, their existence) would be beneficial in identifying disease loci for many disorders, such as for example, in neural disorders, immune system disorders, muscular disorders, reproductive disorders, gastrointestinal disorders, pulmonary disorders, cardiovascular disorders, renal disorders, proliferative disorders, and/or cancerous diseases and conditions. Such a method is described in US Patents 5,858,659 and 5,856,104. The US Patents referenced supra are hereby incorporated by reference in their entirety herein.

[478] The present invention encompasses polynucleotides of the present invention that are chemically synthesized, or reproduced as peptide nucleic acids (PNA), or according to other methods known in the art. The use of PNAs would serve as the preferred form if the polynucleotides of the invention are incorporated onto a solid support, or gene chip. For the purposes of the present invention, a peptide nucleic acid (PNA) is a polyamide type of DNA analog and the monomeric units for adenine, guanine, thymine and cytosine are available commercially (Perceptive Biosystems). Certain components of DNA, such as phosphorus, phosphorus oxides, or deoxyribose derivatives, are not present in PNAs. As disclosed by P. E. Nielsen, M. Egholm, R. H. Berg and O. Buchardt, *Science* 254, 1497 (1991), and M. Egholm, O. Buchardt, L. Christensen, C. Behrens, S. M. Freier, D. A. Driver, R. H. Berg, S. K. Kim, B. Norden, and P. E. Nielsen, *Nature* 365, 666 (1993), PNAs bind specifically and tightly to complementary DNA strands and are not degraded by nucleases. In fact, PNA binds more strongly to DNA than DNA itself does. This is probably because there is no electrostatic repulsion between the two strands, and also the polyamide backbone is more flexible. Because of this, PNA/DNA duplexes bind under a wider range of stringency conditions than DNA/DNA duplexes, making it easier to perform multiplex hybridization. Smaller probes can be used than with DNA due to the strong binding. In addition, it is more likely that single base mismatches can be determined with PNA/DNA hybridization because a single mismatch in a PNA/DNA 15-mer lowers the melting point ($T_{sub.m}$) by 8°-20° C, vs. 4°-16° C for the DNA/DNA 15-mer duplex. Also, the absence of charge groups in PNA means that hybridization can be done at low ionic strengths and reduce possible interference by salt during the analysis.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[479] The present invention have uses which include, but are not limited to, detecting cancer in mammals. In particular the invention is useful during diagnosis of pathological cell proliferative neoplasias which include, but are not limited to: acute myelogenous leukemias including acute monocytic leukemia, acute myeloblastic leukemia, acute promyelocytic leukemia, acute myelomonocytic leukemia, acute erythroleukemia, acute megakaryocytic leukemia, and acute undifferentiated leukemia, etc.; and chronic myelogenous leukemias including chronic myelomonocytic leukemia, chronic granulocytic leukemia, etc. Preferred mammals include monkeys, apes, cats, dogs, cows, pigs, horses, rabbits and humans. Particularly preferred are humans.

[480] Pathological cell proliferative disorders are often associated with inappropriate activation of proto-oncogenes. (Gelman, E. P. et al., "The Etiology of Acute Leukemia: Molecular Genetics and Viral Oncology," in *Neoplastic Diseases of the Blood*, Vol 1., Wiernik, P. H. et al. eds., 161-182 (1985)). Neoplasias are now believed to result from the qualitative alteration of a normal cellular gene product, or from the quantitative modification of gene expression by insertion into the chromosome of a viral sequence, by chromosomal translocation of a gene to a more actively transcribed region, or by some other mechanism. (Gelman et al., supra) It is likely that mutated or altered expression of specific genes is involved in the pathogenesis of some leukemias, among other tissues and cell types. (Gelman et al., supra) Indeed, the human counterparts of the oncogenes involved in some animal neoplasias have been amplified or translocated in some cases of human leukemia and carcinoma. (Gelman et al., supra)

[481] For example, c-myc expression is highly amplified in the non-lymphocytic leukemia cell line HL-60. When HL-60 cells are chemically induced to stop proliferation, the level of c-myc is found to be downregulated. (International Publication Number WO 91/15580). However, it has been shown that exposure of HL-60 cells to a DNA construct that is complementary to the 5' end of c-myc or c-myb blocks translation of the corresponding mRNAs which downregulates expression of the c-myc or c-myb proteins and causes arrest of cell proliferation and differentiation of the treated cells. (International Publication Number WO 91/15580; Wickstrom et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.* 85:1028 (1988); Anfossi et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.* 86:3379 (1989)). However, the skilled artisan would appreciate the present invention's usefulness is not be limited to treatment of proliferative disorders of

hematopoietic cells and tissues, in light of the numerous cells and cell types of varying origins which are known to exhibit proliferative phenotypes.

[482] In addition to the foregoing, a polynucleotide of the present invention can be used to control gene expression through triple helix formation or through antisense DNA or RNA. Antisense techniques are discussed, for example, in Okano, *J. Neurochem.* 56: 560 (1991); "Oligodeoxynucleotides as Antisense Inhibitors of Gene Expression, CRC Press, Boca Raton, FL (1988). Triple helix formation is discussed in, for instance Lee et al., *Nucleic Acids Research* 6: 3073 (1979); Cooney et al., *Science* 241: 456 (1988); and Dervan et al., *Science* 251: 1360 (1991). Both methods rely on binding of the polynucleotide to a complementary DNA or RNA. For these techniques, preferred polynucleotides are usually oligonucleotides 20 to 40 bases in length and complementary to either the region of the gene involved in transcription (triple helix - see Lee et al., *Nucl. Acids Res.* 6:3073 (1979); Cooney et al., *Science* 241:456 (1988); and Dervan et al., *Science* 251:1360 (1991)) or to the mRNA itself (antisense - Okano, *J. Neurochem.* 56:560 (1991); Oligodeoxy-nucleotides as Antisense Inhibitors of Gene Expression, CRC Press, Boca Raton, FL (1988)). Triple helix formation optimally results in a shut-off of RNA transcription from DNA, while antisense RNA hybridization blocks translation of an mRNA molecule into polypeptide. The oligonucleotide described above can also be delivered to cells such that the antisense RNA or DNA may be expressed *in vivo* to inhibit production of polypeptide of the present invention antigens. Both techniques are effective in model systems, and the information disclosed herein can be used to design antisense or triple helix polynucleotides in an effort to treat disease, and in particular, for the treatment of proliferative diseases and/or conditions.

[483] Polynucleotides of the present invention are also useful in gene therapy. One goal of gene therapy is to insert a normal gene into an organism having a defective gene, in an effort to correct the genetic defect. The polynucleotides disclosed in the present invention offer a means of targeting such genetic defects in a highly accurate manner. Another goal is to insert a new gene that was not present in the host genome, thereby producing a new trait in the host cell.

[484] The polynucleotides are also useful for identifying individuals from minute biological samples. The United States military, for example, is considering the use of restriction fragment length polymorphism (RFLP) for identification of its personnel. In this technique, an individual's genomic DNA is digested with one or more restriction enzymes,

WO 02/02587

PCT/US01/20917

and probed on a Southern blot to yield unique bands for identifying personnel. This method does not suffer from the current limitations of "Dog Tags" which can be lost, switched, or stolen, making positive identification difficult. The polynucleotides of the present invention can be used as additional DNA markers for RFLP.

[485] The polynucleotides of the present invention can also be used as an alternative to RFLP, by determining the actual base-by-base DNA sequence of selected portions of an individual's genome. These sequences can be used to prepare PCR primers for amplifying and isolating such selected DNA, which can then be sequenced. Using this technique, individuals can be identified because each individual will have a unique set of DNA sequences. Once an unique ID database is established for an individual, positive identification of that individual, living or dead, can be made from extremely small tissue samples.

[486] Forensic biology also benefits from using DNA-based identification techniques as disclosed herein. DNA sequences taken from very small biological samples such as tissues, e.g., hair or skin, or body fluids, e.g., blood, saliva, semen, synovial fluid, amniotic fluid, breast milk, lymph, pulmonary sputum or surfactant, urine, fecal matter, etc., can be amplified using PCR. In one prior art technique, gene sequences amplified from polymorphic loci, such as DQa class II HLA gene, are used in forensic biology to identify individuals. (Erllich, H., PCR Technology, Freeman and Co. (1992)). Once these specific polymorphic loci are amplified, they are digested with one or more restriction enzymes, yielding an identifying set of bands on a Southern blot probed with DNA corresponding to the DQa class II HLA gene. Similarly, polynucleotides of the present invention can be used as polymorphic markers for forensic purposes.

[487] There is also a need for reagents capable of identifying the source of a particular tissue. Such need arises, for example, in forensics when presented with tissue of unknown origin. Appropriate reagents can comprise, for example, DNA probes or primers prepared from the sequences of the present invention. Panels of such reagents can identify tissue by species and/or by organ type. In a similar fashion, these reagents can be used to screen tissue cultures for contamination.

[488] The polynucleotides of the present invention are also useful as hybridization probes for differential identification of the tissue(s) or cell type(s) present in a biological sample. Similarly, polypeptides and antibodies directed to polypeptides of the present

WO 02/02587

PCT/US01/20917

invention are useful to provide immunological probes for differential identification of the tissue(s) (e.g., immunohistochemistry assays) or cell type(s) (e.g., immunocytochemistry assays). In addition, for a number of disorders of the above tissues or cells, significantly higher or lower levels of gene expression of the polynucleotides/polypeptides of the present invention may be detected in certain tissues (e.g., tissues expressing polypeptides and/or polynucleotides of the present invention and/or cancerous and/or wounded tissues) or bodily fluids (e.g., serum, plasma, urine, synovial fluid or spinal fluid) taken from an individual having such a disorder, relative to a "standard" gene expression level, i.e., the expression level in healthy tissue from an individual not having the disorder.

[489] Thus, the invention provides a diagnostic method of a disorder, which involves: (a) assaying gene expression level in cells or body fluid of an individual; (b) comparing the gene expression level with a standard gene expression level, whereby an increase or decrease in the assayed gene expression level compared to the standard expression level is indicative of a disorder.

[490] In the very least, the polynucleotides of the present invention can be used as molecular weight markers on Southern gels, as diagnostic probes for the presence of a specific mRNA in a particular cell type, as a probe to "subtract-out" known sequences in the process of discovering novel polynucleotides, for selecting and making oligomers for attachment to a "gene chip" or other support, to raise anti-DNA antibodies using DNA immunization techniques, and as an antigen to elicit an immune response.

Uses of the Polypeptides

[491] Each of the polypeptides identified herein can be used in numerous ways. The following description should be considered exemplary and utilizes known techniques.

[492] Polypeptides and antibodies directed to polypeptides of the present invention are useful to provide immunological probes for differential identification of the tissue(s) (e.g., immunohistochemistry assays such as, for example, ABC immunoperoxidase (Hsu et al., *J. Histochem. Cytochem.* 29:577-580 (1981)) or cell type(s) (e.g., immunocytochemistry assays).

[493] Antibodies can be used to assay levels of polypeptides encoded by polynucleotides of the invention in a biological sample using classical immunohistological methods known to those of skill in the art (e.g., see Jalkanen, et al., *J. Cell. Biol.* 101:976-985 (1985); Jalkanen,

WO 02/02587

PCT/US01/20917

et al., J. Cell. Biol. 105:3087-3096 (1987)). Other antibody-based methods useful for detecting protein gene expression include immunoassays, such as the enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) and the radioimmunoassay (RIA). Suitable antibody assay labels are known in the art and include enzyme labels, such as, glucose oxidase; radioisotopes, such as iodine (^{131}I , ^{125}I , ^{123}I , ^{121}I), carbon (^{14}C), sulfur (^{35}S), tritium (^3H), indium ($^{115\text{m}}\text{In}$, $^{113\text{m}}\text{In}$, ^{112}In , ^{111}In), and technetium ($^{99\text{m}}\text{Tc}$, $^{99\text{Tc}}$), thallium (^{201}Tl), gallium (^{68}Ga , ^{67}Ga), palladium (^{103}Pd), molybdenum (^{99}Mo), xenon (^{133}Xe), fluorine (^{18}F), ^{153}Sm , ^{177}Lu , ^{159}Gd , ^{149}Pm , ^{140}La , ^{175}Yb , ^{166}Ho , ^{90}Y , ^{47}Sc , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{142}Pr , ^{105}Rh , ^{97}Ru ; luminescent labels, such as luminol; and fluorescent labels, such as fluorescein and rhodamine, and biotin.

[494] In addition to assaying levels of polypeptide of the present invention in a biological sample, proteins can also be detected *in vivo* by imaging. Antibody labels or markers for *in vivo* imaging of protein include those detectable by X-radiography, NMR or ESR. For X-radiography, suitable labels include radioisotopes such as barium or cesium, which emit detectable radiation but are not overtly harmful to the subject. Suitable markers for NMR and ESR include those with a detectable characteristic spin, such as deuterium, which may be incorporated into the antibody by labeling of nutrients for the relevant hybridoma.

[495] A protein-specific antibody or antibody fragment which has been labeled with an appropriate detectable imaging moiety, such as a radioisotope (for example, ^{131}I , ^{112}In , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, (^{131}I , ^{125}I , ^{123}I , ^{121}I), carbon (^{14}C), sulfur (^{35}S), tritium (^3H), indium ($^{115\text{m}}\text{In}$, $^{113\text{m}}\text{In}$, ^{112}In , ^{111}In), and technetium ($^{99\text{m}}\text{Tc}$, $^{99\text{Tc}}$), thallium (^{201}Tl), gallium (^{68}Ga , ^{67}Ga), palladium (^{103}Pd), molybdenum (^{99}Mo), xenon (^{133}Xe), fluorine (^{18}F , ^{153}Sm , ^{177}Lu , ^{159}Gd , ^{149}Pm , ^{140}La , ^{175}Yb , ^{166}Ho , ^{90}Y , ^{47}Sc , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{142}Pr , ^{105}Rh , ^{97}Ru), a radio-opaque substance, or a material detectable by nuclear magnetic resonance, is introduced (for example, parenterally, subcutaneously or intraperitoneally) into the mammal to be examined for immune system disorder. It will be understood in the art that the size of the subject and the imaging system used will determine the quantity of imaging moiety needed to produce diagnostic images. In the case of a radioisotope moiety, for a human subject, the quantity of radioactivity injected will normally range from about 5 to 20 millicuries of $^{99\text{m}}\text{Tc}$. The labeled antibody or antibody fragment will then preferentially accumulate at the location of cells which express the polypeptide encoded by a polynucleotide of the invention. *In vivo* tumor imaging is described in S.W. Burchiel et al., "Immunopharmacokinetics of Radiolabeled Antibodies and

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Their Fragments" (Chapter 13 in *Tumor Imaging: The Radiochemical Detection of Cancer*, S.W. Burchiel and B. A. Rhodes, eds., Masson Publishing Inc. (1982)).

[496] In one embodiment, the invention provides a method for the specific delivery of compositions of the invention to cells by administering polypeptides of the invention (e.g., polypeptides encoded by polynucleotides of the invention and/or antibodies) that are associated with heterologous polypeptides or nucleic acids. In one example, the invention provides a method for delivering a therapeutic protein into the targeted cell. In another example, the invention provides a method for delivering a single stranded nucleic acid (e.g., antisense or ribozymes) or double stranded nucleic acid (e.g., DNA that can integrate into the cell's genome or replicate episomally and that can be transcribed) into the targeted cell.

[497] In another embodiment, the invention provides a method for the specific destruction of cells (e.g., the destruction of tumor cells) by administering polypeptides of the invention in association with toxins or cytotoxic prodrugs.

[498] By "toxin" is meant one or more compounds that bind and activate endogenous cytotoxic effector systems, radioisotopes, holotoxins, modified toxins, catalytic subunits of toxins, or any molecules or enzymes not normally present in or on the surface of a cell that under defined conditions cause the cell's death. Toxins that may be used according to the methods of the invention include, but are not limited to, radioisotopes known in the art, compounds such as, for example, antibodies (or complement fixing containing portions thereof) that bind an inherent or induced endogenous cytotoxic effector system, thymidine kinase, endonuclease, RNase, alpha toxin, ricin, abrin, *Pseudomonas* exotoxin A, diphtheria toxin, saporin, momordin, gelonin, pokeweed antiviral protein, alpha-sarcin and cholera toxin. "Toxin" also includes a cytostatic or cytotoxic agent, a therapeutic agent or a radioactive metal ion, e.g., alpha-emitters such as, for example, ^{213}Bi , or other radioisotopes such as, for example, ^{105}Pd , ^{133}Xe , ^{131}I , ^{68}Ge , ^{57}Co , ^{65}Zn , ^{85}Sr , ^{32}P , ^{35}S , ^{90}Y , ^{152}Sm , ^{153}Gd , ^{169}Yb , ^{51}Cr , ^{54}Mn , ^{75}Se , ^{113}Sn , $^{90}\text{Yttrium}$, ^{117}Tm , $^{186}\text{Rhenium}$, $^{166}\text{Holmium}$, and $^{188}\text{Rhenium}$; luminescent labels, such as luminol; and fluorescent labels, such as fluorescein and rhodamine, and biotin.

[499] Techniques known in the art may be applied to label polypeptides of the invention (including antibodies). Such techniques include, but are not limited to, the use of bifunctional conjugating agents (see e.g., U.S. Patent Nos. 5,756,065; 5,714,631; 5,696,239; 5,652,361; 5,505,921; 5,489,425; 5,435,990; 5,428,139; 5,342,604; 5,274,119; 4,994,560;

WO 02/02587

PCT/US01/20917

and 5,808,003; the contents of each of which are hereby incorporated by reference in its entirety).

[500] Thus, the invention provides a diagnostic method of a disorder, which involves (a) assaying the expression level of a polypeptide of the present invention in cells or body fluid of an individual; and (b) comparing the assayed polypeptide expression level with a standard polypeptide expression level, whereby an increase or decrease in the assayed polypeptide expression level compared to the standard expression level is indicative of a disorder. With respect to cancer, the presence of a relatively high amount of transcript in biopsied tissue from an individual may indicate a predisposition for the development of the disease, or may provide a means for detecting the disease prior to the appearance of actual clinical symptoms. A more definitive diagnosis of this type may allow health professionals to employ preventative measures or aggressive treatment earlier thereby preventing the development or further progression of the cancer.

[501] Moreover, polypeptides of the present invention can be used to treat or prevent diseases or conditions such as, for example, neural disorders, immune system disorders, muscular disorders, reproductive disorders, gastrointestinal disorders, pulmonary disorders, cardiovascular disorders, renal disorders, proliferative disorders, and/or cancerous diseases and conditions. For example, patients can be administered a polypeptide of the present invention in an effort to replace absent or decreased levels of the polypeptide (e.g., insulin), to supplement absent or decreased levels of a different polypeptide (e.g., hemoglobin S for hemoglobin B, SOD, catalase, DNA repair proteins), to inhibit the activity of a polypeptide (e.g., an oncogene or tumor suppressor), to activate the activity of a polypeptide (e.g., by binding to a receptor), to reduce the activity of a membrane bound receptor by competing with it for free ligand (e.g., soluble TNF receptors used in reducing inflammation), or to bring about a desired response (e.g., blood vessel growth inhibition, enhancement of the immune response to proliferative cells or tissues).

[502] Similarly, antibodies directed to a polypeptide of the present invention can also be used to treat disease (as described supra, and elsewhere herein). For example, administration of an antibody directed to a polypeptide of the present invention can bind, and/or neutralize the polypeptide, and/or reduce overproduction of the polypeptide. Similarly, administration of an antibody can activate the polypeptide, such as by binding to a polypeptide bound to a membrane (receptor).

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[503] At the very least, the polypeptides of the present invention can be used as molecular weight markers on SDS-PAGE gels or on molecular sieve gel filtration columns using methods well known to those of skill in the art. Polypeptides can also be used to raise antibodies, which in turn are used to measure protein expression from a recombinant cell, as a way of assessing transformation of the host cell. Moreover, the polypeptides of the present invention can be used to test the following biological activities.

Diagnostic Assays

[504] The compounds of the present invention are useful for diagnosis, treatment, prevention and/or prognosis of various disorders in mammals, preferably humans. Such disorders include, but are not limited to, neural disorders (e.g., as described in "Neural Activity and Neurological Diseases" below), immune system disorders (e.g., as described in "Immune Activity" below), muscular disorders (e.g., as described in "Neural Activity and Neurological Diseases" below), reproductive disorders (e.g., as described in "Anti-Angiogenesis Activity" below), pulmonary disorders (e.g., as described in "Immune Activity" below), cardiovascular disorders (e.g., as described in "Cardiovascular Disorders" below), infectious diseases (e.g., as described in "Infectious Disease" below), proliferative disorders (e.g., as described in "Hyperproliferative Disorders", "Anti-Angiogenesis Activity" and "Diseases at the Cellular Level" below), and/or cancerous diseases and conditions (e.g., as described in "Hyperproliferative Disorders", "Anti-Angiogenesis Activity" and "Diseases at the Cellular Level" below).

[505] Members of the B7-like family of proteins are believed to be involved in biological activities associated with T cell activation, cytokine production, T cell proliferation, and immune system and inflammatory disorders. Accordingly, compositions of the invention (including polynucleotides, polypeptides and antibodies of the invention, and fragments and variants thereof) may be used in the diagnosis, detection and/or treatment of diseases and/or disorders associated with aberrant B7-like activities.

[506] In preferred embodiments, compositions of the invention (including polynucleotides, polypeptides and antibodies of the invention, and fragments and variants thereof) may be used in the diagnosis, detection and/or treatment of diseases and/or disorders relating to the immune system in general, and T cell activation specifically (e.g., cytokine production, inflammation, T cell proliferation and T cell proliferative disorders, and/or as

WO 02/02587

PCT/US01/20917

described under "Immune Activity", "Hyperproliferative Disorders" and "Diseases at the Cellular Level" below).

[507] In another embodiment, a polypeptide of the invention, or polynucleotides, antibodies, agonists, or antagonists corresponding to that polypeptide, may be used to diagnose, prognose, prevent, and/or treat disorders associated with the tissue(s) in which the polypeptide of the invention is expressed, including the tissues disclosed in "Polynucleotides and Polypeptides of the Invention", and/or one, two, three, four, five, or more tissues disclosed in Table 10, column 2 (Library Code).

[508] For a number of disorders, substantially altered (increased or decreased) levels of B7-like gene expression can be detected in tissues, cells or bodily fluids (e.g., sera, plasma, urine, semen, synovial fluid or spinal fluid) taken from an individual having such a disorder, relative to a "standard" B7-like gene expression level, that is, the B7-like expression level in tissues or bodily fluids from an individual not having the disorder. Thus, the invention provides a diagnostic method useful during diagnosis of a disorder, which involves measuring the expression level of the gene encoding the B7-like polypeptide in tissues, cells or body fluid from an individual and comparing the measured gene expression level with a standard B7-like gene expression level, whereby an increase or decrease in the gene expression level(s) compared to the standard is indicative of a B7-like disorder. These diagnostic assays may be performed *in vivo* or *in vitro*, such as, for example, on blood samples, biopsy tissue or autopsy tissue.

[509] The present invention is also useful as a prognostic indicator, whereby patients exhibiting enhanced or depressed B7-like gene expression will experience a worse clinical outcome relative to patients expressing the gene at a level nearer the standard level.

[510] By "assaying the expression level of the gene encoding the B7-like polypeptide" is intended qualitatively or quantitatively measuring or estimating the level of the B7-like polypeptide or the level of the mRNA encoding the B7-like polypeptide in a first biological sample either directly (e.g., by determining or estimating absolute protein level or mRNA level) or relatively (e.g., by comparing to the B7-like polypeptide level or mRNA level in a second biological sample). Preferably, the B7-like polypeptide expression level or mRNA level in the first biological sample is measured or estimated and compared to a standard B7-like polypeptide level or mRNA level, the standard being taken from a second biological sample obtained from an individual not having the disorder or being determined by averaging

WO 02/02587

PCT/US01/20917

levels from a population of individuals not having the disorder. As will be appreciated in the art, once a standard B7-like polypeptide level or mRNA level is known, it can be used repeatedly as a standard for comparison.

[511] By "biological sample" is intended any biological sample obtained from an individual, cell line, tissue culture, or other source containing B7-like polypeptides (including portions thereof) or mRNA. As indicated, biological samples include body fluids (such as sera, plasma, urine, synovial fluid and spinal fluid) and tissue sources found to express the full length or fragments thereof of a B7-like polypeptide. Methods for obtaining tissue biopsies and body fluids from mammals are well known in the art. Where the biological sample is to include mRNA, a tissue biopsy is the preferred source.

[512] Total cellular RNA can be isolated from a biological sample using any suitable technique such as the single-step guanidinium-thiocyanate-phenol-chloroform method described in Chomczynski and Sacchi, *Anal. Biochem.* 162:156-159 (1987). Levels of mRNA encoding the B7-like polypeptides are then assayed using any appropriate method. These include Northern blot analysis, S1 nuclease mapping, the polymerase chain reaction (PCR), reverse transcription in combination with the polymerase chain reaction (RT-PCR), and reverse transcription in combination with the ligase chain reaction (RT-LCR).

[513] The present invention also relates to diagnostic assays such as quantitative and diagnostic assays for detecting levels of B7-like polypeptides, in a biological sample (e.g., cells and tissues), including determination of normal and abnormal levels of polypeptides. Thus, for instance, a diagnostic assay in accordance with the invention for detecting over-expression of B7-like polypeptides compared to normal control tissue samples may be used to detect the presence of tumors. Assay techniques that can be used to determine levels of a polypeptide, such as a B7-like polypeptide of the present invention in a sample derived from a host are well-known to those of skill in the art. Such assay methods include radioimmunoassays, competitive-binding assays, Western Blot analysis and ELISA assays. Assaying B7-like polypeptide levels in a biological sample can occur using any art-known method.

[514] Assaying B7-like polypeptide levels in a biological sample can occur using antibody-based techniques. For example, B7-like polypeptide expression in tissues can be studied with classical immunohistological methods (Jalkanen et al., *J. Cell. Biol.* 101:976-985 (1985); Jalkanen, M., et al., *J. Cell Biol.*, 105:3087-3096 (1987)). Other

WO 02/02587

PCT/US01/20917

antibody-based methods useful for detecting B7-like polypeptide gene expression include immunoassays, such as the enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) and the radioimmunoassay (RIA). Suitable antibody assay labels are known in the art and include enzyme labels, such as, glucose oxidase, and radioisotopes, such as iodine (^{125}I , ^{121}I), carbon (^{14}C), sulfur (^{35}S), tritium (^3H), indium (^{112}In), and technetium ($^{99\text{m}}\text{Tc}$), and fluorescent labels, such as fluorescein and rhodamine, and biotin.

[515] The tissue or cell type to be analyzed will generally include those which are known, or suspected, to express the B7-like gene (such as, for example, cancer). The protein isolation methods employed herein may, for example, be such as those described in Harlow and Lane (Harlow, E. and Lane, D., 1988, "Antibodies: A Laboratory Manual", Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York), which is incorporated herein by reference in its entirety. The isolated cells can be derived from cell culture or from a patient. The analysis of cells taken from culture may be a necessary step in the assessment of cells that could be used as part of a cell-based gene therapy technique or, alternatively, to test the effect of compounds on the expression of the B7-like gene.

[516] For example, antibodies, or fragments of antibodies, such as those described herein, may be used to quantitatively or qualitatively detect the presence of B7-like gene products or conserved variants or peptide fragments thereof. This can be accomplished, for example, by immunofluorescence techniques employing a fluorescently labeled antibody coupled with light microscopic, flow cytometric, or fluorimetric detection.

[517] In a preferred embodiment, antibodies, or fragments of antibodies directed to any one or all of the predicted epitope domains of the B7-like polypeptides may be used to quantitatively or qualitatively detect the presence of B7-like gene products or conserved variants or peptide fragments thereof. This can be accomplished, for example, by immunofluorescence techniques employing a fluorescently labeled antibody coupled with light microscopic, flow cytometric, or fluorimetric detection.

[518] In an additional preferred embodiment, antibodies, or fragments of antibodies directed to a conformational epitope of a B7-like polypeptide may be used to quantitatively or qualitatively detect the presence of B7-like gene products or conserved variants or peptide fragments thereof. This can be accomplished, for example, by immunofluorescence techniques employing a fluorescently labeled antibody coupled with light microscopic, flow cytometric, or fluorimetric detection.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[519] The antibodies (or fragments thereof), and/or B7-like polypeptides of the present invention may, additionally, be employed histologically, as in immunofluorescence, immunoelectron microscopy or non-immunological assays, for in situ detection of B7-like gene products or conserved variants or peptide fragments thereof. In situ detection may be accomplished by removing a histological specimen from a patient, and applying thereto a labeled antibody or B7-like polypeptide of the present invention. The antibody (or fragment thereof) or B7-like polypeptide is preferably applied by overlaying the labeled antibody (or fragment) onto a biological sample. Through the use of such a procedure, it is possible to determine not only the presence of the B7-like gene product, or conserved variants or peptide fragments, or B7-like polypeptide binding, but also its distribution in the examined tissue. Using the present invention, those of ordinary skill will readily perceive that any of a wide variety of histological methods (such as staining procedures) can be modified in order to achieve such in situ detection.

[520] Immunoassays and non-immunoassays for B7-like gene products or conserved variants or peptide fragments thereof will typically comprise incubating a sample, such as a biological fluid, a tissue extract, freshly harvested cells, or lysates of cells which have been incubated in cell culture, in the presence of a detectably labeled antibody capable of binding B7-like gene products or conserved variants or peptide fragments thereof, and detecting the bound antibody by any of a number of techniques well-known in the art.

[521] The biological sample may be brought in contact with and immobilized onto a solid phase support or carrier such as nitrocellulose, or other solid support which is capable of immobilizing cells, cell particles or soluble proteins. The support may then be washed with suitable buffers followed by treatment with the detectably labeled anti-B7-like polypeptide antibody or detectable B7-like polypeptide. The solid phase support may then be washed with the buffer a second time to remove unbound antibody or polypeptide. Optionally the antibody is subsequently labeled. The amount of bound label on solid support may then be detected by conventional means.

[522] By "solid phase support or carrier" is intended any support capable of binding an antigen or an antibody. Well-known supports or carriers include glass, polystyrene, polypropylene, polyethylene, dextran, nylon, amyloses, natural and modified celluloses, polyacrylamides, gabbros, and magnetic. The nature of the carrier can be either soluble to some extent or insoluble for the purposes of the present invention. The support material may

WO 02/02587

PCT/US01/20917

have virtually any possible structural configuration so long as the coupled molecule is capable of binding to an antigen or antibody. Thus, the support configuration may be spherical, as in a bead, or cylindrical, as in the inside surface of a test tube, or the external surface of a rod. Alternatively, the surface may be flat such as a sheet, test strip, etc. Preferred supports include polystyrene beads. Those skilled in the art will know many other suitable carriers for binding antibody or antigen, or will be able to ascertain the same by use of routine experimentation.

[523] The binding activity of a given lot of anti-B7-like polypeptide antibody or B7-like antigen polypeptide may be determined according to well known methods. Those skilled in the art will be able to determine operative and optimal assay conditions for each determination by employing routine experimentation.

[524] In addition to assaying B7-like polypeptide levels or polynucleotide levels in a biological sample obtained from an individual, B7-like polypeptide or polynucleotide can also be detected *in vivo* by imaging. For example, in one embodiment of the invention, B7-like polypeptide and/or anti-B7-like antigen antibodies are used to image diseased cells, such as neoplasms. In another embodiment, B7-like polynucleotides of the invention (e.g., polynucleotides complementary to all or a portion of a particular B7-like mRNA transcript) and/or anti-B7-like antibodies (e.g., antibodies directed to any one or a combination of the epitopes of a B7-like polypeptide of the invention, antibodies directed to a conformational epitope of a B7-like polypeptide of the invention, or antibodies directed to the full length polypeptide expressed on the cell surface of a mammalian cell) are used to image diseased or neoplastic cells.

[525] Antibody labels or markers for *in vivo* imaging of B7-like polypeptides include those detectable by X-radiography, NMR, MRI, CAT-scans or ESR. For X-radiography, suitable labels include radioisotopes such as barium or cesium, which emit detectable radiation but are not overtly harmful to the subject. Suitable markers for NMR and ESR include those with a detectable characteristic spin, such as deuterium, which may be incorporated into the antibody by labeling of nutrients for the relevant hybridoma. Where *in vivo* imaging is used to detect enhanced levels of B7-like polypeptides for diagnosis in humans, it may be preferable to use human antibodies or "humanized" chimeric monoclonal antibodies. Such antibodies can be produced using techniques described herein or otherwise known in the art. For example methods for producing chimeric antibodies are known in the

WO 02/02587

PCT/US01/20917

art. See, for review, Morrison, *Science* 229:1202 (1985); Oi et al., *BioTechniques* 4:214 (1986); Cabilly et al., U.S. Patent No. 4,816,567; Taniguchi et al., EP 171496; Morrison et al., EP 173494; Neuberger et al., WO 8601533; Robinson et al., WO 8702671; Boulianne et al., *Nature* 312:643 (1984); Neuberger et al., *Nature* 314:268 (1985).

[526] Additionally, any B7-like polypeptides whose presence can be detected, can be administered. For example, B7-like polypeptides labeled with a radio-opaque or other appropriate compound can be administered and visualized *in vivo*, as discussed, above for labeled antibodies. Further such B7-like polypeptides can be utilized for *in vitro* diagnostic procedures.

[527] A B7-like polypeptide-specific antibody or antibody fragment which has been labeled with an appropriate detectable imaging moiety, such as a radioisotope (for example, ^{131}I , ^{112}In , $^{99\text{m}}\text{Tc}$), a radio-opaque substance, or a material detectable by nuclear magnetic resonance, is introduced (for example, parenterally, subcutaneously or intraperitoneally) into the mammal to be examined for a disorder. It will be understood in the art that the size of the subject and the imaging system used will determine the quantity of imaging moiety needed to produce diagnostic images. In the case of a radioisotope moiety, for a human subject, the quantity of radioactivity injected will normally range from about 5 to 20 millicuries of $^{99\text{m}}\text{Tc}$. The labeled antibody or antibody fragment will then preferentially accumulate at the location of cells which contain B7-like protein. *In vivo* tumor imaging is described in S.W. Burchiel et al., "Immunopharmacokinetics of Radiolabeled Antibodies and Their Fragments" (Chapter 13 in *Tumor Imaging: The Radiochemical Detection of Cancer*, S.W. Burchiel and B. A. Rhodes, eds., Masson Publishing Inc. (1982)).

[528] With respect to antibodies, one of the ways in which the anti-B7-like polypeptide antibody can be detectably labeled is by linking the same to a reporter enzyme and using the linked product in an enzyme immunoassay (EIA) (Voller, A., "The Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)", 1978, *Diagnostic Horizons* 2:1-7, Microbiological Associates Quarterly Publication, Walkersville, MD); Voller et al., *J. Clin. Pathol.* 31:507-520 (1978); Butler, J.E., *Meth. Enzymol.* 73:482-523 (1981); Maggio, E. (ed.), 1980, *Enzyme Immunoassay*, CRC Press, Boca Raton, FL.; Ishikawa, B. et al., (eds.), 1981, *Enzyme Immunoassay*, Kagaku Shoin, Tokyo). The reporter enzyme which is bound to the antibody will react with an appropriate substrate, preferably a chromogenic substrate, in such a manner as to produce a chemical moiety which can be detected, for example, by spectrophotometric,

WO 02/02587

PCT/US01/20917

fluorimetric or by visual means. Reporter enzymes which can be used to detectably label the antibody include, but are not limited to, malate dehydrogenase, staphylococcal nuclease, delta-5-steroid isomerase, yeast alcohol dehydrogenase, alpha-glycerophosphate dehydrogenase, triose phosphate isomerase, horseradish peroxidase, alkaline phosphatase, asparaginase, glucose oxidase, beta-galactosidase, ribonuclease, urease, catalase, glucose-6-phosphate dehydrogenase, glucoamylase and acetylcholinesterase. Additionally, the detection can be accomplished by colorimetric methods which employ a chromogenic substrate for the reporter enzyme. Detection may also be accomplished by visual comparison of the extent of enzymatic reaction of a substrate in comparison with similarly prepared standards.

[529] Detection may also be accomplished using any of a variety of other immunoassays. For example, by radioactively labeling the antibodies or antibody fragments, it is possible to detect E7-like polypeptides through the use of a radioimmunoassay (RIA) (see, for example, Weintraub, B., Principles of Radioimmunoassays, Seventh Training Course on Radioligand Assay Techniques, The Endocrine Society, March, 1986, which is incorporated by reference herein). The radioactive isotope can be detected by means including, but not limited to, a gamma counter, a scintillation counter, or autoradiography.

[530] It is also possible to label the antibody with a fluorescent compound. When the fluorescently labeled antibody is exposed to light of the proper wave length, its presence can then be detected due to fluorescence. Among the most commonly used fluorescent labeling compounds are fluorescein isothiocyanate, rhodamine, phycoerythrin, phycocyanin, allophycocyanin, ophthaldehyde and fluorescamine.

[531] The antibody can also be detectably labeled using fluorescence emitting metals such as ^{152}Eu , or others of the lanthanide series. These metals can be attached to the antibody using such metal chelating groups as diethylenetriaminepentaacetic acid (DTPA) or ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA).

[532] The antibody also can be detectably labeled by coupling it to a chemiluminescent compound. The presence of the chemiluminescent-tagged antibody is then determined by detecting the presence of luminescence that arises during the course of a chemical reaction. Examples of particularly useful chemiluminescent labeling compounds are luminol, isoluminol, tharomatic acridinium ester, imidazole, acridinium salt and oxalate ester.

[533] Likewise, a bioluminescent compound may be used to label the antibody of the

WO 02/02587

PCT/US01/20917

present invention. Bioluminescence is a type of chemiluminescence found in biological systems in which a catalytic protein increases the efficiency of the chemiluminescent reaction. The presence of a bioluminescent protein is determined by detecting the presence of luminescence. Important bioluminescent compounds for purposes of labeling are luciferin, luciferase and aquorin.

Methods for Detecting Diseases

[534] In general, a disease may be detected in a patient based on the presence of one or more B7-like proteins of the invention and/or polynucleotides encoding such proteins in a biological sample (for example, blood, sera, urine, and/or tumor biopsies) obtained from the patient. In other words, such proteins may be used as markers to indicate the presence or absence of a disease or disorder, including cancer and/or as described elsewhere herein. In addition, such proteins may be useful for the detection of other diseases and cancers. The binding agents provided herein generally permit detection of the level of antigen that binds to the agent in the biological sample. Polynucleotide primers and probes may be used to detect the level of mRNA encoding B7-like polypeptides, which is also indicative of the presence or absence of a disease or disorder, including cancer. In general, B7-like polypeptides should be present at a level that is at least three fold higher in diseased tissue than in normal tissue.

[535] There are a variety of assay formats known to those of ordinary skill in the art for using a binding agent to detect polypeptide markers in a sample. See, e.g., Harlow and Lane, *supra*. In general, the presence or absence of a disease in a patient may be determined by (a) contacting a biological sample obtained from a patient with a binding agent; (b) detecting in the sample a level of polypeptide that binds to the binding agent; and (c) comparing the level of polypeptide with a predetermined cut-off value.

[536] In a preferred embodiment, the assay involves the use of a binding agent(s) immobilized on a solid support to bind to and remove the B7-like polypeptide of the invention from the remainder of the sample. The bound polypeptide may then be detected using a detection reagent that contains a reporter group and specifically binds to the binding agent/polypeptide complex. Such detection reagents may comprise, for example, a binding agent that specifically binds to the polypeptide or an antibody or other agent that specifically binds to the binding agent, such as an anti-immunoglobulin, protein C, protein A or a lectin. Alternatively, a competitive assay may be utilized, in which a polypeptide is labeled with a

WO 02/02587

PCT/US01/20917

reporter group and allowed to bind to the immobilized binding agent after incubation of the binding agent with the sample. The extent to which components of the sample inhibit the binding of the labeled polypeptide to the binding agent is indicative of the reactivity of the sample with the immobilized binding agent. Suitable polypeptides for use within such assays include B7-like polypeptides and portions thereof, or antibodies, to which the binding agent binds, as described above.

[537] The solid support may be any material known to those of skill in the art to which B7-like polypeptides of the invention may be attached. For example, the solid support may be a test well in a microtiter plate or a nitrocellulose or other suitable membrane. Alternatively, the support may be a bead or disc, such as glass fiberglass, latex or a plastic material such as polystyrene or polyvinylchloride. The support may also be a magnetic particle or a fiber optic sensor, such as those disclosed, for example, in U.S. Patent No. 5,359,681. The binding agent may be immobilized on the solid support using a variety of techniques known to those of skill in the art, which are amply described in the patent and scientific literature. In the context of the present invention, the term "immobilization" refers to both noncovalent association, such as adsorption, and covalent attachment (which may be a direct linkage between the agent and functional groups on the support or may be a linkage by way of a cross-linking agent). Immobilization by adsorption to a well in a microtiter plate or to a membrane is preferred. In such cases, adsorption may be achieved by contacting the binding agent, in a suitable buffer, with the solid support for the suitable amount of time. The contact time varies with temperature, but is typically between about 1 hour and about 1 day. In general, contacting a well of plastic microtiter plate (such as polystyrene or polyvinylchloride) with an amount of binding agent ranging from about 10 ng to about 10 µg, and preferably about 100 ng to about 1 µg, is sufficient to immobilize an adequate amount of binding agent.

[538] Covalent attachment of binding agent to a solid support may generally be achieved by first reacting the support with a bifunctional reagent that will react with both the support and a functional group, such as a hydroxyl or amino group, on the binding agent. For example, the binding agent may be covalently attached to supports having an appropriate polymer coating using benzoquinone or by condensation of an aldehyde group on the support with an amine and an active hydrogen on the binding partner (see, e.g., Pierce Immunotechnology Catalog and Handbook, 1991, at A12-A13).

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Gene Therapy Methods

[539] Another aspect of the present invention is to gene therapy methods for treating or preventing disorders, diseases and conditions. The gene therapy methods relate to the introduction of nucleic acid (DNA, RNA and antisense DNA or RNA) sequences into an animal to achieve expression of the polypeptide of the present invention. This method requires a polynucleotide which codes for a polypeptide of the present invention operatively linked to a promoter and any other genetic elements necessary for the expression of the polypeptide by the target tissue. Such gene therapy and delivery techniques are known in the art, see, for example, WO90/11092, which is herein incorporated by reference.

[540] Thus, for example, cells from a patient may be engineered with a polynucleotide (DNA or RNA) comprising a promoter operably linked to a polynucleotide of the present invention *ex vivo*, with the engineered cells then being provided to a patient to be treated with the polypeptide of the present invention. Such methods are well-known in the art. For example, see Belldegrun, A., et al., *J. Natl. Cancer Inst.* 85: 207-216 (1993); Ferrantini, M. et al., *Cancer Research* 53: 1107-1112 (1993); Ferrantini, M. et al., *J. Immunology* 153: 4604-4615 (1994); Kaido, T., et al., *Int. J. Cancer* 60: 221-229 (1995); Ogura, H., et al., *Cancer Research* 50: 5102-5106 (1990); Santodonato, L., et al., *Human Gene Therapy* 7:1-10 (1996); Santodonato, L., et al., *Gene Therapy* 4:1246-1255 (1997); and Zhang, J.-F. et al., *Cancer Gene Therapy* 3: 31-38 (1996)), which are herein incorporated by reference. In one embodiment, the cells which are engineered are arterial cells. The arterial cells may be reintroduced into the patient through direct injection to the artery, the tissues surrounding the artery, or through catheter injection.

[541] As discussed in more detail below, the polynucleotide constructs can be delivered by any method that delivers injectable materials to the cells of an animal, such as, injection into the interstitial space of tissues (heart, muscle, skin, lung, liver, and the like). The polynucleotide constructs may be delivered in a pharmaceutically acceptable liquid or aqueous carrier.

[542] In one embodiment, the polynucleotide of the present invention is delivered as a naked polynucleotide. The term "naked" polynucleotide, DNA or RNA refers to sequences that are free from any delivery vehicle that acts to assist, promote or facilitate entry into the cell, including viral sequences, viral particles, liposome formulations, lipofectin or precipitating agents and the like. However, the polynucleotide of the present invention can

WO 02/02587

PCT/US01/20917

also be delivered in liposome formulations and lipofectin formulations and the like can be prepared by methods well known to those skilled in the art. Such methods are described, for example, in U.S. Patent Nos. 5,593,972, 5,589,466, and 5,580,859, which are herein incorporated by reference.

[543] The polynucleotide vector constructs used in the gene therapy method are preferably constructs that will not integrate into the host genome nor will they contain sequences that allow for replication. Appropriate vectors include pWLNEQ, pSV2CAT, pOG44, pXT1 and pSG available from Stratagene; pSVK3, pBPV, pMSG and pSVL available from Pharmacia; and pEF1/V5, pcDNA3.1, and pRc/CMV2 available from Invitrogen. Other suitable vectors will be readily apparent to the skilled artisan.

[544] Any strong promoter known to those skilled in the art can be used for driving the expression of the polynucleotide sequence. Suitable promoters include adenoviral promoters, such as the adenoviral major late promoter; or heterologous promoters, such as the cytomegalovirus (CMV) promoter; the respiratory syncytial virus (RSV) promoter; inducible promoters, such as the MMT promoter, the metallothionein promoter; heat shock promoters; the albumin promoter; the ApoA1 promoter; human globin promoters; viral thymidine kinase promoters, such as the Herpes Simplex thymidine kinase promoter; retroviral LTRs; the β -actin promoter; and human growth hormone promoters. The promoter also may be the native promoter for the polynucleotide of the present invention.

[545] Unlike other gene therapy techniques, one major advantage of introducing naked nucleic acid sequences into target cells is the transitory nature of the polynucleotide synthesis in the cells. Studies have shown that non-replicating DNA sequences can be introduced into cells to provide production of the desired polypeptide for periods of up to six months.

[546] The polynucleotide construct can be delivered to the interstitial space of tissues within the an animal, including of muscle, skin, brain, lung, liver, spleen, bone marrow, thymus, heart, lymph, blood, bone, cartilage, pancreas, kidney, gall bladder, stomach, intestine, testis, ovary, uterus, rectum, nervous system, eye, gland, and connective tissue. Interstitial space of the tissues comprises the intercellular, fluid, mucopolysaccharide matrix among the reticular fibers of organ tissues, elastic fibers in the walls of vessels or chambers, collagen fibers of fibrous tissues, or that same matrix within connective tissue ensheathing muscle cells or in the lacunae of bone. It is similarly the space occupied by the plasma of the circulation and the lymph fluid of the lymphatic channels. Delivery to the interstitial space of

WO 02/02587

PCT/US01/20917

muscle tissue is preferred for the reasons discussed below. They may be conveniently delivered by injection into the tissues comprising these cells. They are preferably delivered to and expressed in persistent, non-dividing cells which are differentiated, although delivery and expression may be achieved in non-differentiated or less completely differentiated cells, such as, for example, stem cells of blood or skin fibroblasts. In vivo muscle cells are particularly competent in their ability to take up and express polynucleotides.

[547] For the naked nucleic acid sequence injection, an effective dosage amount of DNA or RNA will be in the range of from about 0.05 mg/kg body weight to about 50 mg/kg body weight. Preferably the dosage will be from about 0.005 mg/kg to about 20 mg/kg and more preferably from about 0.05 mg/kg to about 5 mg/kg. Of course, as the artisan of ordinary skill will appreciate, this dosage will vary according to the tissue site of injection. The appropriate and effective dosage of nucleic acid sequence can readily be determined by those of ordinary skill in the art and may depend on the condition being treated and the route of administration.

[548] The preferred route of administration is by the parenteral route of injection into the interstitial space of tissues. However, other parenteral routes may also be used, such as, inhalation of an aerosol formulation particularly for delivery to lungs or bronchial tissues, throat or mucous membranes of the nose. In addition, naked DNA constructs can be delivered to arteries during angioplasty by the catheter used in the procedure.

[549] The naked polynucleotides are delivered by any method known in the art, including, but not limited to, direct needle injection at the delivery site, intravenous injection, topical administration, catheter infusion, and so-called "gene guns". These delivery methods are known in the art.

[550] The constructs may also be delivered with delivery vehicles such as viral sequences, viral particles, liposome formulations, lipofectin, precipitating agents, etc. Such methods of delivery are known in the art.

[551] In certain embodiments, the polynucleotide constructs are complexed in a liposome preparation. Liposomal preparations for use in the instant invention include cationic (positively charged), anionic (negatively charged) and neutral preparations. However, cationic liposomes are particularly preferred because a tight charge complex can be formed between the cationic liposome and the polyanionic nucleic acid. Cationic liposomes have been shown to mediate intracellular delivery of plasmid DNA (Felgner et al., Proc. Natl.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Acad. Sci. USA (1987) 84:7413-7416, which is herein incorporated by reference); mRNA (Malone et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1989) 86:6077-6081, which is herein incorporated by reference); and purified transcription factors (Debs et al., J. Biol. Chem. (1990) 265:10189-10192, which is herein incorporated by reference), in functional form.

[552] Cationic liposomes are readily available. For example, N[1-2,3-dioleoyloxy]propyl]-N,N,N-triethylammonium (DOTMA) liposomes are particularly useful and are available under the trademark Lipofectin, from GIBCO BRL, Grand Island, N.Y. (See, also, Felgner et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1987) 84:7413-7416, which is herein incorporated by reference). Other commercially available liposomes include transfectance (DDAB/DOPE) and DOTAP/DOPE (Boehringer).

[553] Other cationic liposomes can be prepared from readily available materials using techniques well known in the art. See, e.g. PCT Publication No. WO 90/11092 (which is herein incorporated by reference) for a description of the synthesis of DOTAP (1,2-bis(oleoyloxy)-3-(trimethylammonio)propane) liposomes. Preparation of DOTMA liposomes is explained in the literature, see, e.g., P. Felgner et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:7413-7417, which is herein incorporated by reference. Similar methods can be used to prepare liposomes from other cationic lipid materials.

[554] Similarly, anionic and neutral liposomes are readily available, such as from Avanti Polar Lipids (Birmingham, Ala.), or can be easily prepared using readily available materials. Such materials include phosphatidyl, choline, cholesterol, phosphatidyl ethanolamine, dioleoylphosphatidyl choline (DOPC), dioleoylphosphatidyl glycerol (DOPG), dioleoylphosphatidyl ethanolamine (DOPE), among others. These materials can also be mixed with the DOTMA and DOTAP starting materials in appropriate ratios. Methods for making liposomes using these materials are well known in the art.

[555] For example, commercially dioleoylphosphatidyl choline (DOPC), dioleoylphosphatidyl glycerol (DOPG), and dioleoylphosphatidyl ethanolamine (DOPE) can be used in various combinations to make conventional liposomes, with or without the addition of cholesterol. Thus, for example, DOPG/DOPC vesicles can be prepared by drying 50 mg each of DOPG and DOPC under a stream of nitrogen gas into a sonication vial. The sample is placed under a vacuum pump overnight and is hydrated the following day with deionized water. The sample is then sonicated for 2 hours in a capped vial, using a Heat Systems model 350 sonicator equipped with an inverted cup (bath type) probe at the

WO 02/02587

PCT/US01/20917

maximum setting while the bath is circulated at 15EC. Alternatively, negatively charged vesicles can be prepared without sonication to produce multilamellar vesicles or by extrusion through nucleopore membranes to produce unilamellar vesicles of discrete size. Other methods are known and available to those of skill in the art.

[556] The liposomes can comprise multilamellar vesicles (MLVs), small unilamellar vesicles (SUVs), or large unilamellar vesicles (LUVs), with SUVs being preferred. The various liposome-nucleic acid complexes are prepared using methods well known in the art. See, e.g., Straubinger et al., *Methods of Immunology* (1983), 101:512-527, which is herein incorporated by reference. For example, MLVs containing nucleic acid can be prepared by depositing a thin film of phospholipid on the walls of a glass tube and subsequently hydrating with a solution of the material to be encapsulated. SUVs are prepared by extended sonication of MLVs to produce a homogeneous population of unilamellar liposomes. The material to be entrapped is added to a suspension of preformed MLVs and then sonicated. When using liposomes containing cationic lipids, the dried lipid film is resuspended in an appropriate solution such as sterile water or an isotonic buffer solution such as 10 mM Tris/NaCl, sonicated, and then the preformed liposomes are mixed directly with the DNA. The liposome and DNA form a very stable complex due to binding of the positively charged liposomes to the cationic DNA. SUVs find use with small nucleic acid fragments. LUVs are prepared by a number of methods, well known in the art. Commonly used methods include Ca^{2+} -EDTA chelation (Papahadjopoulos et al., *Biochim. Biophys. Acta* (1975) 394:483; Wilson et al., *Cell* (1979) 17:77); ether injection (Deamer, D. and Bangham, A., *Biochim. Biophys. Acta* (1976) 443:629; Ostro et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* (1977) 76:836; Fraley et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1979) 76:3348); detergent dialysis (Enoch, H. and Strittmatter, P., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1979) 76:145); and reverse-phase evaporation (REV) (Fraley et al., *J. Biol. Chem.* (1980) 255:10431; Szoka, F. and Papahadjopoulos, D., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1978) 75:145; Schaefer-Ridder et al., *Science* (1982) 215:166), which are herein incorporated by reference.

[557] Generally, the ratio of DNA to liposomes will be from about 10:1 to about 1:10. Preferably, the ration will be from about 5:1 to about 1:5. More preferably, the ration will be about 3:1 to about 1:3. Still more preferably, the ratio will be about 1:1.

[558] U.S. Patent No. 5,676,954 (which is herein incorporated by reference) reports on the injection of genetic material, complexed with cationic liposomes carriers, into mice. U.S.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Patent Nos. 4,897,355, 4,946,787, 5,049,386, 5,459,127, 5,589,466, 5,693,622, 5,580,859, 5,703,055, and international publication no. WO 94/9469 (which are herein incorporated by reference) provide cationic lipids for use in transfecting DNA into cells and mammals. U.S. Patent Nos. 5,589,466, 5,693,622, 5,580,859, 5,703,055, and international publication no. WO 94/9469 (which are herein incorporated by reference) provide methods for delivering DNA-cationic lipid complexes to mammals.

[559] In certain embodiments, cells are engineered, *ex vivo* or *in vivo*, using a retroviral particle containing RNA which comprises a sequence encoding a polypeptide of the present invention. Retroviruses from which the retroviral plasmid vectors may be derived include, but are not limited to, Moloney Murine Leukemia Virus, spleen necrosis virus, Rous sarcoma Virus, Harvey Sarcoma Virus, avian leukosis virus, gibbon ape leukemia virus, human immunodeficiency virus, Myeloproliferative Sarcoma Virus, and mammary tumor virus.

[560] The retroviral plasmid vector is employed to transduce packaging cell lines to form producer cell lines. Examples of packaging cells which may be transfected include, but are not limited to, the PE501, PA317, R-2, R-AM, PA12, T19-14X, VT-19-17-H2, RCRE, RCRIP, GP+E-86, GP+envAm12, and DAN cell lines as described in Miller, Human Gene Therapy 1:5-14 (1990), which is incorporated herein by reference in its entirety. The vector may transduce the packaging cells through any means known in the art. Such means include, but are not limited to, electroporation, the use of liposomes, and CaPO₄ precipitation. In one alternative, the retroviral plasmid vector may be encapsulated into a liposome, or coupled to a lipid, and then administered to a host.

[561] The producer cell line generates infectious retroviral vector particles which include polynucleotide encoding a polypeptide of the present invention. Such retroviral vector particles then may be employed, to transduce eukaryotic cells, either *in vitro* or *in vivo*. The transduced eukaryotic cells will express a polypeptide of the present invention.

[562] In certain other embodiments, cells are engineered, *ex vivo* or *in vivo*, with polynucleotide contained in an adenovirus vector. Adenovirus can be manipulated such that it encodes and expresses a polypeptide of the present invention, and at the same time is inactivated in terms of its ability to replicate in a normal lytic viral life cycle. Adenovirus expression is achieved without integration of the viral DNA into the host cell chromosome, thereby alleviating concerns about insertional mutagenesis. Furthermore, adenoviruses have been used as live enteric vaccines for many years with an excellent safety profile (Schwartz,

WO 02/02587

PCT/US01/20917

A. R. et al. (1974) *Am. Rev. Respir. Dis.* 109:233-238). Finally, adenovirus mediated gene transfer has been demonstrated in a number of instances including transfer of alpha-1-antitrypsin and CFTR to the lungs of cotton rats (Rosenfeld, M. A. et al. (1991) *Science* 252:431-434; Rosenfeld et al., (1992) *Cell* 68:143-155). Furthermore, extensive studies to attempt to establish adenovirus as a causative agent in human cancer were uniformly negative (Green, M. et al. (1979) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76:6606).

[563] Suitable adenoviral vectors useful in the present invention are described, for example, in Kozarsky and Wilson, *Curr. Opin. Genet. Devel.* 3:499-503 (1993); Rosenfeld et al., *Cell* 68:143-155 (1992); Engelhardt et al., *Human Genet. Ther.* 4:759-769 (1993); Yang et al., *Nature Genet.* 7:362-369 (1994); Wilson et al., *Nature* 365:691-692 (1993); and U.S. Patent No. 5,652,224, which are herein incorporated by reference. For example, the adenovirus vector Ad2 is useful and can be grown in human 293 cells. These cells contain the E1 region of adenovirus and constitutively express E1a and E1b, which complement the defective adenoviruses by providing the products of the genes deleted from the vector. In addition to Ad2, other varieties of adenovirus (e.g., Ad3, Ad5, and Ad7) are also useful in the present invention.

[564] Preferably, the adenoviruses used in the present invention are replication deficient. Replication deficient adenoviruses require the aid of a helper virus and/or packaging cell line to form infectious particles. The resulting virus is capable of infecting cells and can express a polynucleotide of interest which is operably linked to a promoter, but cannot replicate in most cells. Replication deficient adenoviruses may be deleted in one or more of all or a portion of the following genes: E1a, E1b, E3, E4, E2a, or L1 through L5.

[565] In certain other embodiments, the cells are engineered, ex vivo or in vivo, using an adeno-associated virus (AAV). AAVs are naturally occurring defective viruses that require helper viruses to produce infectious particles (Muzyczka, N., *Curr. Topics in Microbiol. Immunol.* 158:97 (1992)). It is also one of the few viruses that may integrate its DNA into non-dividing cells. Vectors containing as little as 300 base pairs of AAV can be packaged and can integrate, but space for exogenous DNA is limited to about 4.5 kb. Methods for producing and using such AAVs are known in the art. See, for example, U.S. Patent Nos. 5,139,941, 5,173,414, 5,354,678, 5,436,146, 5,474,935, 5,478,745, and 5,589,377.

[566] For example, an appropriate AAV vector for use in the present invention will include all the sequences necessary for DNA replication, encapsidation, and host-cell

WO 02/02587

PCT/US01/20917

integration. The polynucleotide construct is inserted into the AAV vector using standard cloning methods, such as those found in Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press (1989). The recombinant AAV vector is then transfected into packaging cells which are infected with a helper virus, using any standard technique, including lipofection, electroporation, calcium phosphate precipitation, etc. Appropriate helper viruses include adenoviruses, cytomegaloviruses, vaccinia viruses, or herpes viruses. Once the packaging cells are transfected and infected, they will produce infectious AAV viral particles which contain the polynucleotide construct. These viral particles are then used to transduce eukaryotic cells, either ex vivo or in vivo. The transduced cells will contain the polynucleotide construct integrated into its genome, and will express a polypeptide of the invention.

[567] Another method of gene therapy involves operably associating heterologous control regions and endogenous polynucleotide sequences (e.g. encoding a polypeptide of the present invention) via homologous recombination (see, e.g., U.S. Patent No. 5,641,670, issued June 24, 1997; International Publication No. WO 96/29411, published September 26, 1996; International Publication No. WO 94/12650, published August 4, 1994; Koller et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:8932-8935 (1989); and Zijlstra et al., *Nature* 342:435-438 (1989). This method involves the activation of a gene which is present in the target cells, but which is not normally expressed in the cells, or is expressed at a lower level than desired.

[568] Polynucleotide constructs are made, using standard techniques known in the art, which contain the promoter with targeting sequences flanking the promoter. Suitable promoters are described herein. The targeting sequence is sufficiently complementary to an endogenous sequence to permit homologous recombination of the promoter-targeting sequence with the endogenous sequence. The targeting sequence will be sufficiently near the 5' end of the desired endogenous polynucleotide sequence so the promoter will be operably linked to the endogenous sequence upon homologous recombination.

[569] The promoter and the targeting sequences can be amplified using PCR. Preferably, the amplified promoter contains distinct restriction enzyme sites on the 5' and 3' ends. Preferably, the 3' end of the first targeting sequence contains the same restriction enzyme site as the 5' end of the amplified promoter and the 5' end of the second targeting sequence contains the same restriction site as the 3' end of the amplified promoter. The amplified promoter and targeting sequences are digested and ligated together.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[570] The promoter-targeting sequence construct is delivered to the cells, either as naked polynucleotide, or in conjunction with transfection-facilitating agents, such as liposomes, viral sequences, viral particles, whole viruses, lipofection, precipitating agents, etc., described in more detail above. The P promoter-targeting sequence can be delivered by any method, including direct needle injection, intravenous injection, topical administration, catheter infusion, particle accelerators, etc. The methods are described in more detail below.

[571] The promoter-targeting sequence construct is taken up by cells. Homologous recombination between the construct and the endogenous sequence takes place, such that an endogenous sequence is placed under the control of the promoter. The promoter then drives the expression of the endogenous sequence.

[572] Preferably, the polynucleotide encoding a polypeptide of the present invention contains a secretory signal sequence that facilitates secretion of the protein. Typically, the signal sequence is positioned in the coding region of the polynucleotide to be expressed towards or at the 5' end of the coding region. The signal sequence may be homologous or heterologous to the polynucleotide of interest and may be homologous or heterologous to the cells to be transfected. Additionally, the signal sequence may be chemically synthesized using methods known in the art.

[573] Any mode of administration of any of the above-described polynucleotides constructs can be used so long as the mode results in the expression of one or more molecules in an amount sufficient to provide a therapeutic effect. This includes direct needle injection, systemic injection, catheter infusion, biolistic injectors, particle accelerators (i.e., "gene guns"), gelfoam sponge depots, other commercially available depot materials, osmotic pumps (e.g., Alza minipumps), oral or suppository solid (tablet or pill) pharmaceutical formulations, and decanting or topical applications during surgery. For example, direct injection of naked calcium phosphate-precipitated plasmid into rat liver and rat spleen or a protein-coated plasmid into the portal vein has resulted in gene expression of the foreign gene in the rat livers (Kaneda et al., *Science* 243:375 (1989)).

[574] A preferred method of local administration is by direct injection. Preferably, a recombinant molecule of the present invention complexed with a delivery vehicle is administered by direct injection into or locally within the area of arteries. Administration of a composition locally within the area of arteries refers to injecting the composition centimeters and preferably, millimeters within arteries.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[575] Another method of local administration is to contact a polynucleotide construct of the present invention in or around a surgical wound. For example, a patient can undergo surgery and the polynucleotide construct can be coated on the surface of tissue inside the wound or the construct can be injected into areas of tissue inside the wound.

[576] Therapeutic compositions useful in systemic administration, include recombinant molecules of the present invention complexed to a targeted delivery vehicle of the present invention. Suitable delivery vehicles for use with systemic administration comprise liposomes comprising ligands for targeting the vehicle to a particular site.

[577] Preferred methods of systemic administration, include intravenous injection, aerosol, oral and percutaneous (topical) delivery. Intravenous injections can be performed using methods standard in the art. Aerosol delivery can also be performed using methods standard in the art (see, for example, Stribling et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 189:11277-11281, 1992, which is incorporated herein by reference). Oral delivery can be performed by complexing a polynucleotide construct of the present invention to a carrier capable of withstanding degradation by digestive enzymes in the gut of an animal. Examples of such carriers, include plastic capsules or tablets, such as those known in the art. Topical delivery can be performed by mixing a polynucleotide construct of the present invention with a lipophilic reagent (e.g., DMSO) that is capable of passing into the skin.

[578] Determining an effective amount of substance to be delivered can depend upon a number of factors including, for example, the chemical structure and biological activity of the substance, the age and weight of the animal, the precise condition requiring treatment and its severity, and the route of administration. The frequency of treatments depends upon a number of factors, such as the amount of polynucleotide constructs administered per dose, as well as the health and history of the subject. The precise amount, number of doses, and timing of doses will be determined by the attending physician or veterinarian.

[579] Therapeutic compositions of the present invention can be administered to any animal, preferably to mammals and birds. Preferred mammals include humans, dogs, cats, mice, rats, rabbits, sheep, cattle, horses and pigs, with humans being particularly preferred.

Biological Activities

[580] Polynucleotides or polypeptides, or agonists or antagonists of the present invention, can be used in assays to test for one or more biological activities. If these

WO 02/02587

PCT/US01/20917

polynucleotides or polypeptides, or agonists or antagonists of the present invention, do exhibit activity in a particular assay, it is likely that these molecules may be involved in the diseases associated with the biological activity. Thus, the polynucleotides and polypeptides, and agonists or antagonists could be used to treat the associated disease.

[581] Members of the B7-like family of proteins are believed to be involved in biological activities associated with T cell activation, cytokine production, T cell proliferation, and immune system and inflammatory disorders. Accordingly, compositions of the invention (including polynucleotides, polypeptides and antibodies of the invention, and fragments and variants thereof) may be used in the diagnosis, detection and/or treatment of diseases and/or disorders associated with aberrant B7-like activities.

[582] In preferred embodiments, compositions of the invention (including polynucleotides, polypeptides and antibodies of the invention, and fragments and variants thereof) may be used in the diagnosis, detection and/or treatment of diseases and/or disorders relating to the immune system in general, and T cell activation specifically (e.g., cytokine production, inflammation, T cell proliferation and T cell proliferative disorders, and/or as described under "Immune Activity", "Hyperproliferative Disorders" and "Diseases at the Cellular Level" below). Thus, polynucleotides, translation products and antibodies of the invention are useful in the diagnosis, detection and/or treatment of diseases and/or disorders associated with activities that include, but are not limited to, T cell activation, cytokine production, T cell proliferation, T cell proliferative disorders, inflammation, and immune system disorders.

[583] In certain embodiments, a polypeptide of the invention, or polynucleotides, antibodies, agonists, or antagonists corresponding to that polypeptide, may be used to diagnose and/or prognose diseases and/or disorders associated with the tissue(s) in which the polypeptide of the invention is expressed, including the tissues disclosed in "Polynucleotides and Polypeptides of the Invention", and/or one, two, three, four, five, or more tissues disclosed in Table 10, column 2 (Library Code).

[584] Thus, polynucleotides, translation products and antibodies of the invention are useful in the diagnosis, detection and/or treatment of diseases and/or disorders associated with activities that include, but are not limited to, HIV-induced dementia, arrhythmias, high blood pressure, muscular contractile dysfunction, pace-maker dysfunction, disorders of proper neurotransmitter release, epilepsy, stroke, and/or hormone secretion disorders.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[585] More generally, polynucleotides, translation products and antibodies corresponding to this gene may be useful for the diagnosis, detection and/or treatment of diseases and/or disorders associated with the following systems.

Immune Activity

[586] Polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention may be useful in treating, preventing, diagnosing and/or prognosing diseases, disorders, and/or conditions of the immune system, by, for example, activating or inhibiting the proliferation, differentiation, or mobilization (chemotaxis) of immune cells. Immune cells develop through a process called hematopoiesis, producing myeloid (platelets, red blood cells, neutrophils, and macrophages) and lymphoid (B and T lymphocytes) cells from pluripotent stem cells. The etiology of these immune diseases, disorders, and/or conditions may be genetic, somatic, such as cancer and some autoimmune diseases, acquired (e.g., by chemotherapy or toxins), or infectious. Moreover, polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention can be used as a marker or detector of a particular immune system disease or disorder.

[587] In another embodiment, a polypeptide of the invention, or polynucleotides, antibodies, agonists, or antagonists corresponding to that polypeptide, may be used to treat diseases and disorders of the immune system and/or to inhibit or enhance an immune response generated by cells associated with the tissue(s) in which the polypeptide of the invention is expressed, including one, two, three, four, five, or more tissues disclosed in Table 10, column 2 (Library Code).

[588] Polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention may be useful in treating, preventing, diagnosing, and/or prognosing immunodeficiencies, including both congenital and acquired immunodeficiencies. Examples of B cell immunodeficiencies in which immunoglobulin levels B cell function and/or B cell numbers are decreased include: X-linked agammaglobulinemia (Bruton's disease), X-linked infantile agammaglobulinemia, X-linked immunodeficiency with hyper IgM, non X-linked immunodeficiency with hyper IgM, X-linked lymphoproliferative syndrome (XLP), agammaglobulinemia including congenital and acquired agammaglobulinemia, adult onset agammaglobulinemia, late-onset agammaglobulinemia, dysgammaglobulinemia, hypogammaglobulinemia, unspecified hypogammaglobulinemia, recessive

WO 02/02587

PCT/US01/20917

agammaglobulinemia (Swiss type), Selective IgM deficiency, selective IgA deficiency, selective IgG subclass deficiencies, IgG subclass deficiency (with or without IgA deficiency), Ig deficiency with increased IgM, IgG and IgA deficiency with increased IgM, antibody deficiency with normal or elevated Igs, Ig heavy chain deletions, kappa chain deficiency, B cell lymphoproliferative disorder (BLPD), common variable immunodeficiency (CVID), common variable immunodeficiency (CVI) (acquired), and transient hypogammaglobulinemia of infancy.

[589] In specific embodiments, ataxia-telangiectasia or conditions associated with ataxia-telangiectasia are treated, prevented, diagnosed, and/or prognosing using the polypeptides or polynucleotides of the invention, and/or agonists or antagonists thereof.

[590] Examples of congenital immunodeficiencies in which T cell and/or B cell function and/or number is decreased include, but are not limited to: DiGeorge anomaly, severe combined immunodeficiencies (SCID) (including, but not limited to, X-linked SCID, autosomal recessive SCID, adenosine deaminase deficiency, purine nucleoside phosphorylase (PNP) deficiency, Class II MHC deficiency (Bare lymphocyte syndrome), Wiskott-Aldrich syndrome, and ataxia telangiectasia), thymic hypoplasia, third and fourth pharyngeal pouch syndrome, 22q11.2 deletion, chronic mucocutaneous candidiasis, natural killer cell deficiency (NK), idiopathic CD4+ T-lymphocytopenia, immunodeficiency with predominant T cell defect (unspecified), and unspecified immunodeficiency of cell mediated immunity.

[591] In specific embodiments, DiGeorge anomaly or conditions associated with DiGeorge anomaly are treated, prevented, diagnosed, and/or prognosed using polypeptides or polynucleotides of the invention, or antagonists or agonists thereof.

[592] Other immunodeficiencies that may be treated, prevented, diagnosed, and/or prognosed using polypeptides or polynucleotides of the invention, and/or agonists or antagonists thereof, include, but are not limited to, chronic granulomatous disease, Chédiak-Higashi syndrome, myeloperoxidase deficiency, leukocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency, X-linked lymphoproliferative syndrome (XLP), leukocyte adhesion deficiency, complement component deficiencies (including C1, C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8 and/or C9 deficiencies), reticular dysgenesis, thymic aplasia-aplasia, immunodeficiency with thymoma, severe congenital leukopenia, dysplasia with immunodeficiency, neonatal neutropenia, short limbed dwarfism, and Nezelof syndrome-combined immunodeficiency with Igs.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[593] In a preferred embodiment, the immunodeficiencies and/or conditions associated with the immunodeficiencies recited above are treated, prevented, diagnosed and/or prognosed using polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention.

[594] In a preferred embodiment polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention could be used as an agent to boost immunoresponsiveness among immunodeficient individuals. In specific embodiments, polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention could be used as an agent to boost immunoresponsiveness among B cell and/or T cell immunodeficient individuals.

[595] The polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention may be useful in treating, preventing, diagnosing and/or prognosing autoimmune disorders. Many autoimmune disorders result from inappropriate recognition of self as foreign material by immune cells. This inappropriate recognition results in an immune response leading to the destruction of the host tissue. Therefore, the administration of polynucleotides and polypeptides of the invention that can inhibit an immune response, particularly the proliferation, differentiation, or chemotaxis of T-cells, may be an effective therapy in preventing autoimmune disorders.

[596] Autoimmune diseases or disorders that may be treated, prevented, diagnosed and/or prognosed by polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention include, but are not limited to, one or more of the following: systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis, ankylosing spondylitis, multiple sclerosis, autoimmune thyroiditis, Hashimoto's thyroiditis, autoimmune hemolytic anemia, hemolytic anemia, thrombocytopenia, autoimmune thrombocytopenia purpura, autoimmune neonatal thrombocytopenia, idiopathic thrombocytopenia purpura, purpura (e.g., Henoch-Schoenlein purpura), autoimmune neutropenia, Goodpasture's syndrome, Pemphigus vulgaris, myasthenia gravis, Grave's disease (hyperthyroidism), and insulin-resistant diabetes mellitus.

[597] Additional disorders that are likely to have an autoimmune component that may be treated, prevented, and/or diagnosed with the compositions of the invention include, but are not limited to, type II collagen-induced arthritis, antiphospholipid syndrome, dermatitis, allergic encephalomyelitis, myocarditis, relapsing polychondritis, rheumatic heart disease, neuritis, uveitis ophthalmia, polyendocrinopathies, Reiter's Disease, Stiff-Man Syndrome,

WO 02/02587

PCT/US01/20917

autoimmune pulmonary inflammation, autism, Guillain-Barre Syndrome, insulin dependent diabetes mellitus, and autoimmune inflammatory eye disorders.

[598] Additional disorders that are likely to have an autoimmune component that may be treated, prevented, diagnosed and/or prognosed with the compositions of the invention include, but are not limited to, scleroderma with anti-collagen antibodies (often characterized, e.g., by nucleolar and other nuclear antibodies), mixed connective tissue disease (often characterized, e.g., by antibodies to extractable nuclear antigens (e.g., ribonucleoprotein)), polymyositis (often characterized, e.g., by nonhistone ANA), pernicious anemia (often characterized, e.g., by antiparietal cell, microsomes, and intrinsic factor antibodies), idiopathic Addison's disease (often characterized, e.g., by humoral and cell-mediated adrenal cytotoxicity), infertility (often characterized, e.g., by antispermatozoal antibodies), glomerulonephritis (often characterized, e.g., by glomerular basement membrane antibodies or immune complexes), bullous pemphigoid (often characterized, e.g., by IgG and complement in basement membrane), Sjogren's syndrome (often characterized, e.g., by multiple tissue antibodies, and/or a specific nonhistone ANA (SS-B)), diabetes mellitus (often characterized, e.g., by cell-mediated and humoral islet cell antibodies), and adrenergic drug resistance (including adrenergic drug resistance with asthma or cystic fibrosis) (often characterized, e.g., by beta-adrenergic receptor antibodies).

[599] Additional disorders that may have an autoimmune component that may be treated, prevented, diagnosed and/or prognosed with the compositions of the invention include, but are not limited to, chronic active hepatitis (often characterized, e.g., by smooth muscle antibodies), primary biliary cirrhosis (often characterized, e.g., by mitochondria antibodies), other endocrine gland failure (often characterized, e.g., by specific tissue antibodies in some cases), vitiligo (often characterized, e.g., by melanocyte antibodies), vasculitis (often characterized, e.g., by Ig and complement in vessel walls and/or low serum complement), post-MI (often characterized, e.g., by myocardial antibodies), cardiomy syndrome (often characterized, e.g., by myocardial antibodies), urticaria (often characterized, e.g., by IgG and IgM antibodies to IgE), atopic dermatitis (often characterized, e.g., by IgG and IgM antibodies to IgE), asthma (often characterized, e.g., by IgG and IgM antibodies to IgE), and many other inflammatory, granulomatous, degenerative, and atrophic disorders.

[600] In a preferred embodiment, the autoimmune diseases and disorders and/or conditions associated with the diseases and disorders recited above are treated, prevented,

WO 02/02587

PCT/US01/20917

diagnosed and/or prognosed using for example, antagonists or agonists, polypeptides or polynucleotides, or antibodies of the present invention. In a specific preferred embodiment, rheumatoid arthritis is treated, prevented, and/or diagnosed using polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention.

[601] In another specific preferred embodiment, systemic lupus erythematosus is treated, prevented, and/or diagnosed using polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention. In another specific preferred embodiment, idiopathic thrombocytopenia purpura is treated, prevented, and/or diagnosed using polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention.

[602] In another specific preferred embodiment IgA nephropathy is treated, prevented, and/or diagnosed using polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention.

[603] In a preferred embodiment, the autoimmune diseases and disorders and/or conditions associated with the diseases and disorders recited above are treated, prevented, diagnosed and/or prognosed using polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention.

[604] In preferred embodiments, polypeptides, antibodies, polynucleotides and/or agonists or antagonists of the present invention are used as an immunosuppressive agent(s).

[605] Polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention may be useful in treating, preventing, prognosing, and/or diagnosing diseases, disorders, and/or conditions of hematopoietic cells. Polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention could be used to increase differentiation and proliferation of hematopoietic cells, including the pluripotent stem cells, in an effort to treat or prevent those diseases, disorders, and/or conditions associated with a decrease in certain (or many) types hematopoietic cells, including but not limited to, leukopenia, neutropenia, anemia, and thrombocytopenia. Alternatively, Polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention could be used to increase differentiation and proliferation of hematopoietic cells, including the pluripotent stem cells, in an effort to treat or prevent those diseases, disorders, and/or conditions associated with an increase in certain (or many) types of hematopoietic cells, including but not limited to, histiocytosis.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[606] Allergic reactions and conditions, such as asthma (particularly allergic asthma) or other respiratory problems, may also be treated, prevented, diagnosed and/or prognosed using polypeptides, antibodies, or polynucleotides of the invention, and/or agonists or antagonists thereof. Moreover, these molecules can be used to treat, prevent, prognose, and/or diagnose anaphylaxis, hypersensitivity to an antigenic molecule, or blood group incompatibility.

[607] Additionally, polypeptides or polynucleotides of the invention, and/or agonists or antagonists thereof, may be used to treat, prevent, diagnose and/or prognose IgE-mediated allergic reactions. Such allergic reactions include, but are not limited to, asthma, rhinitis, and eczema. In specific embodiments, polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention may be used to modulate IgE concentrations in vitro or in vivo.

[608] Moreover, polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention have uses in the diagnosis, prognosis, prevention, and/or treatment of inflammatory conditions. For example, since polypeptides, antibodies, or polynucleotides of the invention, and/or agonists or antagonists of the invention may inhibit the activation, proliferation and/or differentiation of cells involved in an inflammatory response, these molecules can be used to prevent and/or treat chronic and acute inflammatory conditions. Such inflammatory conditions include, but are not limited to, for example, inflammation associated with infection (e.g., septic shock, sepsis, or systemic inflammatory response syndrome), ischemia-reperfusion injury, endotoxin lethality, complement-mediated hyperacute rejection, nephritis, cytokine or chemokine induced lung injury, inflammatory bowel disease, Crohn's disease, over production of cytokines (e.g., TNF or IL-1), respiratory disorders (e.g., asthma and allergy); gastrointestinal disorders (e.g., inflammatory bowel disease); cancers (e.g., gastric, ovarian, lung, bladder, liver, and breast); CNS disorders (e.g., multiple sclerosis; ischemic brain injury and/or stroke, traumatic brain injury, neurodegenerative disorders (e.g., Parkinson's disease and Alzheimer's disease); AIDS-related dementia; and prion disease); cardiovascular disorders (e.g., atherosclerosis, myocarditis, cardiovascular disease, and cardiopulmonary bypass complications); as well as many additional diseases, conditions, and disorders that are characterized by inflammation (e.g., hepatitis, rheumatoid arthritis, gout, trauma, pancreatitis, sarcoidosis, dermatitis, renal ischemia-reperfusion injury, Grave's disease, systemic lupus erythematosus, diabetes mellitus, and allogeneic transplant rejection).

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[609] Because inflammation is a fundamental defense mechanism, inflammatory disorders can affect virtually any tissue of the body. Accordingly, polynucleotides, polypeptides, and antibodies of the invention, as well as agonists or antagonists thereof, have uses in the treatment of tissue-specific inflammatory disorders, including, but not limited to, adrenalitis, alveolitis, angiocholecystitis, appendicitis, balanitis, blepharitis, bronchitis, bursitis, carditis, cellulitis, cervicitis, cholecystitis, chondritis, cochitis, colitis, conjunctivitis, cystitis, dermatitis, diverticulitis, encephalitis, endocarditis, esophagitis, eustachitis, fibrositis, folliculitis, gastritis, gastroenteritis, gingivitis, glossitis, hepatosplenitis, keratitis, labyrinthitis, laryngitis, lymphangitis, mastitis, media otitis, meningitis, metritis, mucitis, myocarditis, myositis, myringitis, nephritis, neuritis, orchitis, osteochondritis, otitis, pericarditis, peritendinitis, peritonitis, pharyngitis, phlebitis, poliomyelitis, prostatitis, pulpitis, retinitis, rhinitis, salpingitis, scleritis, sclerochoroiditis, scrotitis, sinusitis, spondylitis, steatitis, stomatitis, synovitis, syringitis, tendonitis, tonsillitis, urethritis, and vaginitis.

[610] In specific embodiments, polypeptides, antibodies, or polynucleotides of the invention, and/or agonists or antagonists thereof, are useful to diagnose, prognose, prevent, and/or treat organ transplant rejections and graft-versus-host disease. Organ rejection occurs by host immune cell destruction of the transplanted tissue through an immune response. Similarly, an immune response is also involved in GVHD, but in this case, the foreign transplanted immune cells destroy the host tissues. Polypeptides, antibodies, or polynucleotides of the invention, and/or agonists or antagonists thereof, that inhibit an immune response, particularly the activation, proliferation, differentiation, or chemotaxis of T-cells, may be an effective therapy in preventing organ rejection or GVHD. In specific embodiments, polypeptides, antibodies, or polynucleotides of the invention, and/or agonists or antagonists thereof, that inhibit an immune response, particularly the activation, proliferation, differentiation, or chemotaxis of T-cells, may be an effective therapy in preventing experimental allergic and hyperacute xenograft rejection.

[611] In other embodiments, polypeptides, antibodies, or polynucleotides of the invention, and/or agonists or antagonists thereof, are useful to diagnose, prognose, prevent, and/or treat immune complex diseases, including, but not limited to, serum sickness, post streptococcal glomerulonephritis, polyarteritis nodosa, and immune complex-induced vasculitis.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[612] Polypeptides, antibodies, polynucleotides and/or agonists or antagonists of the invention can be used to treat, detect, and/or prevent infectious agents. For example, by increasing the immune response, particularly increasing the proliferation activation and/or differentiation of B and/or T cells, infectious diseases may be treated, detected, and/or prevented. The immune response may be increased by either enhancing an existing immune response, or by initiating a new immune response. Alternatively, polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention may also directly inhibit the infectious agent (refer to section of application listing infectious agents, etc), without necessarily eliciting an immune response.

[613] In another embodiment, polypeptides, antibodies, polynucleotides and/or agonists or antagonists of the present invention are used as a vaccine adjuvant that enhances immune responsiveness to an antigen. In a specific embodiment, polypeptides, antibodies, polynucleotides and/or agonists or antagonists of the present invention are used as an adjuvant to enhance tumor-specific immune responses.

[614] In another specific embodiment, polypeptides, antibodies, polynucleotides and/or agonists or antagonists of the present invention are used as an adjuvant to enhance anti-viral immune responses. Anti-viral immune responses that may be enhanced using the compositions of the invention as an adjuvant, include virus and virus associated diseases or symptoms described herein or otherwise known in the art. In specific embodiments, the compositions of the invention are used as an adjuvant to enhance an immune response to a virus, disease, or symptom selected from the group consisting of: AIDS, meningitis, Dengue, EBV, and hepatitis (e.g., hepatitis B). In another specific embodiment, the compositions of the invention are used as an adjuvant to enhance an immune response to a virus, disease, or symptom selected from the group consisting of: HIV/AIDS, respiratory syncytial virus, Dengue, rotavirus, Japanese B encephalitis, influenza A and B, parainfluenza, measles, cytomegalovirus, rabies, Junin, Chikungunya, Rift Valley Fever, herpes simplex, and yellow fever.

[615] In another specific embodiment, polypeptides, antibodies, polynucleotides and/or agonists or antagonists of the present invention are used as an adjuvant to enhance anti-bacterial or anti-fungal immune responses. Anti-bacterial or anti-fungal immune responses that may be enhanced using the compositions of the invention as an adjuvant, include bacteria or fungus and bacteria or fungus associated diseases or symptoms described herein or

WO 02/02587

PCT/US01/20917

otherwise known in the art. In specific embodiments, the compositions of the invention are used as an adjuvant to enhance an immune response to a bacteria or fungus, disease, or symptom selected from the group consisting of: tetanus, Diphtheria, botulism, and meningitis type B.

[616] In another specific embodiment, the compositions of the invention are used as an adjuvant to enhance an immune response to a bacteria or fungus, disease, or symptom selected from the group consisting of: *Vibrio cholerae*, *Mycobacterium leprae*, *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi*, *Meisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, Group B streptococcus, *Shigella spp.*, Enterotoxigenic *Escherichia coli*, Enterohemorrhagic *E. coli*, and *Borrelia burgdorferi*.

[617] In another specific embodiment, polypeptides, antibodies, polynucleotides and/or agonists or antagonists of the present invention are used as an adjuvant to enhance anti-parasitic immune responses. Anti-parasitic immune responses that may be enhanced using the compositions of the invention as an adjuvant, include parasite and parasite associated diseases or symptoms described herein or otherwise known in the art. In specific embodiments, the compositions of the invention are used as an adjuvant to enhance an immune response to a parasite. In another specific embodiment, the compositions of the invention are used as an adjuvant to enhance an immune response to Plasmodium (malaria) or Leishmania.

[618] In another specific embodiment, polypeptides, antibodies, polynucleotides and/or agonists or antagonists of the present invention may also be employed to treat infectious diseases including silicosis, sarcoidosis, and idiopathic pulmonary fibrosis; for example, by preventing the recruitment and activation of mononuclear phagocytes.

[619] In another specific embodiment, polypeptides, antibodies, polynucleotides and/or agonists or antagonists of the present invention are used as an antigen for the generation of antibodies to inhibit or enhance immune mediated responses against polypeptides of the invention.

[620] In one embodiment, polypeptides, antibodies, polynucleotides and/or agonists or antagonists of the present invention are administered to an animal (e.g., mouse, rat, rabbit, hamster, guinea pig, pigs, micro-pig, chicken, camel, goat, horse, cow, sheep, dog, cat, non-human primate, and human, most preferably human) to boost the immune system to produce increased quantities of one or more antibodies (e.g., IgG, IgA, IgM, and IgE), to induce

WO 02/02587

PCT/US01/20917

higher affinity antibody production and immunoglobulin class switching (e.g., IgG, IgA, IgM, and IgE), and/or to increase an immune response.

[621] In another specific embodiment, polypeptides, antibodies, polynucleotides and/or agonists or antagonists of the present invention are used as a stimulator of B cell responsiveness to pathogens.

[622] In another specific embodiment, polypeptides, antibodies, polynucleotides and/or agonists or antagonists of the present invention are used as an activator of T cells.

[623] In another specific embodiment, polypeptides, antibodies, polynucleotides and/or agonists or antagonists of the present invention are used as an agent that elevates the immune status of an individual prior to their receipt of immunosuppressive therapies.

[624] In another specific embodiment, polypeptides, antibodies, polynucleotides and/or agonists or antagonists of the present invention are used as an agent to induce higher affinity antibodies.

[625] In another specific embodiment, polypeptides, antibodies, polynucleotides and/or agonists or antagonists of the present invention are used as an agent to increase serum immunoglobulin concentrations.

[626] In another specific embodiment, polypeptides, antibodies, polynucleotides and/or agonists or antagonists of the present invention are used as an agent to accelerate recovery of immunocompromised individuals.

[627] In another specific embodiment, polypeptides, antibodies, polynucleotides and/or agonists or antagonists of the present invention are used as an agent to boost immunoresponsiveness among aged populations and/or neonates.

[628] In another specific embodiment, polypeptides, antibodies, polynucleotides and/or agonists or antagonists of the present invention are used as an immune system enhancer prior to, during, or after bone marrow transplant and/or other transplants (e.g., allogeneic or xenogeneic organ transplantation). With respect to transplantation, compositions of the invention may be administered prior to, concomitant with, and/or after transplantation. In a specific embodiment, compositions of the invention are administered after transplantation, prior to the beginning of recovery of T-cell populations. In another specific embodiment, compositions of the invention are first administered after transplantation after the beginning of recovery of T cell populations, but prior to full recovery of B cell populations.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[629] In another specific embodiment, polypeptides, antibodies, polynucleotides and/or agonists or antagonists of the present invention are used as an agent to boost immunoresponsiveness among individuals having an acquired loss of B cell function. Conditions resulting in an acquired loss of B cell function that may be ameliorated or treated by administering the polypeptides, antibodies, polynucleotides and/or agonists or antagonists thereof, include, but are not limited to, HIV Infection, AIDS, bone marrow transplant, and B cell chronic lymphocytic leukemia (CLL).

[630] In another specific embodiment, polypeptides, antibodies, polynucleotides and/or agonists or antagonists of the present invention are used as an agent to boost immunoresponsiveness among individuals having a temporary immune deficiency. Conditions resulting in a temporary immune deficiency that may be ameliorated or treated by administering the polypeptides, antibodies, polynucleotides and/or agonists or antagonists thereof, include, but are not limited to, recovery from viral infections (e.g., influenza), conditions associated with malnutrition, recovery from infectious mononucleosis, or conditions associated with stress, recovery from measles, recovery from blood transfusion, and recovery from surgery.

[631] In another specific embodiment, polypeptides, antibodies, polynucleotides and/or agonists or antagonists of the present invention are used as a regulator of antigen presentation by monocytes, dendritic cells, and/or B-cells. In one embodiment, polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention enhance antigen presentation or antagonizes antigen presentation in vitro or in vivo. Moreover, in related embodiments, said enhancement or antagonism of antigen presentation may be useful as an anti-tumor treatment or to modulate the immune system.

[632] In another specific embodiment, polypeptides, antibodies, polynucleotides and/or agonists or antagonists of the present invention are used as an agent to direct an individual's immune system towards development of a humoral response (i.e. TH2) as opposed to a TH1 cellular response.

[633] In another specific embodiment, polypeptides, antibodies, polynucleotides and/or agonists or antagonists of the present invention are used as a means to induce tumor proliferation and thus make it more susceptible to anti-neoplastic agents. For example, multiple myeloma is a slowly dividing disease and is thus refractory to virtually all anti-

WO 02/02587

PCT/US01/20917

neoplastic regimens. If these cells were forced to proliferate more rapidly their susceptibility profile would likely change.

[634] In another specific embodiment, polypeptides, antibodies, polynucleotides and/or agonists or antagonists of the present invention are used as a stimulator of B cell production in pathologies such as AIDS, chronic lymphocyte disorder and/or Common Variable Immunodeficiency.

[635] In another specific embodiment, polypeptides, antibodies, polynucleotides and/or agonists or antagonists of the present invention are used as a therapy for generation and/or regeneration of lymphoid tissues following surgery, trauma or genetic defect. In another specific embodiment, polypeptides, antibodies, polynucleotides and/or agonists or antagonists of the present invention are used in the pretreatment of bone marrow samples prior to transplant.

[636] In another specific embodiment, polypeptides, antibodies, polynucleotides and/or agonists or antagonists of the present invention are used as a gene-based therapy for genetically inherited disorders resulting in immuno-incompetence/immunodeficiency such as observed among SCID patients.

[637] In another specific embodiment, polypeptides, antibodies, polynucleotides and/or agonists or antagonists of the present invention are used as a means of activating monocytes/macrophages to defend against parasitic diseases that effect monocytes such as Leishmania.

[638] In another specific embodiment, polypeptides, antibodies, polynucleotides and/or agonists or antagonists of the present invention are used as a means of regulating secreted cytokines that are elicited by polypeptides of the invention.

[639] In another embodiment, polypeptides, antibodies, polynucleotides and/or agonists or antagonists of the present invention are used in one or more of the applications described herein, as they may apply to veterinary medicine.

[640] In another specific embodiment, polypeptides, antibodies, polynucleotides and/or agonists or antagonists of the present invention are used as a means of blocking various aspects of immune responses to foreign agents or self. Examples of diseases or conditions in which blocking of certain aspects of immune responses may be desired include autoimmune disorders such as lupus, and arthritis, as well as immunoresponsiveness to skin allergies, inflammation, bowel disease, injury and diseases/disorders associated with pathogens.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[641] In another specific embodiment, polypeptides, antibodies, polynucleotides and/or agonists or antagonists of the present invention are used as a therapy for preventing the B cell proliferation and Ig secretion associated with autoimmune diseases such as idiopathic thrombocytopenic purpura, systemic lupus erythematosus and multiple sclerosis.

[642] In another specific embodiment, polypeptides, antibodies, polynucleotides and/or agonists or antagonists of the present invention are used as a inhibitor of B and/or T cell migration in endothelial cells. This activity disrupts tissue architecture or cognate responses and is useful, for example in disrupting immune responses, and blocking sepsis.

[643] In another specific embodiment, polypeptides, antibodies, polynucleotides and/or agonists or antagonists of the present invention are used as a therapy for chronic hypergammaglobulinemia evident in such diseases as monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS), Waldenstrom's disease, related idiopathic monoclonal gammopathies, and plasmacytomas.

[644] In another specific embodiment, polypeptides, antibodies, polynucleotides and/or agonists or antagonists of the present invention may be employed for instance to inhibit polypeptide chemotaxis and activation of macrophages and their precursors, and of neutrophils, basophils, B lymphocytes and some T-cell subsets, e.g., activated and CD8 cytotoxic T cells and natural killer cells, in certain autoimmune and chronic inflammatory and infective diseases. Examples of autoimmune diseases are described herein and include multiple sclerosis, and insulin-dependent diabetes.

[645] The polypeptides, antibodies, polynucleotides and/or agonists or antagonists of the present invention may also be employed to treat idiopathic hyper-eosinophilic syndrome by, for example, preventing eosinophil production and migration.

[646] In another specific embodiment, polypeptides, antibodies, polynucleotides and/or agonists or antagonists of the present invention are used to enhance or inhibit complement mediated cell lysis.

[647] In another specific embodiment, polypeptides, antibodies, polynucleotides and/or agonists or antagonists of the present invention are used to enhance or inhibit antibody dependent cellular cytotoxicity.

[648] In another specific embodiment, polypeptides, antibodies, polynucleotides and/or agonists or antagonists of the present invention may also be employed for treating atherosclerosis, for example, by preventing monocyte infiltration in the artery wall.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[649] In another specific embodiment, polypeptides, antibodies, polynucleotides and/or agonists or antagonists of the present invention may be employed to treat adult respiratory distress syndrome (ARDS).

[650] In another specific embodiment, polypeptides, antibodies, polynucleotides and/or agonists or antagonists of the present invention may be useful for stimulating wound and tissue repair, stimulating angiogenesis, and/or stimulating the repair of vascular or lymphatic diseases or disorders. Additionally, agonists and antagonists of the invention may be used to stimulate the regeneration of mucosal surfaces.

[651] In a specific embodiment, polynucleotides or polypeptides, and/or agonists thereof are used to diagnose, prognose, treat, and/or prevent a disorder characterized by primary or acquired immunodeficiency, deficient serum immunoglobulin production, recurrent infections, and/or immune system dysfunction. Moreover, polynucleotides or polypeptides, and/or agonists thereof may be used to treat or prevent infections of the joints, bones, skin, and/or parotid glands, blood-borne infections (e.g., sepsis, meningitis, septic arthritis, and/or osteomyelitis), autoimmune diseases (e.g., those disclosed herein), inflammatory disorders, and malignancies, and/or any disease or disorder or condition associated with these infections, diseases, disorders and/or malignancies) including, but not limited to, COVID, other primary immune deficiencies, HIV disease, CLL, recurrent bronchitis, sinusitis, otitis media, conjunctivitis, pneumonia, hepatitis, meningitis, herpes zoster (e.g., severe herpes zoster), and/or pneumocystis carinii. Other diseases and disorders that may be prevented, diagnosed, prognosed, and/or treated with polynucleotides or polypeptides, and/or agonists of the present invention include, but are not limited to, HIV infection, HTLV-BLV infection, lymphopenia, phagocyte bactericidal dysfunction anemia, thrombocytopenia, and hemoglobinuria.

[652] In another embodiment, polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention are used to treat, and/or diagnose an individual having common variable immunodeficiency disease ("COVID"; also known as "acquired agammaglobulinemia" and "acquired hypogammaglobulinemia") or a subset of this disease.

[653] In a specific embodiment, polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention may be used to diagnose, prognose, prevent, and/or treat cancers or neoplasms including immune cell or immune tissue-related cancers or neoplasms. Examples of cancers or neoplasms that may be prevented, diagnosed, or treated by polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present

WO 02/02587

PCT/US01/20917

invention include, but are not limited to, acute myelogenous leukemia, chronic myelogenous leukemia, Hodgkin's disease, non-Hodgkin's lymphoma, acute lymphocytic anemia (ALL), Chronic lymphocyte leukemia, plasmacytomas, multiple myeloma, Burkitt's lymphoma, EBV-transformed diseases, and/or diseases and disorders described in the section entitled "Hyperproliferative Disorders" elsewhere herein.

[654] In another specific embodiment, polypeptides, antibodies, polynucleotides and/or agonists or antagonists of the present invention are used as a therapy for decreasing cellular proliferation of Large B-cell Lymphomas.

[655] In another specific embodiment, polypeptides, antibodies, polynucleotides and/or agonists or antagonists of the present invention are used as a means of decreasing the involvement of B cells and Ig associated with Chronic Myelogenous Leukemia.

[656] In specific embodiments, the compositions of the invention are used as an agent to boost immunoresponsiveness among B cell immunodeficient individuals, such as, for example, an individual who has undergone a partial or complete splenectomy.

[657] Antagonists of the invention include, for example, binding and/or inhibitory antibodies, antisense nucleic acids, ribozymes or soluble forms of the polypeptides of the present invention (e.g., Fc fusion protein; see, e.g., Example 9). Agonists of the invention include, for example, binding or stimulatory antibodies, and soluble forms of the polypeptides (e.g., Fc fusion proteins; see, e.g., Example 9). polypeptides, antibodies, polynucleotides and/or agonists or antagonists of the present invention may be employed in a composition with a pharmaceutically acceptable carrier, e.g., as described herein.

[658] In another embodiment, polypeptides, antibodies, polynucleotides and/or agonists or antagonists of the present invention are administered to an animal (including, but not limited to, those listed above, and also including transgenic animals) incapable of producing functional endogenous antibody molecules or having an otherwise compromised endogenous immune system, but which is capable of producing human immunoglobulin molecules by means of a reconstituted or partially reconstituted immune system from another animal (see, e.g., published PCT Application Nos. WO98/24893, WO/9634096, WO/9633735, and WO/9110741). Administration of polypeptides, antibodies, polynucleotides and/or agonists or antagonists of the present invention to such animals is useful for the generation of monoclonal antibodies against the polypeptides, antibodies, polynucleotides and/or agonists or antagonists of the present invention.

Blood-Related Disorders

[659] The polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention may be used to modulate hemostatic (the stopping of bleeding) or thrombolytic (clot dissolving) activity. For example, by increasing hemostatic or thrombolytic activity, polynucleotides or polypeptides, and/or agonists or antagonists of the present invention could be used to treat or prevent blood coagulation diseases, disorders, and/or conditions (e.g., afibrinogenemia, factor deficiencies, hemophilia), blood platelet diseases, disorders, and/or conditions (e.g., thrombocytopenia), or wounds resulting from trauma, surgery, or other causes. Alternatively, polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention that can decrease hemostatic or thrombolytic activity could be used to inhibit or dissolve clotting. These molecules could be important in the treatment or prevention of heart attacks (infarction), strokes, or scarring.

[660] In specific embodiments, the polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention may be used to prevent, diagnose, prognose, and/or treat thrombosis, arterial thrombosis, venous thrombosis, thromboembolism, pulmonary embolism, atherosclerosis, myocardial infarction, transient ischemic attack, unstable angina. In specific embodiments, the polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention may be used for the prevention of occlusion of saphenous grafts, for reducing the risk of periprocedural thrombosis as might accompany angioplasty procedures, for reducing the risk of stroke in patients with atrial fibrillation including nonrheumatic atrial fibrillation, for reducing the risk of embolism associated with mechanical heart valves and or mitral valves disease. Other uses for the polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention, include, but are not limited to, the prevention of occlusions in extracorporeal devices (e.g., intravascular canulas, vascular access shunts in hemodialysis patients, hemodialysis machines, and cardiopulmonary bypass machines).

[661] In another embodiment, a polypeptide of the invention, or polynucleotides, antibodies, agonists, or antagonists corresponding to that polypeptide, may be used to prevent, diagnose, prognose, and/or treat diseases and disorders of the blood and/or blood forming organs associated with the tissue(s) in which the polypeptide of the invention is

WO 02/02587

PCT/US01/20917

expressed, including one, two, three, four, five, or more tissues disclosed in Table 10, column 2 (Library Code).

[662] The polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention may be used to modulate hematopoietic activity (the formation of blood cells). For example, the polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention may be used to increase the quantity of all or subsets of blood cells, such as, for example, erythrocytes, lymphocytes (B or T cells), myeloid cells (e.g., basophils, eosinophils, neutrophils, mast cells, macrophages) and platelets. The ability to decrease the quantity of blood cells or subsets of blood cells may be useful in the prevention, detection, diagnosis and/or treatment of anemias and leukopenias described below. Alternatively, the polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention may be used to decrease the quantity of all or subsets of blood cells, such as, for example, erythrocytes, lymphocytes (B or T cells), myeloid cells (e.g., basophils, eosinophils, neutrophils, mast cells, macrophages) and platelets. The ability to decrease the quantity of blood cells or subsets of blood cells may be useful in the prevention, detection, diagnosis and/or treatment of leukocytoses, such as, for example eosinophilia.

[663] The polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention may be used to prevent, treat, or diagnose blood dyscrasia.

[664] Anemias are conditions in which the number of red blood cells or amount of hemoglobin (the protein that carries oxygen) in them is below normal. Anemia may be caused by excessive bleeding, decreased red blood cell production, or increased red blood cell destruction (hemolysis). The polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention may be useful in treating, preventing, and/or diagnosing anemias. Anemias that may be treated prevented or diagnosed by the polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention include iron deficiency anemia, hypochromic anemia, microcytic anemia, chlorosis, hereditary sideroblastic anemia, idiopathic acquired sideroblastic anemia, red cell aplasia, megaloblastic anemia (e.g., pernicious anemia, (vitamin B12 deficiency) and folic acid deficiency anemia), aplastic anemia, hemolytic anemias (e.g., autoimmune hemolytic anemia, microangiopathic hemolytic anemia, and paroxysmal nocturnal hemoglobinuria). The polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present

WO 02/02587

PCT/US01/20917

invention may be useful in treating, preventing, and/or diagnosing anemias associated with diseases including but not limited to, anemias associated with systemic lupus erythematosus, cancers, lymphomas, chronic renal disease, and enlarged spleens. The polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention may be useful in treating, preventing, and/or diagnosing anemias arising from drug treatments such as anemias associated with methyldopa, dapsone, and/or sulfadiazine. Additionally, the polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention may be useful in treating, preventing, and/or diagnosing anemias associated with abnormal red blood cell architecture including but not limited to, hereditary spherocytosis, hereditary elliptocytosis, glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency, and sickle cell anemia.

[665] The polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention may be useful in treating, preventing, and/or diagnosing hemoglobin abnormalities, (e.g., those associated with sickle cell anemia, hemoglobin C disease, hemoglobin S-C disease, and hemoglobin E disease). Additionally, the polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention may be useful in diagnosing, prognosing, preventing, and/or treating thalassemias, including, but not limited to major and minor forms of alpha-thalassemia and beta-thalassemia.

[666] In another embodiment, the polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention may be useful in diagnosing, prognosing, preventing, and/or treating bleeding disorders including, but not limited to, thrombocytopenia (e.g., idiopathic thrombocytopenic purpura, and thrombotic thrombocytopenic purpura), Von Willebrand's disease, hereditary platelet disorders (e.g., storage pool disease such as Chediak-Higashi and Hermansky-Pudlak syndromes, thromboxane A2 dysfunction, thromboasthenia, and Bernard-Soulier syndrome), hemolytic-uremic syndrome, hemophelias such as hemophilia A or Factor VII deficiency and Christmas disease or Factor IX deficiency, Hereditary Hemorrhagic Telangiectasia, also known as Rendu-Osler-Weber syndrome, allergic purpura (Henoch Schonlein purpura) and disseminated intravascular coagulation.

[667] The effect of the polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention on the clotting time of blood may be monitored using any of the clotting tests known in the art including, but not limited to, whole blood partial

WO 02/02587

PCT/US01/20917

thromboplastin time (PTT), the activated partial thromboplastin time (aPTT), the activated clotting time (ACT), the recalcified activated clotting time, or the Lee-White Clotting time.

[668] Several diseases and a variety of drugs can cause platelet dysfunction. Thus, in a specific embodiment, the polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention may be useful in diagnosing, prognosing, preventing, and/or treating acquired platelet dysfunction such as platelet dysfunction accompanying kidney failure, leukemia, multiple myeloma, cirrhosis of the liver, and systemic lupus erythematosus as well as platelet dysfunction associated with drug treatments, including treatment with aspirin, ticlopidine, nonsteroidal anti-inflammatory drugs (used for arthritis, pain, and sprains), and penicillin in high doses.

[669] In another embodiment, the polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention may be useful in diagnosing, prognosing, preventing, and/or treating diseases and disorders characterized by or associated with increased or decreased numbers of white blood cells. Leukopenia occurs when the number of white blood cells decreases below normal. Leukopenias include, but are not limited to, neutropenia and lymphocytopenia. An increase in the number of white blood cells compared to normal is known as leukocytosis. The body generates increased numbers of white blood cells during infection. Thus, leukocytosis may simply be a normal physiological parameter that reflects infection. Alternatively, leukocytosis may be an indicator of injury or other disease such as cancer. Leukocytoses include but are not limited to, eosinophilia, and accumulations of macrophages. In specific embodiments, the polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention may be useful in diagnosing, prognosing, preventing, and/or treating leukopenia. In other specific embodiments, the polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention may be useful in diagnosing, prognosing, preventing, and/or treating leukocytosis.

[670] Leukopenia may be a generalized decrease in all types of white blood cells, or may be a specific depletion of particular types of white blood cells. Thus, in specific embodiments, the polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention may be useful in diagnosing, prognosing, preventing, and/or treating decreases in neutrophil numbers, known as neutropenia. Neutropenias that may be diagnosed, prognosed, prevented, and/or treated by the polynucleotides, polypeptides,

WO 02/02587

PCT/US01/20917

antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention include, but are not limited to, infantile genetic agranulocytosis, familial neutropenia, cyclic neutropenia, neutropenias resulting from or associated with dietary deficiencies (e.g., vitamin B 12 deficiency or folic acid deficiency), neutropenias resulting from or associated with drug treatments (e.g., antibiotic regimens such as penicillin treatment, sulfonamide treatment, anticoagulant treatment, anticonvulsant drugs, anti-thyroid drugs, and cancer chemotherapy), and neutropenias resulting from increased neutrophil destruction that may occur in association with some bacterial or viral infections, allergic disorders, autoimmune diseases, conditions in which an individual has an enlarged spleen (e.g., Felty syndrome, malaria and sarcoidosis), and some drug treatment regimens.

[671] The polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention may be useful in diagnosing, prognosing, preventing, and/or treating lymphocytopenias (decreased numbers of B and/or T lymphocytes), including, but not limited to lymphocytopenias resulting from or associated with stress, drug treatments (e.g., drug treatment with corticosteroids, cancer chemotherapies, and/or radiation therapies), AIDS infection and/or other diseases such as, for example, cancer, rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus, chronic infections, some viral infections and/or hereditary disorders (e.g., DiGeorge syndrome, Wiskott-Aldrich Syndrome, severe combined immunodeficiency, ataxia telangiectasia).

[672] The polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention may be useful in diagnosing, prognosing, preventing, and/or treating diseases and disorders associated with macrophage numbers and/or macrophage function including, but not limited to, Gaucher's disease, Niemann-Pick disease, Letterer-Siwe disease and Hand-Schuller-Christian disease.

[673] In another embodiment, the polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention may be useful in diagnosing, prognosing, preventing, and/or treating diseases and disorders associated with eosinophil numbers and/or eosinophil function including, but not limited to, idiopathic hypereosinophilic syndrome, eosinophilia-myalgia syndrome, and Hand-Schuller-Christian disease.

[674] In yet another embodiment, the polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention may be useful in diagnosing, prognosing, preventing, and/or treating leukemias and lymphomas including, but not limited to, acute

WO 02/02587

PCT/US01/20917

lymphocytic (lymphoblastic) leukemia (ALL), acute myeloid (myelocytic, myelogenous, myeloblastic, or myelomonocytic) leukemia, chronic lymphocytic leukemia (e.g., B cell leukemias, T cell leukemias, Sezary syndrome, and Hairy cell leukemia), chronic myelocytic (myeloid, myelogenous, or granulocytic) leukemia, Hodgkin's lymphoma, non-hodgkin's lymphoma, Burkitt's lymphoma, and mycosis fungoides.

[675] In other embodiments, the polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention may be useful in diagnosing, prognosing, preventing, and/or treating diseases and disorders of plasma cells including, but not limited to, plasma cell dyscrasias, monoclonal gammaopathies, monoclonal gammopathies of undetermined significance, multiple myeloma, macroglobulinemia, Waldenstrom's macroglobulinemia, cryoglobulinemia, and Raynaud's phenomenon.

[676] In other embodiments, the polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention may be useful in treating, preventing, and/or diagnosing myeloproliferative disorders, including but not limited to, polycythemia vera, relative polycythemia, secondary polycythemia, myelofibrosis, acute myelofibrosis, agnogenic myeloid metaplasia, thrombocythemia, (including both primary and secondary thrombocythemia) and chronic myelocytic leukemia.

[677] In other embodiments, the polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention may be useful as a treatment prior to surgery, to increase blood cell production.

[678] In other embodiments, the polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention may be useful as an agent to enhance the migration, phagocytosis, superoxide production, antibody dependent cellular cytotoxicity of neutrophils, eosinophils and macrophages.

[679] In other embodiments, the polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention may be useful as an agent to increase the number of stem cells in circulation prior to stem cells pheresis. In another specific embodiment, the polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention may be useful as an agent to increase the number of stem cells in circulation prior to platelet pheresis.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[680] In other embodiments, the polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention may be useful as an agent to increase cytokine production.

[681] In other embodiments, the polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention may be useful in preventing, diagnosing, and/or treating primary hematopoietic disorders.

Hyperproliferative Disorders

[682] In certain embodiments, polynucleotides or polypeptides, or agonists or antagonists of the present invention can be used to treat or detect hyperproliferative disorders, including neoplasms. Polynucleotides or polypeptides, or agonists or antagonists of the present invention may inhibit the proliferation of the disorder through direct or indirect interactions. Alternatively, Polynucleotides or polypeptides, or agonists or antagonists of the present invention may proliferate other cells which can inhibit the hyperproliferative disorder.

[683] For example, by increasing an immune response, particularly increasing antigenic qualities of the hyperproliferative disorder or by proliferating, differentiating, or mobilizing T-cells, hyperproliferative disorders can be treated. This immune response may be increased by either enhancing an existing immune response, or by initiating a new immune response. Alternatively, decreasing an immune response may also be a method of treating hyperproliferative disorders, such as a chemotherapeutic agent.

[684] Examples of hyperproliferative disorders that can be treated or detected by polynucleotides or polypeptides, or agonists or antagonists of the present invention include, but are not limited to neoplasms located in the: colon, abdomen, bone, breast, digestive system, liver, pancreas, peritoneum, endocrine glands (adrenal, parathyroid, pituitary, testicles, ovary, thymus, thyroid), eye, head and neck, nervous (central and peripheral), lymphatic system, pelvis, skin, soft tissue, spleen, thorax, and urogenital tract.

[685] Similarly, other hyperproliferative disorders can also be treated or detected by polynucleotides or polypeptides, or agonists or antagonists of the present invention. Examples of such hyperproliferative disorders include, but are not limited to: Acute Childhood Lymphoblastic Leukemia, Acute Lymphoblastic Leukemia, Acute Lymphocytic Leukemia, Acute Myeloid Leukemia, Adrenocortical Carcinoma, Adult (Primary)

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Hepatocellular Cancer, Adult (Primary) Liver Cancer, Adult Acute Lymphocytic Leukemia, Adult Acute Myeloid Leukemia, Adult Hodgkin's Disease, Adult Hodgkin's Lymphoma, Adult Lymphocytic Leukemia, Adult Non-Hodgkin's Lymphoma, Adult Primary Liver Cancer, Adult Soft Tissue Sarcoma, AIDS-Related Lymphoma, AIDS-Related Malignancies, Anal Cancer, Astrocytoma, Bile Duct Cancer, Bladder Cancer, Bone Cancer, Brain Stem Glioma, Brain Tumors, Breast Cancer, Cancer of the Renal Pelvis and Ureter, Central Nervous System (Primary) Lymphoma, Central Nervous System Lymphoma, Cerebellar Astrocytoma, Cerebral Astrocytoma, Cervical Cancer, Childhood (Primary) Hepatocellular Cancer, Childhood (Primary) Liver Cancer, Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia, Childhood Acute Myeloid Leukemia, Childhood Brain Stem Glioma, Childhood Cerebellar Astrocytoma, Childhood Cerebral Astrocytoma, Childhood Extracranial Germ Cell Tumors, Childhood Hodgkin's Disease, Childhood Hodgkin's Lymphoma, Childhood Hypothalamic and Visual Pathway Glioma, Childhood Lymphoblastic Leukemia, Childhood Medulloblastoma, Childhood Non-Hodgkin's Lymphoma, Childhood Pineal and Supratentorial Primitive Neuroectodermal Tumors, Childhood Primary Liver Cancer, Childhood Rhabdomyosarcoma, Childhood Soft Tissue Sarcoma, Childhood Visual Pathway and Hypothalamic Glioma, Chronic Lymphocytic Leukemia, Chronic Myelogenous Leukemia, Colon Cancer, Cutaneous T-Cell Lymphoma, Endocrine Pancreas Islet Cell Carcinoma, Endometrial Cancer, Ependymoma, Epithelial Cancer, Esophageal Cancer, Ewing's Sarcoma and Related Tumors, Exocrine Pancreatic Cancer, Extracranial Germ Cell Tumor, Extragenital Germ Cell Tumor, Extrahepatic Bile Duct Cancer, Eye Cancer, Female Breast Cancer, Gaucher's Disease, Gallbladder Cancer, Gastric Cancer, Gastrointestinal Carcinoid Tumor, Gastrointestinal Tumors, Germ Cell Tumors, Gestational Trophoblastic Tumor, Hairy Cell Leukemia, Head and Neck Cancer, Hepatocellular Cancer, Hodgkin's Disease, Hodgkin's Lymphoma, Hypergammaglobulinemia, Hypopharyngeal Cancer, Intestinal Cancers, Intraocular Melanoma, Islet Cell Carcinoma, Islet Cell Pancreatic Cancer, Kaposi's Sarcoma, Kidney Cancer, Laryngeal Cancer, Lip and Oral Cavity Cancer, Liver Cancer, Lung Cancer, Lymphoproliferative Disorders, Macroglobulinemia, Male Breast Cancer, Malignant Mesothelioma, Malignant Thymoma, Medulloblastoma, Melanoma, Mesothelioma, Metastatic Occult Primary Squamous Neck Cancer, Metastatic Primary Squamous Neck Cancer, Metastatic Squamous Neck Cancer, Multiple Myeloma, Multiple Myeloma/Plasma Cell Neoplasm, Myelodysplastic Syndrome, Myelogenous Leukemia,

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Myeloid Leukemia, Myeloproliferative Disorders, Nasal Cavity and Paranasal Sinus Cancer, Nasopharyngeal Cancer, Neuroblastoma, Non-Hodgkin's Lymphoma During Pregnancy, Non-melanoma Skin Cancer, Non-Small Cell Lung Cancer, Occult Primary Metastatic Squamous Neck Cancer, Oropharyngeal Cancer, Osteo-/Malignant Fibrous Sarcoma, Osteosarcoma/Malignant Fibrous Histiocytoma, Osteosarcoma/Malignant Fibrous Histiocytoma of Bone, Ovarian Epithelial Cancer, Ovarian Germ Cell Tumor, Ovarian Low Malignant Potential Tumor, Pancreatic Cancer, Paraproteinemias, Purpura, Parathyroid Cancer, Penile Cancer, Pheochromocytoma, Pituitary Tumor, Plasma Cell Neoplasm/Multiple Myeloma, Primary Central Nervous System Lymphoma, Primary Liver Cancer, Prostate Cancer, Rectal Cancer, Renal Cell Cancer, Renal Pelvis and Ureter Cancer, Rhabdomyosarcoma, Salivary Gland Cancer, Sarcoidosis Sarcomas, Sezary Syndrome, Skin Cancer, Small Cell Lung Cancer, Small Intestine Cancer, Soft Tissue Sarcoma, Squamous Neck Cancer, Stomach Cancer, Supratentorial Primitive Neuroectodermal and Pineal Tumors, T-Cell Lymphoma, Testicular Cancer, Thymoma, Thyroid Cancer, Transitional Cell Cancer of the Renal Pelvis and Ureter, Transitional Renal Pelvis and Ureter Cancer, Trophoblastic Tumors, Ureter and Renal Pelvis Cell Cancer, Urethral Cancer, Uterine Cancer, Uterine Sarcoma, Vaginal Cancer, Visual Pathway and Hypothalamic Glioma, Vulvar Cancer, Waldenstrom's Macroglobulinemia, Wilms' Tumor, and any other hyperproliferative disease, besides neoplasia, located in an organ system listed above.

[686] In another preferred embodiment, polynucleotides or polypeptides, or agonists or antagonists of the present invention are used to diagnose, prognose, prevent, and/or treat premalignant conditions and to prevent progression to a neoplastic or malignant state, including but not limited to those disorders described above. Such uses are indicated in conditions known or suspected of preceding progression to neoplasia or cancer, in particular, where non-neoplastic cell growth consisting of hyperplasia, metaplasia, or most particularly, dysplasia has occurred (for review of such abnormal growth conditions, see Robbins and Angel, 1976, *Basic Pathology*, 2d Ed., W. B. Saunders Co., Philadelphia, pp. 68-79.)

[687] Hyperplasia is a form of controlled cell proliferation, involving an increase in cell number in a tissue or organ, without significant alteration in structure or function. Hyperplastic disorders which can be diagnosed, prognosed, prevented, and/or treated with compositions of the invention (including polynucleotides, polypeptides, agonists or

WO 02/02587

PCT/US01/20917

antagonists) include, but are not limited to, angiofollicular mediastinal lymph node hyperplasia, angiolymphoid hyperplasia with eosinophilia, atypical melanocytic hyperplasia, basal cell hyperplasia, benign giant lymph node hyperplasia, cementum hyperplasia, congenital adrenal hyperplasia, congenital sebaceous hyperplasia, cystic hyperplasia, cystic hyperplasia of the breast, denture hyperplasia, ductal hyperplasia, endometrial hyperplasia, fibromuscular hyperplasia, focal epithelial hyperplasia, gingival hyperplasia, inflammatory fibrous hyperplasia, inflammatory papillary hyperplasia, intravascular papillary endothelial hyperplasia, nodular hyperplasia of prostate, nodular regenerative hyperplasia, pseudoepitheliomatous hyperplasia, senile sebaceous hyperplasia, and verrucous hyperplasia.

[688] Metaplasia is a form of controlled cell growth in which one type of adult or fully differentiated cell substitutes for another type of adult cell. Metaplastic disorders which can be diagnosed, prognosed, prevented, and/or treated with compositions of the invention (including polynucleotides, polypeptides, agonists or antagonists) include, but are not limited to, agnogenic myeloid metaplasia, apocrine metaplasia, atypical metaplasia, autoparaneoplastic metaplasia, connective tissue metaplasia, epithelial metaplasia, intestinal metaplasia, metaplastic anemia, metaplastic ossification, metaplastic polyps, myeloid metaplasia, primary myeloid metaplasia, secondary myeloid metaplasia, squamous metaplasia, squamous metaplasia of amnion, and symptomatic myeloid metaplasia.

[689] Dysplasia is frequently a forerunner of cancer, and is found mainly in the epithelia; it is the most disorderly form of non-neoplastic cell growth, involving a loss in individual cell uniformity and in the architectural orientation of cells. Dysplastic cells often have abnormally large, deeply stained nuclei, and exhibit pleomorphism. Dysplasia characteristically occurs where there exists chronic irritation or inflammation. Dysplastic disorders which can be diagnosed, prognosed, prevented, and/or treated with compositions of the invention (including polynucleotides, polypeptides, agonists or antagonists) include, but are not limited to, anhidrotic ectodermal dysplasia, anterofacial dysplasia, asphyxiating thoracic dysplasia, atriodigital dysplasia, bronchopulmonary dysplasia, cerebral dysplasia, cervical dysplasia, chondroectodermal dysplasia, cleidocranial dysplasia, congenital ectodermal dysplasia, craniodiaphysial dysplasia, craniocarpotarsal dysplasia, craniometaphysial dysplasia, dentin dysplasia, diaphysial dysplasia, ectodermal dysplasia, enamel dysplasia, encephalo-ophthalmic dysplasia, dysplasia epiphysialis hemimelia, dysplasia epiphysialis multiplex,

WO 02/02587

PCT/US01/20917

dysplasia epiphysialis punctata, epithelial dysplasia, facioidigitogenital dysplasia, familial fibrous dysplasia of jaws, familial white folded dysplasia, fibromuscular dysplasia, fibrous dysplasia of bone, florid osseous dysplasia, hereditary renal-retinal dysplasia, hidrotic ectodermal dysplasia, hypohidrotic ectodermal dysplasia, lymphopenic thymic dysplasia, mammary dysplasia, mandibulofacial dysplasia, metaphysial dysplasia, Mondini dysplasia, monostotic fibrous dysplasia, mucoepithelial dysplasia, multiple epiphysial dysplasia, oculoauriculovertebral dysplasia, oculodentodigital dysplasia, oculovertbral dysplasia, odontogenic dysplasia, ophthalmomandibulomelic dysplasia, periapical cemental dysplasia, polyostotic fibrous dysplasia, pseudoachondroplastic spondyloepiphysial dysplasia, retinal dysplasia, septo-optic dysplasia, spondyloepiphysial dysplasia, and ventriculoradial dysplasia.

[690] Additional pre-neoplastic disorders which can be diagnosed, prognosed, prevented, and/or treated with compositions of the invention (including polynucleotides, polypeptides, agonists or antagonists) include, but are not limited to, benign dysproliferative disorders (e.g., benign tumors, fibrocystic conditions, tissue hypertrophy, intestinal polyps, colon polyps, and esophageal dysplasia), leukoplakia, keratoses, Bowen's disease, Farmer's Skin, solar cheilitis, and solar keratosis.

[691] In another embodiment, a polypeptide of the invention, or polynucleotides, antibodies, agonists, or antagonists corresponding to that polypeptide, may be used to diagnose and/or prognose disorders associated with the tissue(s) in which the polypeptide of the invention is expressed, including one, two, three, four, five, or more tissues disclosed in Table 10, column 2 (Library Code).

[692] In another embodiment, polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention conjugated to a toxin or a radioactive isotope, as described herein, may be used to treat cancers and neoplasms, including, but not limited to those described herein. In a further preferred embodiment, polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention conjugated to a toxin or a radioactive isotope, as described herein, may be used to treat acute myelogenous leukemia.

[693] Additionally, polynucleotides, polypeptides, and/or agonists or antagonists of the invention may affect apoptosis, and therefore, would be useful in treating a number of diseases associated with increased cell survival or the inhibition of apoptosis. For example, diseases associated with increased cell survival or the inhibition of apoptosis that could be

WO 02/02587

PCT/US01/20917

diagnosed, prognosed, prevented, and/or treated by polynucleotides, polypeptides, and/or agonists or antagonists of the invention, include cancers (such as follicular lymphomas, carcinomas with p53 mutations, and hormone-dependent tumors, including, but not limited to colon cancer, cardiac tumors, pancreatic cancer, melanoma, retinoblastoma, glioblastoma, lung cancer, intestinal cancer, testicular cancer, stomach cancer, neuroblastoma, myxoma, myoma, lymphoma, endothelioma, osteoblastoma, osteoclastoma, osteosarcoma, chondrosarcoma, adenoma, breast cancer, prostate cancer, Kaposi's sarcoma and ovarian cancer); autoimmune disorders such as, multiple sclerosis, Sjogren's syndrome, Hashimoto's thyroiditis, biliary cirrhosis, Behcet's disease, Crohn's disease, polyneuritis, systemic lupus erythematosus and immune-related glomerulonephritis and rheumatoid arthritis) and viral infections (such as herpes viruses, pox viruses and adenoviruses), inflammation, graft v. host disease, acute graft rejection, and chronic graft rejection.

[694] In preferred embodiments, polynucleotides, polypeptides, and/or agonists or antagonists of the invention are used to inhibit growth, progression, and/or metastasis of cancers, in particular those listed above.

[695] Additional diseases or conditions associated with increased cell survival that could be diagnosed, prognosed, prevented, and/or treated by polynucleotides, polypeptides, and/or agonists or antagonists of the invention, include, but are not limited to, progression, and/or metastases of malignancies and related disorders such as leukemia (including acute leukemias (e.g., acute lymphocytic leukemia, acute myelocytic leukemia (including myeloblastic, promyelocytic, myelomonocytic, monocytic, and erythroleukemia)) and chronic leukemias (e.g., chronic myelocytic (granulocytic) leukemia and chronic lymphocytic leukemia)), polycythemia vera, lymphomas (e.g., Hodgkin's disease and non-Hodgkin's disease), multiple myeloma, Waldenström's macroglobulinemia, heavy chain disease, and solid tumors including, but not limited to, sarcomas and carcinomas such as fibrosarcoma, myxosarcoma, liposarcoma, chondrosarcoma, osteogenic sarcoma, chordoma, angiosarcoma, endotheliosarcoma, lymphangiosarcoma, lymphangioendotheliosarcoma, synovioma, mesothelioma, Ewing's tumor, leiomyosarcoma, rhabdomyosarcoma, colon carcinoma, pancreatic cancer, breast cancer, ovarian cancer, prostate cancer, squamous cell carcinoma, basal cell carcinoma, adenocarcinoma, sweat gland carcinoma, sebaceous gland carcinoma, papillary carcinoma, papillary adenocarcinomas, cystadenocarcinoma, medullary carcinoma, bronchogenic carcinoma, renal cell carcinoma, hepatoma, bile duct carcinoma,

WO 02/02587

PCT/US01/20917

choriocarcinoma, seminoma, embryonal carcinoma, Wilms tumor, cervical cancer, testicular tumor, lung carcinoma, small cell lung carcinoma, bladder carcinoma, epithelial carcinoma, glioma, astrocytoma, medulloblastoma, craniopharyngioma, ependymoma, pinealoma, emangioblastoma, acoustic neuroma, oligodendroglioma, meningioma, melanoma, neuroblastoma, and retinoblastoma.

[696] Diseases associated with increased apoptosis that could be diagnosed, prognosed, prevented, and/or treated by polynucleotides, polypeptides, and/or agonists or antagonists of the invention, include AIDS; neurodegenerative disorders (such as Alzheimer's disease, Parkinson's disease, amyotrophic lateral sclerosis, retinitis pigmentosa, cerebellar degeneration and brain tumor or prior associated disease); autoimmune disorders (such as, multiple sclerosis, Sjogren's syndrome, Hashimoto's thyroiditis, biliary cirrhosis, Behcet's disease, Crohn's disease, polymyositis, systemic lupus erythematosus and immune-related glomerulonephritis and rheumatoid arthritis) myelodysplastic syndromes (such as aplastic anemia), graft v. host disease, ischemic injury (such as that caused by myocardial infarction, stroke and reperfusion injury), liver injury (e.g., hepatitis related liver injury, ischemia/reperfusion injury, cholestasis (bile duct injury) and liver cancer); toxin-induced liver disease (such as that caused by alcohol), septic shock, cachexia and anorexia.

[697] Hyperproliferative diseases and/or disorders that could be diagnosed, prognosed, prevented, and/or treated by polynucleotides, polypeptides, and/or agonists or antagonists of the invention, include, but are not limited to, neoplasms located in the liver, abdomen, bone, breast, digestive system, pancreas, peritoneum, endocrine glands (adrenal, parathyroid, pituitary, testicles, ovary, thymus, thyroid), eye, head and neck, nervous system (central and peripheral), lymphatic system, pelvis, skin, soft tissue, spleen, thorax, and urogenital tract.

[698] Similarly, other hyperproliferative disorders can also be diagnosed, prognosed, prevented, and/or treated by polynucleotides, polypeptides, and/or agonists or antagonists of the invention. Examples of such hyperproliferative disorders include, but are not limited to: hypergammaglobulinemia, lymphoproliferative disorders, paraproteinemias, purpura, sarcoidosis, Sezary Syndrome, Waldenström's macroglobulinemia, Gaucher's Disease, histiocytosis, and any other hyperproliferative disease, besides neoplasia, located in an organ system listed above.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[699] Another preferred embodiment utilizes polynucleotides of the present invention to inhibit aberrant cellular division, by gene therapy using the present invention, and/or protein fusions or fragments thereof.

[700] Thus, the present invention provides a method for treating cell proliferative disorders by inserting into an abnormally proliferating cell a polynucleotide of the present invention, wherein said polynucleotide represses said expression.

[701] Another embodiment of the present invention provides a method of treating cell-proliferative disorders in individuals comprising administration of one or more active gene copies of the present invention to an abnormally proliferating cell or cells. In a preferred embodiment, polynucleotides of the present invention is a DNA construct comprising a recombinant expression vector effective in expressing a DNA sequence encoding said polynucleotides. In another preferred embodiment of the present invention, the DNA construct encoding the polynucleotides of the present invention is inserted into cells to be treated utilizing a retrovirus, or more preferably an adenoviral vector (See G J. Nabel, et. al., PNAS 1999 96: 324-326, which is hereby incorporated by reference). In a most preferred embodiment, the viral vector is defective and will not transform non-proliferating cells, only proliferating cells. Moreover, in a preferred embodiment, the polynucleotides of the present invention inserted into proliferating cells either alone, or in combination with or fused to other polynucleotides, can then be modulated via an external stimulus (i.e. magnetic, specific small molecule, chemical, or drug administration, etc.), which acts upon the promoter upstream of said polynucleotides to induce expression of the encoded protein product. As such the beneficial therapeutic affect of the present invention may be expressly modulated (i.e. to increase, decrease, or inhibit expression of the present invention) based upon said external stimulus.

[702] Polynucleotides of the present invention may be useful in repressing expression of oncogenic genes or antigens. By "repressing expression of the oncogenic genes " is intended the suppression of the transcription of the gene, the degradation of the gene transcript (pre-message RNA), the inhibition of splicing, the destruction of the messenger RNA, the prevention of the post-translational modifications of the protein, the destruction of the protein, or the inhibition of the normal function of the protein.

[703] For local administration to abnormally proliferating cells, polynucleotides of the present invention may be administered by any method known to those of skill in the art

WO 02/02587

PCT/US01/20917

including, but not limited to transfection, electroporation, microinjection of cells, or in vehicles such as liposomes, lipofectin, or as naked polynucleotides, or any other method described throughout the specification. The polynucleotide of the present invention may be delivered by known gene delivery systems such as, but not limited to, retroviral vectors (Gilboa, *J. Virology* 44:845 (1982); Hocke, *Nature* 320:275 (1986); Wilson, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 85:3014), vaccinia virus system (Chakrabarty et al., *Mol. Cell Biol.* 5:3403 (1985) or other efficient DNA delivery systems (Yates et al., *Nature* 313:812 (1985)) known to those skilled in the art. These references are exemplary only and are hereby incorporated by reference. In order to specifically deliver or transfect cells which are abnormally proliferating and spare non-dividing cells, it is preferable to utilize a retrovirus, or adenoviral (as described in the art and elsewhere herein) delivery system known to those of skill in the art. Since host DNA replication is required for retroviral DNA to integrate and the retrovirus will be unable to self-replicate due to the lack of the retrovirus genes needed for its life cycle. Utilizing such a retroviral delivery system for polynucleotides of the present invention will target said gene and constructs to abnormally proliferating cells and will spare the non-dividing normal cells.

[704] The polynucleotides of the present invention may be delivered directly to cell proliferative disorder/disease sites in internal organs, body cavities and the like by use of imaging devices used to guide an injecting needle directly to the disease site. The polynucleotides of the present invention may also be administered to disease sites at the time of surgical intervention.

[705] By "cell proliferative disease" is meant any human or animal disease or disorder, affecting any one or any combination of organs, cavities, or body parts, which is characterized by single or multiple local abnormal proliferations of cells, groups of cells, or tissues, whether benign or malignant.

[706] Any amount of the polynucleotides of the present invention may be administered as long as it has a biologically inhibiting effect on the proliferation of the treated cells. Moreover, it is possible to administer more than one of the polynucleotide of the present invention simultaneously to the same site. By "biologically inhibiting" is meant partial or total growth inhibition as well as decreases in the rate of proliferation or growth of the cells. The biologically inhibitory dose may be determined by assessing the effects of the polynucleotides of the present invention on target malignant or abnormally proliferating cell

WO 02/02587

PCT/US01/20917

growth in tissue culture, tumor growth in animals and cell cultures, or any other method known to one of ordinary skill in the art.

[707] The present invention is further directed to antibody-based therapies which involve administering of anti-polypeptides and anti-polynucleotide antibodies to a mammalian, preferably human, patient for treating one or more of the described disorders. Methods for producing anti-polypeptides and anti-polynucleotide antibodies polyclonal and monoclonal antibodies are described in detail elsewhere herein. Such antibodies may be provided in pharmaceutically acceptable compositions as known in the art or as described herein.

[708] A summary of the ways in which the antibodies of the present invention may be used therapeutically includes binding polynucleotides or polypeptides of the present invention locally or systemically in the body or by direct cytotoxicity of the antibody, e.g. as mediated by complement (CDC) or by effector cells (ADCC). Some of these approaches are described in more detail below. Armed with the teachings provided herein, one of ordinary skill in the art will know how to use the antibodies of the present invention for diagnostic, monitoring or therapeutic purposes without undue experimentation.

[709] In particular, the antibodies, fragments and derivatives of the present invention are useful for treating a subject having or developing cell proliferative and/or differentiation disorders as described herein. Such treatment comprises administering a single or multiple doses of the antibody, or a fragment, derivative, or a conjugate thereof.

[710] The antibodies of this invention may be advantageously utilized in combination with other monoclonal or chimeric antibodies, or with lymphokines or hematopoietic growth factors, for example, which serve to increase the number or activity of effector cells which interact with the antibodies.

[711] It is preferred to use high affinity and/or potent *in vivo* inhibiting and/or neutralizing antibodies against polypeptides or polynucleotides of the present invention, fragments or regions thereof, for both immunoassays directed to and therapy of disorders related to polynucleotides or polypeptides, including fragments thereof, of the present invention. Such antibodies, fragments, or regions, will preferably have an affinity for polynucleotides or polypeptides, including fragments thereof. Preferred binding affinities include those with a dissociation constant or K_d less than $5 \times 10^{-6}M$, $10^{-6}M$, $5 \times 10^{-7}M$, $10^{-7}M$, $5 \times 10^{-8}M$, $10^{-8}M$, $5 \times 10^{-9}M$, $10^{-9}M$, $5 \times 10^{-10}M$, $10^{-10}M$, $5 \times 10^{-11}M$, $10^{-11}M$, $5 \times 10^{-12}M$, $10^{-12}M$, $5 \times 10^{-13}M$, $10^{-13}M$, $5 \times 10^{-14}M$, $10^{-14}M$, $5 \times 10^{-15}M$, and $10^{-15}M$.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[712] Moreover, polypeptides of the present invention are useful in inhibiting the angiogenesis of proliferative cells or tissues, either alone, as a protein fusion, or in combination with other polypeptides directly or indirectly, as described elsewhere herein. In a most preferred embodiment, said anti-angiogenesis effect may be achieved indirectly, for example, through the inhibition of hematopoietic, tumor-specific cells, such as tumor-associated macrophages (See Joseph IB, et al. *J Natl Cancer Inst*, 90(21):1648-53 (1998), which is hereby incorporated by reference). Antibodies directed to polypeptides or polynucleotides of the present invention may also result in inhibition of angiogenesis directly, or indirectly (See Witte L, et al., *Cancer Metastasis Rev*. 17(2):155-61 (1998), which is hereby incorporated by reference).

[713] Polypeptides, including protein fusions, of the present invention, or fragments thereof may be useful in inhibiting proliferative cells or tissues through the induction of apoptosis. Said polypeptides may act either directly, or indirectly to induce apoptosis of proliferative cells and tissues, for example in the activation of a death-domain receptor, such as tumor necrosis factor (TNF) receptor-1, CD95 (Fas/APO-1), TNF-receptor-related apoptosis-mediated protein (TRAMP) and TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) receptor-1 and -2 (See Schulze-Osthoff K, et al., *Eur J Biochem* 254(3):439-59 (1998), which is hereby incorporated by reference). Moreover, in another preferred embodiment of the present invention, said polypeptides may induce apoptosis through other mechanisms, such as in the activation of other proteins which will activate apoptosis, or through stimulating the expression of said proteins, either alone or in combination with small molecule drugs or adjuvants, such as apoptonin, galactins, thioredoxins, anti-inflammatory proteins (See for example, *Mutat Res* 400(1-2):447-55 (1998), *Med Hypotheses* 50(5):423-33 (1998), *Chem Biol Interact*. Apr 24;111-112:23-34 (1998), *J Mol Med* 76(6):402-12 (1998), *Int J Tissue React*;20(1):3-15 (1998), which are all hereby incorporated by reference).

[714] Polypeptides, including protein fusions to, or fragments thereof, of the present invention are useful in inhibiting the metastasis of proliferative cells or tissues. Inhibition may occur as a direct result of administering polypeptides, or antibodies directed to said polypeptides as described elsewhere herein, or indirectly, such as activating the expression of proteins known to inhibit metastasis, for example alpha 4 integrins, (See, e.g., *Curr Top Microbiol Immunol* 1998;231:125-41, which is hereby incorporated by reference). Such

WO 02/02587

PCT/US01/20917

therapeutic affects of the present invention may be achieved either alone, or in combination with small molecule drugs or adjuvants.

[715] In another embodiment, the invention provides a method of delivering compositions containing the polypeptides of the invention (e.g., compositions containing polypeptides or polypeptide antibodies associated with heterologous polypeptides, heterologous nucleic acids, toxins, or prodrugs) to targeted cells expressing the polypeptide of the present invention. Polypeptides or polypeptide antibodies of the invention may be associated with with heterologous polypeptides, heterologous nucleic acids, toxins, or prodrugs via hydrophobic, hydrophilic, ionic and/or covalent interactions.

[716] Polypeptides, protein fusions to, or fragments thereof, of the present invention are useful in enhancing the immunogenicity and/or antigenicity of proliferating cells or tissues, either directly, such as would occur if the polypeptides of the present invention 'vaccinated' the immune response to respond to proliferative antigens and immunogens, or indirectly, such as in activating the expression of proteins known to enhance the immune response (e.g. chemokines), to said antigens and immunogens.

Renal Disorders

[717] Polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention, may be used to treat, prevent, diagnose, and/or prognose disorders of the renal system. Renal disorders which can be diagnosed, prognosed, prevented, and/or treated with compositions of the invention include, but are not limited to, kidney failure, nephritis, blood vessel disorders of kidney, metabolic and congenital kidney disorders, urinary disorders of the kidney, autoimmune disorders, sclerosis and necrosis, electrolyte imbalance, and kidney cancers.

[718] Kidney diseases which can be diagnosed, prognosed, prevented, and/or treated with compositions of the invention include, but are not limited to, acute kidney failure, chronic kidney failure, atheroembolic renal failure, end-stage renal disease, inflammatory diseases of the kidney (e.g., acute glomerulonephritis, postinfectious glomerulonephritis, rapidly progressive glomerulonephritis, nephrotic syndrome, membranous glomerulonephritis, familial nephrotic syndrome, membranoproliferative glomerulonephritis I and II, mesangial proliferative glomerulonephritis, chronic glomerulonephritis, acute

WO 02/02587

PCT/US01/20917

tubulointerstitial nephritis, chronic tubulointerstitial nephritis, acute post-streptococcal glomerulonephritis (PSGN), pyelonephritis, lupus nephritis, chronic nephritis, interstitial nephritis, and post-streptococcal glomerulonephritis), blood vessel disorders of the kidneys (e.g., kidney infarction, atheroembolic kidney disease, cortical necrosis, malignant nephrosclerosis, renal vein thrombosis, renal underperfusion, renal retinopathy, renal ischemia-reperfusion, renal artery embolism, and renal artery stenosis), and kidney disorders resulting from urinary tract disease (e.g., pyelonephritis, hydronephrosis, urolithiasis (renal lithiasis, nephrolithiasis), reflux nephropathy, urinary tract infections, urinary retention, and acute or chronic unilateral obstructive uropathy.)

[719] In addition, compositions of the invention can be used to diagnose, prognose, prevent, and/or treat metabolic and congenital disorders of the kidney (e.g., uremia, renal amyloidosis, renal osteodystrophy, renal tubular acidosis, renal glycosuria, nephrogenic diabetes insipidus, cystinuria, Fanconi's syndrome, renal fibrocystic osteosis (renal rickets), Hartnup disease, Bartter's syndrome, Liddle's syndrome, polycystic kidney disease, medullary cystic disease, medullary sponge kidney, Alport's syndrome, nail-patella syndrome, congenital nephrotic syndrome, CRUSH syndrome, horseshoe kidney, diabetic nephropathy, nephrogenic diabetes insipidus, analgesic nephropathy, kidney stones, and membranous nephropathy), and autoimmune disorders of the kidney (e.g., systemic lupus erythematosus (SLE), Goodpasture syndrome, IgA nephropathy, and IgM mesangial proliferative glomerulonephritis).

[720] Compositions of the invention can also be used to diagnose, prognose, prevent, and/or treat sclerotic or necrotic disorders of the kidney (e.g., glomerulosclerosis, diabetic nephropathy, focal segmental glomerulosclerosis (FSGS), necrotizing glomerulonephritis, and renal papillary necrosis), cancers of the kidney (e.g., nephroma, hypenephroma, nephroblastoma, renal cell cancer, transitional cell cancer, renal adenocarcinoma, squamous cell cancer, and Wilm's tumor), and electrolyte imbalances (e.g., nephrocalcinosis, pyuria, edema, hydronephritis, proteinuria, hyponatremia, hypematremia, hypokalemia, hyperkalemia, hypocalcemia, hypercalcemia, hypophosphatemia, and hyperphosphatemia).

[721] Polypeptides may be administered using any method known in the art, including, but not limited to, direct needle injection at the delivery site, intravenous injection, topical administration, catheter infusion, biolistic injectors, particle accelerators, gelfoam sponge depots, other commercially available depot materials, osmotic pumps, oral or suppository

WO 02/02587

PCT/US01/20917

solid pharmaceutical formulations, decanting or topical applications during surgery, aerosol delivery. Such methods are known in the art. Polypeptides may be administered as part of a Therapeutic, described in more detail below. Methods of delivering polynucleotides are described in more detail herein.

Cardiovascular Disorders

[722] Polynucleotides or polypeptides, or agonists or antagonists of the present invention, may be used to treat, prevent, diagnose, and/or prognose cardiovascular disorders, including, but not limited to, peripheral artery disease, such as limb ischemia.

[723] Cardiovascular disorders include, but are not limited to, cardiovascular abnormalities, such as arterio-arterial fistula, arteriovenous fistula, cerebral arteriovenous malformations, congenital heart defects, pulmonary atresia, and Scimitar Syndrome. Congenital heart defects include, but are not limited to, aortic coarctation, cor triatriatum, coronary vessel anomalies, crisscross heart, dextrocardia, patent ductus arteriosus, Ebstein's anomaly, Eisenmenger complex, hypoplastic left heart syndrome, levocardia, tetralogy of fallot, transposition of great vessels, double outlet right ventricle, tricuspid atresia, persistent truncus arteriosus, and heart septal defects, such as aortopulmonary septal defect, endocardial cushion defects, Lutembacher's Syndrome, trilog of Fallot, ventricular heart septal defects.

[724] Cardiovascular disorders also include, but are not limited to, heart disease, such as arrhythmias, carcinoid heart disease, high cardiac output, low cardiac output, cardiac tamponade, endocarditis (including bacterial), heart aneurysm, cardiac arrest, congestive heart failure, congestive cardiomyopathy, paroxysmal dyspnea, cardiac edema, heart hypertrophy, congestive cardiomyopathy, left ventricular hypertrophy, right ventricular hypertrophy, post-infarction heart rupture, ventricular septal rupture, heart valve diseases, myocardial diseases, myocardial ischemia, pericardial effusion, pericarditis (including constrictive and tuberculous), pneumopericardium, postpericardiotomy syndrome, pulmonary heart disease, rheumatic heart disease, ventricular dysfunction, hyperemia, cardiovascular pregnancy complications, Scimitar Syndrome, cardiovascular syphilis, and cardiovascular tuberculosis.

[725] Arrhythmias include, but are not limited to, sinus arrhythmia, atrial fibrillation, atrial flutter, bradycardia, extrasystole, Adams-Stokes Syndrome, bundle-branch block,

WO 02/02587

PCT/US01/20917

sinoatrial block, long QT syndrome, parasystole, Lown-Ganong-Levine Syndrome, Mahaim-type pre-excitation syndrome, Wolff-Parkinson-White syndrome, sick sinus syndrome, tachycardias, and ventricular fibrillation. Tachycardias include paroxysmal tachycardia, supraventricular tachycardia, accelerated idioventricular rhythm, atrioventricular nodal reentry tachycardia, ectopic atrial tachycardia, ectopic junctional tachycardia, sinoatrial nodal reentry tachycardia, sinus tachycardia, Torsades de Pointes, and ventricular tachycardia.

[726] Heart valve diseases include, but are not limited to, aortic valve insufficiency, aortic valve stenosis, heart murmurs, aortic valve prolapse, mitral valve prolapse, tricuspid valve prolapse, mitral valve insufficiency, mitral valve stenosis, pulmonary atresia, pulmonary valve insufficiency, pulmonary valve stenosis, tricuspid atresia, tricuspid valve insufficiency, and tricuspid valve stenosis.

[727] Myocardial diseases include, but are not limited to, alcoholic cardiomyopathy, congestive cardiomyopathy, hypertrophic cardiomyopathy, aortic subvalvular stenosis, pulmonary subvalvular stenosis, restrictive cardiomyopathy, Chagas cardiomyopathy, endocardial fibroelastosis, endomyocardial fibrosis, Kearns Syndrome, myocardial reperfusion injury, and myocarditis.

[728] Myocardial ischemias include, but are not limited to, coronary disease, such as angina pectoris, coronary aneurysm, coronary arteriosclerosis, coronary thrombosis, coronary vasospasm, myocardial infarction and myocardial stunning.

[729] Cardiovascular diseases also include vascular diseases such as aneurysms, angiodyplasia, angiomatosis, bacillary angiomatosis, Hippel-Lindau Disease, Kippel-Trenaunay-Weber Syndrome, Sturge-Weber Syndrome, angioneurotic edema, aortic diseases, Takayasu's Arteritis, aortitis, Leriche's Syndrome, arterial occlusive diseases, arteritis, enarteritis, polyarteritis nodosa, cerebrovascular disorders, diabetic angiopathies, diabetic retinopathy, embolisms, thrombosis, erythromelalgia, hemorrhoids, hepatic veno-occlusive disease, hypertension, hypotension, ischemia, peripheral vascular diseases, phlebitis, pulmonary veno-occlusive disease, Raynaud's disease, CREST syndrome, retinal vein occlusion, Scimitar syndrome, superior vena cava syndrome, telangiectasia, ataxia telangiectasia, hereditary hemorrhagic telangiectasia, varicocele, varicose veins, varicose ulcer, vasculitis, and venous insufficiency.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[730] Aneurysms include, but are not limited to, dissecting aneurysms, false aneurysms, infected aneurysms, ruptured aneurysms, aortic aneurysms, cerebral aneurysms, coronary aneurysms, heart aneurysms, and iliac aneurysms.

[731] Arterial occlusive diseases include, but are not limited to, arteriosclerosis, intermittent claudication, carotid stenosis, fibromuscular dysplasias, mesenteric vascular occlusion, Moyamoya disease, renal artery obstruction, retinal artery occlusion, and thromboangiitis obliterans.

[732] Cerebrovascular disorders include, but are not limited to, carotid artery diseases, cerebral amyloid angiopathy, cerebral aneurysm, cerebral anoxia, cerebral arteriosclerosis, cerebral arteriovenous malformation, cerebral artery diseases, cerebral embolism and thrombosis, carotid artery thrombosis, sinus thrombosis, Wallenberg's syndrome, cerebral hemorrhage, epidural hematoma, subdural hematoma, subarachnoid hemorrhage, cerebral infarction, cerebral ischemia (including transient), subclavian steal syndrome, periventricular leukomalacia, vascular headache, cluster headache, migraine, and vertebrobasilar insufficiency.

[733] Embolisms include, but are not limited to, air embolisms, amniotic fluid embolisms, cholesterol embolisms, blue toe syndrome, fat embolisms, pulmonary embolisms, and thromboembolisms. Thrombosis include, but are not limited to, coronary thrombosis, hepatic vein thrombosis, retinal vein occlusion, carotid artery thrombosis, sinus thrombosis, Wallenberg's syndrome, and thrombophlebitis.

[734] Ischemic disorders include, but are not limited to, cerebral ischemia, ischemic colitis, compartment syndromes, anterior compartment syndrome, myocardial ischemia, reperfusion injuries, and peripheral limb ischemia. Vasculitis includes, but is not limited to, aortitis, arteritis, Behcet's Syndrome, Churg-Strauss Syndrome, mucocutaneous lymph node syndrome, thromboangiitis obliterans, hypersensitivity vasculitis, Schoenlein-Henoch purpura, allergic cutaneous vasculitis, and Wegener's granulomatosis.

[735] Polypeptides may be administered using any method known in the art, including, but not limited to, direct needle injection at the delivery site, intravenous injection, topical administration, catheter infusion, biolistic injectors, particle accelerators, gelfoam sponge depots, other commercially available depot materials, osmotic pumps, oral or suppository solid pharmaceutical formulations, decanting or topical applications during surgery, aerosol delivery. Such methods are known in the art. Polypeptides may be administered as part of a

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Therapeutic, described in more detail below. Methods of delivering polynucleotides are described in more detail herein.

Respiratory Disorders

[736] Polynucleotides or polypeptides, or agonists or antagonists of the present invention may be used to treat, prevent, diagnose, and/or prognose diseases and/or disorders of the respiratory system.

[737] Diseases and disorders of the respiratory system include, but are not limited to, nasal vestibulitis, nonallergic rhinitis (e.g., acute rhinitis, chronic rhinitis, atrophic rhinitis, vasomotor rhinitis), nasal polyps, and sinusitis, juvenile angiofibromas, cancer of the nose and juvenile papillomas, vocal cord polyps, nodules (singer's nodules), contact ulcers, vocal cord paralysis, laryngoceles, pharyngitis (e.g., viral and bacterial), tonsillitis, tonsillar cellulitis, parapharyngeal abscess, laryngitis, laryngoceles, and throat cancers (e.g., cancer of the nasopharynx, tonsil cancer, larynx cancer), lung cancer (e.g., squamous cell carcinoma, small cell (oat cell) carcinoma, large cell carcinoma, and adenocarcinoma), allergic disorders (eosinophilic pneumonia, hypersensitivity pneumonitis (e.g., extrinsic allergic alveolitis, allergic interstitial pneumonitis, organic dust pneumoconiosis, allergic bronchopulmonary aspergillosis, asthma, Wegener's granulomatosis (granulomatous vasculitis), Goodpasture's syndrome)), pneumonia (e.g., bacterial pneumonia (e.g., *Streptococcus pneumoniae* (pneumococcal pneumonia), *Staphylococcus aureus* (staphylococcal pneumonia), Gram-negative bacterial pneumonia (caused by, e.g., *Klebsiella* and *Pseudomonas spp.*), *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia, *Hemophilus influenzae* pneumonia, *Legionella pneumophila* (Legionnaires' disease), and *Chlamydia psittaci* (Psittacosis)), and viral pneumonia (e.g., influenza, chickenpox (varicella).

[738] Additional diseases and disorders of the respiratory system include, but are not limited to bronchiolitis, polio (poliomyelitis), croup, respiratory syncytial viral infection, mumps, erythema infectiosum (fifth disease), roseola infantum, progressive rubella panencephalitis, german measles, and subacute sclerosing panencephalitis), fungal pneumonia (e.g., Histoplasmosis, Coccidioidomycosis, Blastomycosis, fungal infections in people with severely suppressed immune systems (e.g., cryptococcosis, caused by *Cryptococcus neoformans*; aspergillosis, caused by *Aspergillus spp.*; candidiasis, caused by

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Candida; and mucormycosis)), *Pneumocystis carinii* (pneumocystis pneumonia), atypical pneumonias (e.g., *Mycoplasma* and *Chlamydia* spp.), opportunistic infection pneumonia, nosocomial pneumonia, chemical pneumonitis, and aspiration pneumonia, pleural disorders (e.g., pleurisy, pleural effusion, and pneumothorax (e.g., simple spontaneous pneumothorax, complicated spontaneous pneumothorax, tension pneumothorax)), obstructive airway diseases (e.g., asthma, chronic obstructive pulmonary disease (COPD), emphysema, chronic or acute bronchitis), occupational lung diseases (e.g., silicosis, black lung (coal workers' pneumoconiosis), asbestosis, berylliosis, occupational asthma, byssinosis, and benign pneumoconiosis), Infiltrative Lung Disease (e.g., pulmonary fibrosis (e.g., fibrosing alveolitis, usual interstitial pneumonia), idiopathic pulmonary fibrosis, desquamative interstitial pneumonia, lymphoid interstitial pneumonia, histiocytosis X (e.g., Letterer-Siwe disease, Hand-Schüller-Christian disease, eosinophilic granuloma), idiopathic pulmonary hemosiderosis, sarcoidosis and pulmonary alveolar proteinosis), Acute respiratory distress syndrome (also called, e.g., adult respiratory distress syndrome), edema, pulmonary embolism, bronchitis (e.g., viral, bacterial), bronchiectasis, atelectasis, lung abscess (caused by, e.g., *Staphylococcus aureus* or *Legionella pneumophila*), and cystic fibrosis.

Anti-Angiogenesis Activity

[739] The naturally occurring balance between endogenous stimulators and inhibitors of angiogenesis is one in which inhibitory influences predominate. Rastinejad *et al.*, *Cell* 56:345-355 (1989). In those rare instances in which neovascularization occurs under normal physiological conditions, such as wound healing, organ regeneration, embryonic development, and female reproductive processes, angiogenesis is stringently regulated and spatially and temporally delimited. Under conditions of pathological angiogenesis such as that characterizing solid tumor growth, these regulatory controls fail. Unregulated angiogenesis becomes pathologic and sustains progression of many neoplastic and non-neoplastic diseases. A number of serious diseases are dominated by abnormal neovascularization including solid tumor growth and metastases, arthritis, some types of eye disorders, and psoriasis. See, e.g., reviews by Moses *et al.*, *Biotech.* 9:630-634 (1991); Folkman *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 333:1757-1763 (1995); Auerbach *et al.*, *J. Microvasc. Res.* 29:401-411 (1985); Folkman, *Advances in Cancer Research*, eds. Klein and Weinhouse,

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Academic Press, New York, pp. 175-203 (1985); Patz, *Am. J. Ophthalmol.* 94:715-743 (1982); and Folkman *et al.*, *Science* 221:719-725 (1983). In a number of pathological conditions, the process of angiogenesis contributes to the disease state. For example, significant data have accumulated which suggest that the growth of solid tumors is dependent on angiogenesis. Folkman and Klagsbrun, *Science* 235:442-447 (1987).

[740] The present invention provides for treatment of diseases or disorders associated with neovascularization by administration of the polynucleotides and/or polypeptides of the invention, as well as agonists or antagonists of the present invention. Malignant and metastatic conditions which can be treated with the polynucleotides and polypeptides, or agonists or antagonists of the invention include, but are not limited to, malignancies, solid tumors, and cancers described herein and otherwise known in the art (for a review of such disorders, see Fishman *et al.*, *Medicine*, 2d Ed., J. B. Lippincott Co., Philadelphia (1985)). Thus, the present invention provides a method of treating an angiogenesis-related disease and/or disorder, comprising administering to an individual in need thereof a therapeutically effective amount of a polynucleotide, polypeptide, antagonist and/or agonist of the invention. For example, polynucleotides, polypeptides, antagonists and/or agonists may be utilized in a variety of additional methods in order to therapeutically treat a cancer or tumor. Cancers which may be treated with polynucleotides, polypeptides, antagonists and/or agonists include, but are not limited to solid tumors, including prostate, lung, breast, ovarian, stomach, pancreas, larynx, esophagus, testes, liver, parotid, biliary tract, colon, rectum, cervix, uterus, endometrium, kidney, bladder, thyroid cancer; primary tumors and metastases; melanomas; glioblastoma; Kaposi's sarcoma; leiomyosarcoma; non-small cell lung cancer; colorectal cancer; advanced malignancies; and blood born tumors such as leukemias. For example, polynucleotides, polypeptides, antagonists and/or agonists may be delivered topically, in order to treat cancers such as skin cancer, head and neck tumors, breast tumors, and Kaposi's sarcoma.

[741] Within yet other aspects, polynucleotides, polypeptides, antagonists and/or agonists may be utilized to treat superficial forms of bladder cancer by, for example, intravesical administration. Polynucleotides, polypeptides, antagonists and/or agonists may be delivered directly into the tumor, or near the tumor site, via injection or a catheter. Of course, as the artisan of ordinary skill will appreciate, the appropriate mode of administration will vary according to the cancer to be treated. Other modes of delivery are discussed herein.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[742] Polynucleotides, polypeptides, antagonists and/or agonists may be useful in treating other disorders, besides cancers, which involve angiogenesis. These disorders include, but are not limited to: benign tumors, for example hemangiomas, acoustic neuromas, neurofibromas, trachomas, and pyogenic granulomas; arteriosclerotic plaques; ocular angiogenic diseases, for example, diabetic retinopathy, retinopathy of prematurity, macular degeneration, corneal graft rejection, neovascular glaucoma, retrolental fibroplasia, rubeosis, retinoblastoma, uveitis and Pterygia (abnormal blood vessel growth) of the eye; rheumatoid arthritis; psoriasis; delayed wound healing; endometriosis; vasculogenesis; granulations; hypertrophic scars (keloids); nonunion fractures; scleroderma; trachoma; vascular adhesions; myocardial angiogenesis; coronary collaterals; cerebral collaterals; arteriovenous malformations; ischemic limb angiogenesis; Osler-Webber Syndrome; plaque neovascularization; telangiectasia; hemophilic joints; angiofibroma; fibromuscular dysplasia; wound granulation; Crohn's disease; and atherosclerosis.

[743] For example, within one aspect of the present invention methods are provided for treating hypertrophic scars and keloids, comprising the step of administering a polynucleotide, polypeptide, antagonist and/or agonist of the invention to a hypertrophic scar or keloid.

[744] Within one embodiment of the present invention polynucleotides, polypeptides, antagonists and/or agonists of the invention are directly injected into a hypertrophic scar or keloid, in order to prevent the progression of these lesions. This therapy is of particular value in the prophylactic treatment of conditions which are known to result in the development of hypertrophic scars and keloids (e.g., burns), and is preferably initiated after the proliferative phase has had time to progress (approximately 14 days after the initial injury), but before hypertrophic scar or keloid development. As noted above, the present invention also provides methods for treating neovascular diseases of the eye, including for example, corneal neovascularization, neovascular glaucoma, proliferative diabetic retinopathy, retrolental fibroplasia and macular degeneration.

[745] Moreover, Ocular disorders associated with neovascularization which can be treated with the polynucleotides and polypeptides of the present invention (including agonists and/or antagonists) include, but are not limited to: neovascular glaucoma, diabetic retinopathy, retinoblastoma, retrolental fibroplasia, uveitis, retinopathy of prematurity macular degeneration, corneal graft neovascularization, as well as other eye inflammatory

WO 02/02587

PCT/US01/20917

diseases, ocular tumors and diseases associated with choroidal or iris neovascularization. See, e.g., reviews by Walman *et al.*, *Am. J. Ophthalmol.* 83:704-710 (1978) and Gartner *et al.*, *Surv. Ophthalmol.* 22:291-312 (1978).

[746] Thus, within one aspect of the present invention methods are provided for treating neovascular diseases of the eye such as corneal neovascularization (including corneal graft neovascularization), comprising the step of administering to a patient a therapeutically effective amount of a compound (as described above) to the cornea, such that the formation of blood vessels is inhibited. Briefly, the cornea is a tissue which normally lacks blood vessels. In certain pathological conditions however, capillaries may extend into the cornea from the pericorneal vascular plexus of the limbus. When the cornea becomes vascularized, it also becomes clouded, resulting in a decline in the patient's visual acuity. Visual loss may become complete if the cornea completely opacitates. A wide variety of disorders can result in corneal neovascularization, including for example, corneal infections (e.g., trachoma, herpes simplex keratitis, leishmaniasis and onchocerciasis), immunological processes (e.g., graft rejection and Stevens-Johnson's syndrome), alkali burns, trauma, inflammation (of any cause), toxic and nutritional deficiency states, and as a complication of wearing contact lenses.

[747] Within particularly preferred embodiments of the invention, may be prepared for topical administration in saline (combined with any of the preservatives and antimicrobial agents commonly used in ocular preparations), and administered in eyedrop form. The solution or suspension may be prepared in its pure form and administered several times daily. Alternatively, anti-angiogenic compositions, prepared as described above, may also be administered directly to the cornea. Within preferred embodiments, the anti-angiogenic composition is prepared with a muco-adhesive polymer which binds to cornea. Within further embodiments, the anti-angiogenic factors or anti-angiogenic compositions may be utilized as an adjunct to conventional steroid therapy. Topical therapy may also be useful prophylactically in corneal lesions which are known to have a high probability of inducing an angiogenic response (such as chemical burns). In these instances the treatment, likely in combination with steroids, may be instituted immediately to help prevent subsequent complications.

[748] Within other embodiments, the compounds described above may be injected directly into the corneal stroma by an ophthalmologist under microscopic guidance. The

WO 02/02587

PCT/US01/20917

preferred site of injection may vary with the morphology of the individual lesion, but the goal of the administration would be to place the composition at the advancing front of the vasculature (i.e., interspersed between the blood vessels and the normal cornea). In most cases this would involve perilimbic corneal injection to "protect" the cornea from the advancing blood vessels. This method may also be utilized shortly after a corneal insult in order to prophylactically prevent corneal neovascularization. In this situation the material could be injected in the perilimbic cornea interspersed between the corneal lesion and its undesired potential limbic blood supply. Such methods may also be utilized in a similar fashion to prevent capillary invasion of transplanted corneas. In a sustained-release form injections might only be required 2-3 times per year. A steroid could also be added to the injection solution to reduce inflammation resulting from the injection itself.

[749] Within another aspect of the present invention, methods are provided for treating neovascular glaucoma, comprising the step of administering to a patient a therapeutically effective amount of a polynucleotide, polypeptide, antagonist and/or agonist to the eye, such that the formation of blood vessels is inhibited. In one embodiment, the compound may be administered topically to the eye in order to treat early forms of neovascular glaucoma. Within other embodiments, the compound may be implanted by injection into the region of the anterior chamber angle. Within other embodiments, the compound may also be placed in any location such that the compound is continuously released into the aqueous humor. Within another aspect of the present invention, methods are provided for treating proliferative diabetic retinopathy, comprising the step of administering to a patient a therapeutically effective amount of a polynucleotide, polypeptide, antagonist and/or agonist to the eyes, such that the formation of blood vessels is inhibited.

[750] Within particularly preferred embodiments of the invention, proliferative diabetic retinopathy may be treated by injection into the aqueous humor or the vitreous, in order to increase the local concentration of the polynucleotide, polypeptide, antagonist and/or agonist in the retina. Preferably, this treatment should be initiated prior to the acquisition of severe disease requiring photocoagulation.

[751] Within another aspect of the present invention, methods are provided for treating retrolental fibroplasia, comprising the step of administering to a patient a therapeutically effective amount of a polynucleotide, polypeptide, antagonist and/or agonist to the eye, such

WO 02/02587

PCT/US01/20917

that the formation of blood vessels is inhibited. The compound may be administered topically, via intravitreal injection and/or via intraocular implants.

[752] Additionally, disorders which can be treated with the polynucleotides, polypeptides, agonists and/or antagonists include, but are not limited to, hemangioma, arthritis, psoriasis, angiofibroma, atherosclerotic plaques, delayed wound healing, granulations, hemophilic joints, hypertrophic scars, nonunion fractures, Osler-Weber syndrome, pyogenic granuloma, scleroderma, trachoma, and vascular adhesions.

[753] Moreover, disorders and/or states, which can be treated, prevented, diagnosed, and/or prognosed with the the polynucleotides, polypeptides, agonists and/or antagonists of the invention include, but are not limited to, solid tumors, blood born tumors such as leukemias, tumor metastasis, Kaposi's sarcoma, benign tumors, for example hemangiomas, acoustic neuromas, neurofibromas, trachomas, and pyogenic granulomas, rheumatoid arthritis, psoriasis, ocular angiogenic diseases, for example, diabetic retinopathy, retinopathy of prematurity, macular degeneration, corneal graft rejection, neovascular glaucoma, retrolental fibroplasia, rubeosis, retinoblastoma, and uveitis, delayed wound healing, endometriosis, vasculogenesis, granulations, hypertrophic scars (keloids), nonunion fractures, scleroderma, trachoma, vascular adhesions, myocardial angiogenesis, coronary collaterals, cerebral collaterals, arteriovenous malformations, ischemic limb angiogenesis, Osler-Weber Syndrome, plaque neovascularization, telangiectasia, hemophilic joints, angiofibroma fibromuscular dysplasia, wound granulation, Crohn's disease, atherosclerosis, birth control agent by preventing vascularization required for embryo implantation controlling menstruation, diseases that have angiogenesis as a pathologic consequence such as cat scratch disease (Rochele mimalia quintosa), ulcers (Helicobacter pylori), Bartonellosis and bacillary angiomatosis.

[754] In one aspect of the birth control method, an amount of the compound sufficient to block embryo implantation is administered before or after intercourse and fertilization have occurred, thus providing an effective method of birth control, possibly a "morning after" method. Polynucleotides, polypeptides, agonists and/or antagonists may also be used in controlling menstruation or administered as either a peritoneal lavage fluid or for peritoneal implantation in the treatment of endometriosis.

[755] Polynucleotides, polypeptides, agonists and/or antagonists of the present invention may be incorporated into surgical sutures in order to prevent stitch granulomas.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[756] Polynucleotides, polypeptides, agonists and/or agonists may be utilized in a wide variety of surgical procedures. For example, within one aspect of the present invention a composition (in the form of, for example, a spray or film) may be utilized to coat or spray an area prior to removal of a tumor, in order to isolate normal surrounding tissues from malignant tissue, and/or to prevent the spread of disease to surrounding tissues. Within other aspects of the present invention, compositions (e.g., in the form of a spray) may be delivered via endoscopic procedures in order to coat tumors, or inhibit angiogenesis in a desired locale. Within yet other aspects of the present invention, surgical meshes which have been coated with anti-angiogenic compositions of the present invention may be utilized in any procedure wherein a surgical mesh might be utilized. For example, within one embodiment of the invention a surgical mesh laden with an anti-angiogenic composition may be utilized during abdominal cancer resection surgery (e.g., subsequent to colon resection) in order to provide support to the structure, and to release an amount of the anti-angiogenic factor.

[757] Within further aspects of the present invention, methods are provided for treating tumor excision sites, comprising administering a polynucleotide, polypeptide, agonist and/or agonist to the resection margins of a tumor subsequent to excision, such that the local recurrence of cancer and the formation of new blood vessels at the site is inhibited. Within one embodiment of the invention, the anti-angiogenic compound is administered directly to the tumor excision site (e.g., applied by swabbing, brushing or otherwise coating the resection margins of the tumor with the anti-angiogenic compound). Alternatively, the anti-angiogenic compounds may be incorporated into known surgical pastes prior to administration. Within particularly preferred embodiments of the invention, the anti-angiogenic compounds are applied after hepatic resections for malignancy, and after neurosurgical operations.

[758] Within one aspect of the present invention, polynucleotides, polypeptides, agonists and/or agonists may be administered to the resection margin of a wide variety of tumors, including for example, breast, colon, brain and hepatic tumors. For example, within one embodiment of the invention, anti-angiogenic compounds may be administered to the site of a neurological tumor subsequent to excision, such that the formation of new blood vessels at the site are inhibited.

[759] The polynucleotides, polypeptides, agonists and/or agonists of the present invention may also be administered along with other anti-angiogenic factors. Representative

WO 02/02587

PCT/US01/20917

examples of other anti-angiogenic factors include: Anti-Invasive Factor, retinoic acid and derivatives thereof, paclitaxel, Suramin, Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-1, Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-2, Plasminogen Activator Inhibitor-1, Plasminogen Activator Inhibitor-2, and various forms of the lighter "d group" transition metals.

[760] Lighter "d group" transition metals include, for example, vanadium, molybdenum, tungsten, titanium, niobium, and tantalum species. Such transition metal species may form transition metal complexes. Suitable complexes of the above-mentioned transition metal species include oxo transition metal complexes.

[761] Representative examples of vanadium complexes include oxo vanadium complexes such as vanadate and vanadyl complexes. Suitable vanadate complexes include metavanadate and orthovanadate complexes such as, for example, ammonium metavanadate, sodium metavanadate, and sodium orthovanadate. Suitable vanadyl complexes include, for example, vanadyl acetylacetonate and vanadyl sulfate including vanadyl sulfate hydrates such as vanadyl sulfate mono- and trihydrates.

[762] Representative examples of tungsten and molybdenum complexes also include oxo complexes. Suitable oxo tungsten complexes include tungstate and tungsten oxide complexes. Suitable tungstate complexes include ammonium tungstate, calcium tungstate, sodium tungstate dihydrate, and tungstic acid. Suitable tungsten oxides include tungsten (IV) oxide and tungsten (VI) oxide. Suitable oxo molybdenum complexes include molybdate, molybdenum oxide, and molybdenyl complexes. Suitable molybdate complexes include ammonium molybdate and its hydrates, sodium molybdate and its hydrates, and potassium molybdate and its hydrates. Suitable molybdenum oxides include molybdenum (VI) oxide, molybdenum (VI) oxide, and molybdic acid. Suitable molybdenyl complexes include, for example, molybdenyl acetylacetonate. Other suitable tungsten and molybdenum complexes include hydroxo derivatives derived from, for example, glycerol, tartaric acid, and sugars.

[763] A wide variety of other anti-angiogenic factors may also be utilized within the context of the present invention. Representative examples include platelet factor 4; protamine sulphate; sulphated chitin derivatives (prepared from queen crab shells), (Murata et al., Cancer Res. 51:22-26, 1991); Sulphated Polysaccharide Peptidoglycan Complex (SP-PG) (the function of this compound may be enhanced by the presence of steroids such as estrogen, and tamoxifen citrate); Staurosporine; modulators of matrix metabolism, including for example, proline analogs, cis-hydroxyproline, d,L-3,4-dihydroxyproline, Thiaproline,

WO 02/02587

PCT/US01/20917

alpha.alpha-dipyridyl, aminopropionitrile fumarate, 4-propyl-5-(4-pyridinyl)-2(3H)-oxazolone; Methotrexate; Mitoxantrone; Heparin; Interferons; 2 Macroglobulin-serum; ChIMP-3 (Pavloff et al., J. Bio. Chem. 267:17321-17326, 1992); Chymostatin (Tomkinson et al., Biochem J. 286:475-480, 1992); Cyclodextrin Tetradecasulfate; Eponenynein; Camptothecin; Fumagillin (Ingber et al., Nature 348:555-557, 1990); Gold Sodium Thiomalate ("GST"; Matsubara and Ziff, J. Clin. Invest. 79:1440-1446, 1987); anticollagenase-serum; alpha2-antiplasmin (Holmes et al., J. Biol. Chem. 262(4):1659-1664, 1987); Bisantrene (National Cancer Institute); Lobenzarit disodium (N-(2)-carboxyphenyl-4-chloroanthranilic acid disodium or "CCA"; Takeuchi et al., Agents Actions 36:312-316, 1992); Thalidomide; Angostatic steroid; AGM-1470; carboxyaminoimidazole; and metalloproteinase inhibitors such as BB94.

Diseases at the Cellular Level

[764] Diseases associated with increased cell survival or the inhibition of apoptosis that could be treated, prevented, diagnosed, and/or prognosed using polynucleotides or polypeptides, as well as antagonists or agonists of the present invention, include cancers (such as follicular lymphomas, carcinomas with p53 mutations, and hormone-dependent tumors, including, but not limited to colon cancer, cardiac tumors, pancreatic cancer, melanoma, retinoblastoma, glioblastoma, lung cancer, intestinal cancer, testicular cancer, stomach cancer, neuroblastoma, myxoma, myoma, lymphoma, endothelioma, osteoblastoma, osteoclastoma, osteosarcoma, chondrosarcoma, adenoma, breast cancer, prostate cancer, Kaposi's sarcoma and ovarian cancer); autoimmune disorders (such as, multiple sclerosis, Sjogren's syndrome, Hashimoto's thyroiditis, biliary cirrhosis, Behcet's disease, Crohn's disease, polymyositis, systemic lupus erythematosus and immune-related glomerulonephritis and rheumatoid arthritis) and viral infections (such as herpes viruses, pox viruses and adenoviruses), inflammation, graft v. host disease, acute graft rejection, and chronic graft rejection.

[765] In preferred embodiments, polynucleotides, polypeptides, and/or antagonists of the invention are used to inhibit growth, progression, and/or metastasis of cancers, in particular those listed above.

[766] Additional diseases or conditions associated with increased cell survival that could be treated or detected by polynucleotides or polypeptides, or agonists or antagonists of the

WO 02/02587

PCT/US01/20917

present invention include, but are not limited to, progression, and/or metastases of malignancies and related disorders such as leukemia (including acute leukemias (e.g., acute lymphocytic leukemia, acute myelocytic leukemia (including myeloblastic, promyelocytic, myelomonocytic, monocytic, and erythroleukemia)) and chronic leukemias (e.g., chronic myelocytic (granulocytic) leukemia and chronic lymphocytic leukemia)), polycythemia vera, lymphomas (e.g., Hodgkin's disease and non-Hodgkin's disease), multiple myeloma, Waldenstrom's macroglobulinemia, heavy chain disease, and solid tumors including, but not limited to, sarcomas and carcinomas such as fibrosarcoma, myxosarcoma, liposarcoma, chondrosarcoma, osteogenic sarcoma, chondroma, angiosarcoma, endotheliosarcoma, lymphangiosarcoma, lymphangiocudtheliosarcoma, synovioma, mesothelioma, Ewing's tumor, leiomyosarcoma, rhabdomyosarcoma, colon carcinoma, pancreatic cancer, breast cancer, ovarian cancer, prostate cancer, squamous cell carcinoma, basal cell carcinoma, adenocarcinoma, sweat gland carcinoma, sebaceous gland carcinoma, papillary carcinoma, papillary adenocarcinomas, cystadenocarcinoma, medullary carcinoma, bronchogenic carcinoma, renal cell carcinoma, hepatoma, bile duct carcinoma, choriocarcinoma, seminoma, embryonal carcinoma, Wilms' tumor, cervical cancer, testicular tumor, lung carcinoma, small cell lung carcinoma, bladder carcinoma, epithelial carcinoma, glioma, astrocytoma, medulloblastoma, craniopharyngioma, ependymoma, pinealoma, hemangioblastoma, acoustic neuroma, oligodendroglioma, meningioma, melanoma, neuroblastoma, and retinoblastoma.

[767] Diseases associated with increased apoptosis that could be treated, prevented, diagnosed, and/or prognosed using polynucleotides or polypeptides, as well as agonists or antagonists of the present invention, include, but are not limited to, AIDS; neurodegenerative disorders (such as Alzheimer's disease, Parkinson's disease, Amyotrophic lateral sclerosis, Retinitis pigmentosa, Cerebellar degeneration and brain tumor or prior associated disease); autoimmune disorders (such as, multiple sclerosis, Sjogren's syndrome, Hashimoto's thyroiditis, biliary cirrhosis, Behcet's disease, Crohn's disease, polymyositis, systemic lupus erythematosus and immune-related glomerulonephritis and rheumatoid arthritis) myelodysplastic syndromes (such as aplastic anemia), graft v. host disease, ischemic injury (such as that caused by myocardial infarction, stroke and reperfusion injury), liver injury (e.g., hepatitis related liver injury, ischemia/reperfusion injury, cholestasis (bile duct injury)

WO 02/02587

PCT/US01/20917

and liver cancer); toxin-induced liver disease (such as that caused by alcohol), septic shock, cachexia and anorexia.

Wound Healing and Epithelial Cell Proliferation

[768] In accordance with yet a further aspect of the present invention, there is provided a process for utilizing polynucleotides or polypeptides, as well as agonists or antagonists of the present invention, for therapeutic purposes, for example, to stimulate epithelial cell proliferation and basal keratinocytes for the purpose of wound healing, and to stimulate hair follicle production and healing of dermal wounds. Polynucleotides or polypeptides, as well as agonists or antagonists of the present invention, may be clinically useful in stimulating wound healing including surgical wounds, excisional wounds, deep wounds involving damage of the dermis and epidermis, eye tissue wounds, dental tissue wounds, oral cavity wounds, diabetic ulcers, dermal ulcers, cubitus ulcers, arterial ulcers, venous stasis ulcers, burns resulting from heat exposure or chemicals, and other abnormal wound healing conditions such as uremia, malnutrition, vitamin deficiencies and complications associated with systemic treatment with steroids, radiation therapy and antineoplastic drugs and antimetabolites. Polynucleotides or polypeptides, as well as agonists or antagonists of the present invention, could be used to promote dermal reestablishment subsequent to dermal loss

[769] Polynucleotides or polypeptides, as well as agonists or antagonists of the present invention, could be used to increase the adherence of skin grafts to a wound bed and to stimulate re-epithelialization from the wound bed. The following are types of grafts that polynucleotides or polypeptides, agonists or antagonists of the present invention, could be used to increase adherence to a wound bed: autografts, artificial skin, allografts, autodermic graft, autoepidermic grafts, avascular grafts, Blair-Brown grafts, bone graft, brephoplastic grafts, cutis graft, delayed graft, dermic graft, epidermic graft, fascia graft, full thickness graft, heterologous graft, xenograft, homologous graft, hyperplastic graft, lamellar graft, mesh graft, mucosal graft, Ollicr-Thiersch graft, omentum graft, patch graft, pedicle graft, penetrating graft, split skin graft, thick split graft. Polynucleotides or polypeptides, as well as agonists or antagonists of the present invention, can be used to promote skin strength and to improve the appearance of aged skin.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[770] It is believed that polynucleotides or polypeptides, as well as agonists or antagonists of the present invention, will also produce changes in hepatocyte proliferation, and epithelial cell proliferation in the lung, breast, pancreas, stomach, small intestine, and large intestine. Polynucleotides or polypeptides, as well as agonists or antagonists of the present invention, could promote proliferation of epithelial cells such as sebocytes, hair follicles, hepatocytes, type II pneumocytes, mucin-producing goblet cells, and other epithelial cells and their progenitors contained within the skin, lung, liver, and gastrointestinal tract. Polynucleotides or polypeptides, agonists or antagonists of the present invention, may promote proliferation of endothelial cells, keratinocytes, and basal keratinocytes.

[771] Polynucleotides or polypeptides, as well as agonists or antagonists of the present invention, could also be used to reduce the side effects of gut toxicity that result from radiation, chemotherapy treatments or viral infections. Polynucleotides or polypeptides, as well as agonists or antagonists of the present invention, may have a cytoprotective effect on the small intestine mucosa. Polynucleotides or polypeptides, as well as agonists or antagonists of the present invention, may also stimulate healing of mucositis (mouth ulcers) that result from chemotherapy and viral infections.

[772] Polynucleotides or polypeptides, as well as agonists or antagonists of the present invention, could further be used in full regeneration of skin in full and partial thickness skin defects, including burns, (i.e., repopulation of hair follicles, sweat glands, and sebaceous glands), treatment of other skin defects such as psoriasis. Polynucleotides or polypeptides, as well as agonists or antagonists of the present invention, could be used to treat epidermolysis bullosa, a defect in adherence of the epidermis to the underlying dermis which results in frequent, open and painful blisters by accelerating reepithelialization of these lesions. Polynucleotides or polypeptides, as well as agonists or antagonists of the present invention, could also be used to treat gastric and duodenal ulcers and help heal by scar formation of the mucosal lining and regeneration of glandular mucosa and duodenal mucosal lining more rapidly. Inflammatory bowel diseases, such as Crohn's disease and ulcerative colitis, are diseases which result in destruction of the mucosal surface of the small or large intestine, respectively. Thus, polynucleotides or polypeptides, as well as agonists or antagonists of the present invention, could be used to promote the resurfacing of the mucosal surface to aid more rapid healing and to prevent progression of inflammatory bowel disease. Treatment with polynucleotides or polypeptides, agonists or antagonists of the present invention, is

WO 02/02587

PCT/US01/20917

expected to have a significant effect on the production of mucus throughout the gastrointestinal tract and could be used to protect the intestinal mucosa from injurious substances that are ingested or following surgery. Polynucleotides or polypeptides, as well as agonists or antagonists of the present invention, could be used to treat diseases associated with the under expression.

[773] Moreover, polynucleotides or polypeptides, as well as agonists or antagonists of the present invention, could be used to prevent and heal damage to the lungs due to various pathological states. Polynucleotides or polypeptides, as well as agonists or antagonists of the present invention, which could stimulate proliferation and differentiation and promote the repair of alveoli and bronchiolar epithelium to prevent or treat acute or chronic lung damage. For example, emphysema, which results in the progressive loss of alveoli, and inhalation injuries, i.e., resulting from smoke inhalation and burns, that cause necrosis of the bronchiolar epithelium and alveoli could be effectively treated using polynucleotides or polypeptides, agonists or antagonists of the present invention. Also, polynucleotides or polypeptides, as well as agonists or antagonists of the present invention, could be used to stimulate the proliferation of and differentiation of type II pneumocytes, which may help treat or prevent disease such as hyaline membrane diseases, such as infant respiratory distress syndrome and bronchopulmonary dysplasia, in premature infants.

[774] Polynucleotides or polypeptides, as well as agonists or antagonists of the present invention, could stimulate the proliferation and differentiation of hepatocytes and, thus, could be used to alleviate or treat liver diseases and pathologies such as fulminant liver failure caused by cirrhosis, liver damage caused by viral hepatitis and toxic substances (i.e., acetaminophen, carbon tetrachloride and other hepatotoxins known in the art).

[775] In addition, polynucleotides or polypeptides, as well as agonists or antagonists of the present invention, could be used to treat or prevent the onset of diabetes mellitus. In patients with newly diagnosed Types I and II diabetes, where some islet cell function remains, polynucleotides or polypeptides, as well as agonists or antagonists of the present invention, could be used to maintain the islet function so as to alleviate, delay or prevent permanent manifestation of the disease. Also, polynucleotides or polypeptides, as well as agonists or antagonists of the present invention, could be used as an auxiliary in islet cell transplantation to improve or promote islet cell function.

Neural Activity and Neurological Diseases

[776] The polynucleotides, polypeptides and agonists or antagonists of the invention may be used for the diagnosis and/or treatment of diseases, disorders, damage or injury of the brain and/or nervous system. Nervous system disorders that can be treated with the compositions of the invention (e.g., polypeptides, polynucleotides, and/or agonists or antagonists), include, but are not limited to, nervous system injuries, and diseases or disorders which result in either a disconnection of axons, a diminution or degeneration of neurons, or demyelination. Nervous system lesions which may be treated in a patient (including human and non-human mammalian patients) according to the methods of the invention, include but are not limited to, the following lesions of either the central (including spinal cord, brain) or peripheral nervous systems: (1) ischemic lesions, in which a lack of oxygen in a portion of the nervous system results in neuronal injury or death, including cerebral infarction or ischemia, or spinal cord infarction or ischemia; (2) traumatic lesions, including lesions caused by physical injury or associated with surgery, for example, lesions which sever a portion of the nervous system, or compression injuries; (3) malignant lesions, in which a portion of the nervous system is destroyed or injured by malignant tissue which is either a nervous system associated malignancy or a malignancy derived from non-nervous system tissue; (4) infectious lesions, in which a portion of the nervous system is destroyed or injured as a result of infection, for example, by an abscess or associated with infection by human immunodeficiency virus, herpes zoster, or herpes simplex virus or with Lyme disease, tuberculosis, or syphilis; (5) degenerative lesions, in which a portion of the nervous system is destroyed or injured as a result of a degenerative process including but not limited to, degeneration associated with Parkinson's disease, Alzheimer's disease, Huntington's chorea, or amyotrophic lateral sclerosis (ALS); (6) lesions associated with nutritional diseases or disorders, in which a portion of the nervous system is destroyed or injured by a nutritional disorder or disorder of metabolism including, but not limited to, vitamin B12 deficiency, folic acid deficiency, Wernicke disease, tobacco-alcohol amblyopia, Marchiafava-Bignami disease (primary degeneration of the corpus callosum), and alcoholic cerebellar degeneration; (7) neurological lesions associated with systemic diseases including, but not limited to, diabetes (diabetic neuropathy, Bell's palsy), systemic lupus erythematosus, carcinoma, or sarcoidosis; (8) lesions caused by toxic substances including alcohol, lead, or particular neurotoxins; and (9) demyelinated lesions in which a portion of the nervous system is destroyed or injured by

WO 02/02587

PCT/US01/20917

a demyelinating disease including, but not limited to, multiple sclerosis, human immunodeficiency virus-associated myelopathy, transverse myelopathy or various etiologies, progressive multifocal leukoencephalopathy, and central pontine myelinolysis.

[777] In one embodiment, the polypeptides, polynucleotides, or agonists or antagonists of the invention are used to protect neural cells from the damaging effects of hypoxia. In a further preferred embodiment, the polypeptides, polynucleotides, or agonists or antagonists of the invention are used to protect neural cells from the damaging effects of cerebral hypoxia. According to this embodiment, the compositions of the invention are used to treat or prevent neural cell injury associated with cerebral hypoxia. In one non-exclusive aspect of this embodiment, the polypeptides, polynucleotides, or agonists or antagonists of the invention, are used to treat or prevent neural cell injury associated with cerebral ischemia. In another non-exclusive aspect of this embodiment, the polypeptides, polynucleotides, or agonists or antagonists of the invention are used to treat or prevent neural cell injury associated with cerebral infarction.

[778] In another preferred embodiment, the polypeptides, polynucleotides, or agonists or antagonists of the invention are used to treat or prevent neural cell injury associated with a stroke. In a specific embodiment, the polypeptides, polynucleotides, or agonists or antagonists of the invention are used to treat or prevent cerebral neural cell injury associated with a stroke.

[779] In another preferred embodiment, the polypeptides, polynucleotides, or agonists or antagonists of the invention are used to treat or prevent neural cell injury associated with a heart attack. In a specific embodiment, the polypeptides, polynucleotides, or agonists or antagonists of the invention are used to treat or prevent cerebral neural cell injury associated with a heart attack.

[780] The compositions of the invention which are useful for treating or preventing a nervous system disorder may be selected by testing for biological activity in promoting the survival or differentiation of neurons. For example, and not by way of limitation, compositions of the invention which elicit any of the following effects may be useful according to the invention: (1) increased survival time of neurons in culture either in the presence or absence of hypoxia or hypoxic conditions; (2) increased sprouting of neurons in culture or *in vivo*; (3) increased production of a neuron-associated molecule in culture or *in vivo*, e.g., choline acetyltransferase or acetylcholinesterase with respect to motor neurons; or

WO 02/02587

PCT/US01/20917

(4) decreased symptoms of neuron dysfunction *in vivo*. Such effects may be measured by any method known in the art. In preferred, non-limiting embodiments, increased survival of neurons may routinely be measured using a method set forth herein or otherwise known in the art, such as, for example, in Zhang *et al.*, *Proc Natl Acad Sci USA* 97:3637-42 (2000) or in Arakawa *et al.*, *J. Neurosci.*, 10:3507-15 (1990); increased sprouting of neurons may be detected by methods known in the art, such as, for example, the methods set forth in Pestronk *et al.*, *Exp. Neurol.*, 70:65-82 (1980), or Brown *et al.*, *Ann. Rev. Neurosci.*, 4:17-42 (1981); increased production of neuron-associated molecules may be measured by bioassay, enzymatic assay, antibody binding, Northern blot assay, etc., using techniques known in the art and depending on the molecule to be measured; and motor neuron dysfunction may be measured by assessing the physical manifestation of motor neuron disorder, e.g., weakness, motor neuron conduction velocity, or functional disability.

[781] In specific embodiments, motor neuron disorders that may be treated according to the invention include, but are not limited to, disorders such as infarction, infection, exposure to toxin, trauma, surgical damage, degenerative disease or malignancy that may affect motor neurons as well as other components of the nervous system, as well as disorders that selectively affect neurons such as amyotrophic lateral sclerosis, and including, but not limited to, progressive spinal muscular atrophy, progressive bulbar palsy, primary lateral sclerosis, infantile and juvenile muscular atrophy, progressive bulbar paralysis of childhood (Fazio-Londe syndrome), poliomyelitis and the post polio syndrome, and Hereditary Motor-sensory Neuropathy (Charcot-Marie-Tooth Disease).

[782] Further, polypeptides or polynucleotides of the invention may play a role in neuronal survival; synapse formation; conductance; neural differentiation, etc. Thus, compositions of the invention (including polynucleotides, polypeptides, and agonists or antagonists) may be used to diagnose and/or treat or prevent diseases or disorders associated with these roles, including, but not limited to, learning and/or cognition disorders. The compositions of the invention may also be useful in the treatment or prevention of neurodegenerative disease states and/or behavioural disorders. Such neurodegenerative disease states and/or behavioral disorders include, but are not limited to, Alzheimer's Disease, Parkinson's Disease, Huntington's Disease, Tourette Syndrome, schizophrenia, mania, dementia, paranoia, obsessive compulsive disorder, panic disorder, learning disabilities, ALS, psychoses, autism, and altered behaviors, including disorders in feeding,

WO 02/02587

PCT/US01/20917

sleep patterns, balance, and perception. In addition, compositions of the invention may also play a role in the treatment, prevention and/or detection of developmental disorders associated with the developing embryo, or sexually-linked disorders.

[783] Additionally, polypeptides, polynucleotides and/or agonists or antagonists of the invention, may be useful in protecting neural cells from diseases, damage, disorders, or injury, associated with cerebrovascular disorders including, but not limited to, carotid artery diseases (e.g., carotid artery thrombosis, carotid stenosis, or Moyamoya Disease), cerebral amyloid angiopathy, cerebral aneurysm, cerebral anoxia, cerebral arteriosclerosis, cerebral arteriovenous malformations, cerebral artery diseases, cerebral embolism and thrombosis (e.g., carotid artery thrombosis, sinus thrombosis, or Wallenberg's Syndrome), cerebral hemorrhage (e.g., epidural or subdural hematoma, or subarachnoid hemorrhage), cerebral infarction, cerebral ischemia (e.g., transient cerebral ischemia, Subclavian Steal Syndrome, or vertebrobasilar insufficiency), vascular dementia (e.g., multi-infarct), leukomalacia, periventricular, and vascular headache (e.g., cluster headache or migraines).

[784] In accordance with yet a further aspect of the present invention, there is provided a process for utilizing polynucleotides or polypeptides, as well as agonists or antagonists of the present invention, for therapeutic purposes, for example, to stimulate neurological cell proliferation and/or differentiation. Therefore, polynucleotides, polypeptides, agonists and/or antagonists of the invention may be used to treat and/or detect neurologic diseases. Moreover, polynucleotides or polypeptides, or agonists or antagonists of the invention, can be used as a marker or detector of a particular nervous system disease or disorder.

[785] Examples of neurologic diseases which can be treated or detected with polynucleotides, polypeptides, agonists, and/or antagonists of the present invention include brain diseases, such as metabolic brain diseases which includes phenylketonuria such as maternal phenylketonuria, pyruvate carboxylase deficiency, pyruvate dehydrogenase complex deficiency, Wernicke's Encephalopathy, brain edema, brain neoplasms such as cerebellar neoplasms which include infratentorial neoplasms, cerebral ventricle neoplasms such as choroid plexus neoplasms, hypothalamic neoplasms, supratentorial neoplasms, canavan disease, cerebellar diseases such as cerebellar ataxia which include spinocerebellar degeneration such as ataxia telangiectasia, cerebellar dyssynergia, Friederich's Ataxia, Machado-Joseph Disease, olivopontocerebellar atrophy, cerebellar neoplasms such as

WO 02/02587

PCT/US01/20917

infratentorial neoplasms, diffuse cerebral sclerosis such as encephalitis periaxialis, globoid cell leukodystrophy, metachromatic leukodystrophy and subacute sclerosing panencephalitis.

[786] Additional neurologic diseases which can be treated or detected with polynucleotides, polypeptides, agonists, and/or antagonists of the present invention include cerebrovascular disorders (such as carotid artery diseases which include carotid artery thrombosis, carotid stenosis and Moyamoya Disease), cerebral amyloid angiopathy, cerebral aneurysm, cerebral anoxia, cerebral arteriosclerosis, cerebral arteriovenous malformations, cerebral artery diseases, cerebral embolism and thrombosis such as carotid artery thrombosis, sinus thrombosis and Wallenberg's Syndrome, cerebral hemorrhage such as epidural hematoma, subdural hematoma and subarachnoid hemorrhage, cerebral infarction, cerebral ischemia such as transient cerebral ischemia, Subclavian Steal Syndrome and vertebrobasilar insufficiency, vascular dementia such as multi-infarct dementia, periventricular leukomalacia, vascular headache such as cluster headache and migraine.

[787] Additional neurologic diseases which can be treated or detected with polynucleotides, polypeptides, agonists, and/or antagonists of the present invention include dementia such as AIDS Dementia Complex, presenile dementia such as Alzheimer's Disease and Creutzfeldt-Jakob Syndrome, senile dementia such as Alzheimer's Disease and progressive supranuclear palsy, vascular dementia such as multi-infarct dementia, encephalitis which include encephalitis periaxialis, viral encephalitis such as epidemic encephalitis, Japanese Encephalitis, St. Louis Encephalitis, tick-borne encephalitis and West Nile Fever, acute disseminated encephalomyelitis, meningoencephalitis such as uveomeningoencephalitic syndrome, Postencephalitic Parkinson Disease and subacute sclerosing panencephalitis, encephalomalacia such as periventricular leukomalacia, epilepsy such as generalized epilepsy which includes infantile spasms, absence epilepsy, myoclonic epilepsy which includes MERRF Syndrome, tonic-clonic epilepsy, partial epilepsy such as complex partial epilepsy, frontal lobe epilepsy and temporal lobe epilepsy, post-traumatic epilepsy, status epilepticus such as Epilepsia Partialis Continua, and Hallervorden-Spatz Syndrome.

[788] Additional neurologic diseases which can be treated or detected with polynucleotides, polypeptides, agonists, and/or antagonists of the present invention include hydrocephalus such as Dandy-Walker Syndrome and normal pressure hydrocephalus, hypothalamic diseases such as hypothalamic neoplasms, cerebral malaria, narcolepsy which

WO 02/02587

PCT/US01/20917

includes cataplexy, bulbar poliomyelitis, cerebri pseudofumor, Rett Syndrome, Reye's Syndrome, thalamic diseases, cerebral toxoplasmosis, intracranial tuberculoma and Zellweger Syndrome, central nervous system infections such as AIDS Dementia Complex, Brain Abscess, subdural empyema, encephalomyelitis such as Equine Encephalomyelitis, Venezuelan Equine Encephalomyelitis, Necrotizing Hemorrhagic Encephalomyelitis, Visna, and cerebral malaria.

[789] Additional neurologic diseases which can be treated or detected with polynucleotides, polypeptides, agonists, and/or antagonists of the present invention include meningitis such as arachnoiditis, aseptic meningitis such as viral meningitis which includes lymphocytic choriomeningitis, Bacterial meningitis which includes Haemophilus Meningitis, Listeria Meningitis, Meningococcal Meningitis such as Waterhouse-Friedrichsen Syndrome, Pneumococcal Meningitis and meningeal tuberculosis, fungal meningitis such as Cryptococcal Meningitis, subdural effusion, meningoencephalitis such as vvermeningoencephalitic syndrome, myelitis such as transverse myelitis, neurosyphilis such as tabes dorsalis, poliomyelitis which includes bulbar poliomyelitis and postpoliomyelitis syndrome, prion diseases (such as Creutzfeldt-Jakob Syndrome, Bovine Spongiform Encephalopathy, Gerstmann-Straussler Syndrome, Kuru, Scrapie), and cerebral toxoplasmosis.

[790] Additional neurologic diseases which can be treated or detected with polynucleotides, polypeptides, agonists, and/or antagonists of the present invention include central nervous system neoplasms such as brain neoplasms that include cerebellar neoplasms such as intratentorial neoplasms, cerebral ventricle neoplasms such as choroid plexus neoplasms, hypothalamic neoplasms and supratentorial neoplasms, meningeal neoplasms, spinal cord neoplasms which include epidural neoplasms, demyelinating diseases such as Canavan Diseases, diffuse cerebral sclerosis which includes adrenoleukodystrophy, encephalitis periaxialis, globoid cell leukodystrophy, diffuse cerebral sclerosis such as metachromatic leukodystrophy, allergic encephalomyelitis, necrotizing hemorrhagic encephalomyelitis, progressive multifocal leukoencephalopathy, multiple sclerosis, central pontine myelinolysis, transverse myelitis, neuromyelitis optica, Scrapie, Swayback, Chronic Fatigue Syndrome, Visna, High Pressure Nervous Syndrome, Meningism, spinal cord diseases such as amyotonia congenita, amyotrophic lateral sclerosis, spinal muscular atrophy such as Werdnig-Hoffmann Disease, spinal cord compression, spinal cord neoplasms such as

WO 02/02587

PCT/US01/20917

epidural neoplasms, syringomyelia, Tabes Dorsalis, Stiff-Man Syndrome, mental retardation such as Angelman Syndrome, Cri-du-Chat Syndrome, De Lange's Syndrome, Down Syndrome, Gangliosidoses such as gangliosidoses G(M1), Sandhoff Disease, Tay-Sachs Disease, Hartnup Disease, homocystinuria, Laurence-Moon-Biedl Syndrome, Lesch-Nyhan Syndrome, Maple Syrup Urine Disease, mucopolipidosis such as fucosidosis, neuronal ceroid-lipofuscinosis, oculocerebrorenal syndrome, phenylketonuria such as maternal phenylketonuria, Prader-Willi Syndrome, Reif Syndrome, Rubinstein-Taybi Syndrome, Tuberous Sclerosis, WAGR Syndrome, nervous system abnormalities such as holoprosencephaly, neural tube defects such as anencephaly which includes hydrangencephaly, Arnold-Chiari Deformity, encephalocele, meningocoele, meningomyelocoele, spinal dysraphism such as spina bifida cystica and spina bifida occulta.

[791] Additional neurologic diseases which can be treated or detected with polynucleotides, polypeptides, agonists, and/or antagonists of the present invention include hereditary motor and sensory neuropathies which include Charcot-Marie Disease, Hereditary optic atrophy, Refsum's Disease, hereditary spastic paraplegia, Werdnig-Hoffmann Disease, Hereditary Sensory and Autonomic Neuropathies such as Congenital Analgesia and Familial Dysautonomia, Neurologic manifestations (such as agnosia that include Gerstmann's Syndrome, Amnesia such as retrograde amnesia, apraxia, neurogenic bladder, cataplexy, communicative disorders such as hearing disorders that includes deafness, partial hearing loss, loudness recruitment and tinnitus, language disorders such as aphasia which include agraphia, anomia, broca aphasia, and Wernicke Aphasia, Dyslexia such as Acquired Dyslexia, language development disorders, speech disorders such as aphasia which includes anomia, broca aphasia and Wernicke Aphasia, articulation disorders, communicative disorders such as speech disorders which include dysarthria, echolalia, mutism and stuttering, voice disorders such as aphonia and hoarseness, decerebrate state, delirium, fasciculation, hallucinations, meningism, movement disorders such as angelman syndrome, ataxia, athetosis, chorea, dystonia, hypokinesia, muscle hypotonia, myoclonus, tic, torticollis and tremor, muscle hypertonia such as muscle rigidity such as stiff-man syndrome, muscle spasticity, paralysis such as facial paralysis which includes Herpes Zoster Oticus, Gastroparesis, Hemiplegia, ophthalmoplegia such as diplopia, Duane's Syndrome, Horner's Syndrome, Chronic progressive external ophthalmoplegia such as Kearns Syndrome, Bulbar Paralysis, Tropical Spastic Paraparesis, Paraplegia such as Brown-Sequard Syndrome,

WO 02/02587

PCT/US01/20917

quadriplegia, respiratory paralysis and vocal cord paralysis, paresis, phantom limb, taste disorders such as agusia and dysgeusia, vision disorders such as amblyopia, blindness, color vision defects, diplopia, hemianopsia, scotoma and subnormal vision, sleep disorders such as hypersomnia which includes Kleine-Levin Syndrome, insomnia, and somnambulism, spasm such as trismus, unconsciousness such as coma, persistent vegetative state and syncope and vertigo, neuromuscular diseases such as amyotonia congenita, amyotrophic lateral sclerosis, Lambert-Eaton Myasthenic Syndrome, motor neuron disease, muscular atrophy such as spinal muscular atrophy, Charcot-Marie Disease and Werdnig-Hoffmann Disease, Postpoliomyelitis Syndrome, Muscular Dystrophy, Myasthenia Gravis, Myotonia Atrophica, Myotonia Congenita, Nemaline Myopathy, Familial Periodic Paralysis, Multiplex Paramyoclonus, Tropical Spastic Paraparesis and Stiff-Man Syndrome, peripheral nervous system diseases such as acrodynia, amyloid neuropathies, autonomic nervous system diseases such as Adie's Syndrome, Barre-Lieou Syndrome, Familial Dysautonomia, Horner's Syndrome, Reflex Sympathetic Dystrophy and Shy-Drager Syndrome, Cranial Nerve Diseases such as Acoustic Nerve Diseases such as Acoustic Neuroma which includes Neurofibromatosis 2, Facial Nerve Diseases such as Facial Neuralgia, Melkersson-Rosenthal Syndrome, ocular motility disorders which includes amblyopia, nystagmus, oculomotor nerve paralysis, ophthalmoplegia such as Duane's Syndrome, Horner's Syndrome, Chronic Progressive External Ophthalmoplegia which includes Kearns Syndrome, Strabismus such as Esotropia and Exotropia, Oculomotor Nerve Paralysis, Optic Nerve Diseases such as Optic Atrophy which includes Hereditary Optic Atrophy, Optic Disk Drusen, Optic Neuritis such as Neuromyelitis Optica, Papilledema, Trigeminal Neuralgia, Vocal Cord Paralysis, Demyelinating Diseases such as Neuromyelitis Optica and Swayback, and Diabetic neuropathies such as diabetic foot.

[792] Additional neurologic diseases which can be treated or detected with polynucleotides, polypeptides, agonists, and/or antagonists of the present invention include nerve compression syndromes such as carpal tunnel syndrome, tarsal tunnel syndrome, thoracic outlet syndrome such as cervical rib syndrome, ulnar nerve compression syndrome, neuralgia such as causalgia, cervico-brachial neuralgia, facial neuralgia and trigeminal neuralgia, neuritis such as experimental allergic neuritis, optic neuritis, polyneuritis, polyradiculoneuritis and radiculitis such as polyradiculitis, hereditary motor and sensory neuropathies such as Charcot-Marie Disease, Hereditary Optic Atrophy, Refsum's Disease,

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Hereditary Spastic Paraplegia and Werdnig-Hoffmann Disease, Hereditary Sensory and Autonomic Neuropathies which include Congenital Analgesia and Familial Dysautonomia, POEMS Syndrome, Sciatica, Gustatory Sweating and Tetany).

Endocrine Disorders

[793] Polynucleotides or polypeptides, or agonists or antagonists of the present invention, may be used to treat, prevent, diagnose, and/or prognose disorders and/or diseases related to hormone imbalance, and/or disorders or diseases of the endocrine system.

[794] Hormones secreted by the glands of the endocrine system control physical growth, sexual function, metabolism, and other functions. Disorders may be classified in two ways: disturbances in the production of hormones, and the inability of tissues to respond to hormones. The etiology of these hormone imbalance or endocrine system diseases, disorders or conditions may be genetic, somatic, such as cancer and some autoimmune diseases, acquired (e.g., by chemotherapy, injury or toxins), or infectious. Moreover, polynucleotides, polypeptides, antibodies, and/or agonists or antagonists of the present invention can be used as a marker or detector of a particular disease or disorder related to the endocrine system and/or hormone imbalance.

[795] Endocrine system and/or hormone imbalance and/or diseases encompass disorders of uterine motility including, but not limited to: complications with pregnancy and labor (e.g., pre-term labor, post-term pregnancy, spontaneous abortion, and slow or stopped labor); and disorders and/or diseases of the menstrual cycle (e.g., dysmenorrhea and endometriosis).

[796] Endocrine system and/or hormone imbalance disorders and/or diseases include disorders and/or diseases of the pancreas, such as, for example, diabetes mellitus, diabetes insipidus, congenital pancreatic agenesis, pheochromocytoma-istlet cell tumor syndrome; disorders and/or diseases of the adrenal glands such as, for example, Addison's Disease, corticosteroid deficiency, virilizing disease, hirsutism, Cushing's Syndrome, hyperaldosteronism, pheochromocytoma; disorders and/or diseases of the pituitary gland, such as, for example, hyperpituitarism, hypopituitarism, pituitary dwarfism, pituitary adenoma, panhypopituitarism, acromegaly, gigantism; disorders and/or diseases of the thyroid, including but not limited to, hyperthyroidism, hypothyroidism, Plummer's disease, Graves' disease (toxic diffuse goiter), toxic nodular goiter, thyroiditis (Hashimoto's

WO 02/02587

PCT/US01/20917

thyroiditis, subacute granulomatous thyroiditis, and silent lymphocytic thyroiditis), Pendred's syndrome, myxedema, cretinism, thyrotoxicosis, thyroid hormone coupling defect, thymic aplasia, Hurthle cell tumours of the thyroid, thyroid cancer, thyroid carcinoma, Medullary thyroid carcinoma; disorders and/or diseases of the parathyroid, such as, for example, hyperparathyroidism, hypoparathyroidism; disorders and/or diseases of the hypothalamus.

[797] In specific embodiments, the polynucleotides and/or polypeptides corresponding to this gene and/or agonists or antagonists of those polypeptides (including antibodies) as well as fragments and variants of those polynucleotides, polypeptides, agonists and antagonists, may be used to diagnose, prognose, treat, prevent, or ameliorate diseases and disorders associated with aberrant glucose metabolism or glucose uptake into cells.

[798] In a specific embodiment, the polynucleotides and/or polypeptides corresponding to this gene and/or agonists and/or antagonists thereof may be used to diagnose, prognose, treat, prevent, and/or ameliorate type I diabetes mellitus (insulin dependent diabetes mellitus, IDDM).

[799] In another embodiment, the polynucleotides and/or polypeptides corresponding to this gene and/or agonists and/or antagonists thereof may be used to diagnose, prognose, treat, prevent, and/or ameliorate type II diabetes mellitus (insulin resistant diabetes mellitus).

[800] Additionally, in other embodiments, the polynucleotides and/or polypeptides corresponding to this gene and/or antagonists thereof (especially neutralizing or antagonistic antibodies) may be used to diagnose, prognose, treat, prevent, or ameliorate conditions associated with (type I or type II) diabetes mellitus, including, but not limited to, diabetic ketoacidosis, diabetic coma, nonketotic hyperglycaemic-hyperosmolar coma, seizures, mental confusion, drowsiness, cardiovascular disease (e.g., heart disease, atherosclerosis, microvascular disease, hypertension, stroke, and other diseases and disorders as described in the "Cardiovascular Disorders" section), dyslipidemia, kidney disease (e.g., renal failure, nephropathy other diseases and disorders as described in the "Renal Disorders" section), nerve damage, neuropathy, vision impairment (e.g., diabetic retinopathy and blindness), ulcers and impaired wound healing, infections (e.g., infectious diseases and disorders as described in the "Infectious Diseases" section, especially of the urinary tract and skin), carpal tunnel syndrome and Dupuytren's contracture.

[801] In other embodiments, the polynucleotides and/or polypeptides corresponding to this gene and/or agonists or antagonists thereof are administered to an animal, preferably a

WO 02/02587

PCT/US01/20917

mammal, and most preferably a human, in order to regulate the animal's weight. In specific embodiments the polynucleotides and/or polypeptides corresponding to this gene and/or agonists or antagonists thereof are administered to an animal, preferably a mammal, and most preferably a human, in order to control the animal's weight by modulating a biochemical pathway involving insulin. In still other embodiments the polynucleotides and/or polypeptides corresponding to this gene and/or agonists or antagonists thereof are administered to an animal, preferably a mammal, and most preferably a human, in order to control the animal's weight by modulating a biochemical pathway involving insulin-like growth factor.

[802] In addition, endocrine system and/or hormone imbalance disorders and/or diseases may also include disorders and/or diseases of the testes or ovaries, including cancer. Other disorders and/or diseases of the testes or ovaries further include, for example, ovarian cancer, polycystic ovary syndrome, Klinefelter's syndrome, vanishing testes syndrome (bilateral anorchia), congenital absence of Leydig's cells, cryptorchidism, Noonan's syndrome, myotonic dystrophy, capillary haemangioma of the testis (benign), neoplasias of the testis and neo-testis.

[803] Moreover, endocrine system and/or hormone imbalance disorders and/or diseases may also include disorders and/or diseases such as, for example, polyglandular deficiency syndromes, pheochromocytoma, neuroblastoma, multiple Endocrine neoplasia, and disorders and/or cancers of endocrine tissues.

[804] In another embodiment, a polypeptide of the invention, or polynucleotides, antibodies, agonists, or antagonists corresponding to that polypeptide, may be used to diagnose, prognose, prevent, and/or treat endocrine diseases and/or disorders associated with the tissue(s) in which the polypeptide of the invention is expressed, including one, two, three, four, five, or more tissues disclosed in Table 10, column 2 (Library Code).

Reproductive System Disorders

[805] The polynucleotides or polypeptides, or agonists or antagonists of the invention may be used for the diagnosis, treatment, or prevention of diseases and/or disorders of the reproductive system. Reproductive system disorders that can be treated by the compositions of the invention, include, but are not limited to, reproductive system injuries, infections,

WO 02/02587

PCT/US01/20917

neoplastic disorders, congenital defects, and diseases or disorders which result in infertility, complications with pregnancy, labor, or parturition, and postpartum difficulties.

[806] Reproductive system disorders and/or diseases include diseases and/or disorders of the testes, including testicular atrophy, testicular feminization, cryptorchism (unilateral and bilateral), anorchia, ectopic testis, epididymitis and orchitis (typically resulting from infections such as, for example, gonorrhea, mumps, tuberculosis, and syphilis), testicular torsion, vasis nodosa, germ cell tumors (e.g., seminomas, embryonal cell carcinomas, teratocarcinomas, choriocarcinomas, yolk sac tumors, and teratomas), stromal tumors (e.g., Leydig cell tumors), hydrocele, hematocele, varicocele, spermatocele, inguinal hernia, and disorders of sperm production (e.g., immotile cilia syndrome, aspermia, asthenozoospermia, azoospermia, oligospermia, and teratozoospermia).

[807] Reproductive system disorders also include disorders of the prostate gland, such as acute non-bacterial prostatitis, chronic non-bacterial prostatitis, acute bacterial prostatitis, chronic bacterial prostatitis, prostatodynia, prostatosis, granulomatous prostatitis, malacoplakia, benign prostatic hypertrophy or hyperplasia, and prostate neoplastic disorders, including adenocarcinomas, transitional cell carcinomas, ductal carcinomas, and squamous cell carcinomas.

[808] Additionally, the compositions of the invention may be useful in the diagnosis, treatment, and/or prevention of disorders or diseases of the penis and urethra, including inflammatory disorders, such as balanoposthitis, balanitis xerotica obliterans, phimosis, paraphimosis, syphilis, herpes simplex virus, gonorrhea, non-gonococcal urethritis, chlamydia, mycoplasma, trichomonas, HIV, AIDS, Reiter's syndrome, condyloma acuminatum, condyloma latum, and pearly penile papules; urethral abnormalities, such as hypospadias, epispadias, and phimosis; premalignant lesions, including Erythroplasia of Queyrat, Bowen's disease, Bowenoid papulosis, giant condyloma of Buscke-Lowenstein, and verrucous carcinoma; penile cancers, including squamous cell carcinomas, carcinoma in situ, verrucous carcinoma, and disseminated penile carcinoma; urethral neoplastic disorders, including penile urethral carcinoma, bulbomembranous urethral carcinoma, and prostatic urethral carcinoma; and erectile disorders, such as priapism, Peyronie's disease, erectile dysfunction, and impotence.

[809] Moreover, diseases and/or disorders of the vas deferens include vasculitis and CBAVD (congenital bilateral absence of the vas deferens); additionally, the polynucleotides,

WO 02/02587

PCT/US01/20917

polypeptides, and agonists or antagonists of the present invention may be used in the diagnosis, treatment, and/or prevention of diseases and/or disorders of the seminal vesicles, including hydatid disease, congenital chloride diarrhea, and polycystic kidney disease.

[810] Other disorders and/or diseases of the male reproductive system include, for example, Klinefelter's syndrome, Young's syndrome, premature ejaculation, diabetes mellitus, cystic fibrosis, Kartagener's syndrome, high fever, multiple sclerosis, and gynecomastia.

[811] Further, the polynucleotides, polypeptides, and agonists or antagonists of the present invention may be used in the diagnosis, treatment, and/or prevention of diseases and/or disorders of the vagina and vulva, including bacterial vaginosis, candida vaginitis, herpes simplex virus, chancroid, granuloma inguinale, lymphogranuloma venereum, scabies, human papillomavirus, vaginal trauma, vulvar trauma, adenosis, chlamydia vaginitis, gonorrhea, trichomonas vaginitis, condyloma acuminatum, syphilis, molluscum contagiosum, atrophic vaginitis, Paget's disease, lichen sclerosus, lichen planus, vulvodynia, toxic shock syndrome, vaginismus, vulvovaginitis, vulvar vestibulitis, and neoplastic disorders, such as squamous cell hyperplasia, clear cell carcinoma, basal cell carcinoma, melanomas, cancer of Bartholin's gland, and vulvar intraepithelial neoplasia.

[812] Disorders and/or diseases of the uterus include dysmenorrhea, retroverted uterus, endometriosis, fibroids, adenomyosis, anovulatory bleeding, amenorrhea, Cushing's syndrome, hydatidiform moles, Asherman's syndrome, premature menopause, precocious puberty, uterine polyps, dysfunctional uterine bleeding (e.g., due to aberrant hormonal signals), and neoplastic disorders, such as adenocarcinomas, leiomyosarcomas, and sarcomas. Additionally, the polypeptides, polynucleotides, or agonists or antagonists of the invention may be useful as a marker or detector of, as well as in the diagnosis, treatment, and/or prevention of congenital uterine abnormalities, such as bicornuate uterus, septate uterus, simple unicornuate uterus, unicornuate uterus with a noncavitary rudimentary horn, unicornuate uterus with a non-communicating cavitary rudimentary horn, unicornuate uterus with a communicating cavitary horn, arcuate uterus, uterine didelphys, and T-shaped uterus.

[813] Ovarian diseases and/or disorders include anovulation, polycystic ovary syndrome (Stein-Leventhal syndrome), ovarian cysts, ovarian hypofunction, ovarian insensitivity to gonadotropins, ovarian overproduction of androgens, right ovarian vein syndrome, amenorrhea, hirsutism, and ovarian cancer (including, but not limited to, primary and

WO 02/02587

PCT/US01/20917

secondary cancerous growth, Sertoli-Leydig tumors, endometrioid carcinoma of the ovary, ovarian papillary serous adenocarcinoma, ovarian mucinous adenocarcinoma, and Ovarian Krukenberg tumors).

[814] Cervical diseases and/or disorders include cervicitis, chronic cervicitis, mucopurulent cervicitis, cervical dysplasia, cervical polyps, Nabothian cysts, cervical erosion, cervical incompetence, and cervical neoplasms (including, for example, cervical carcinoma, squamous metaplasia, squamous cell carcinoma, adenosquamous cell neoplasia, and columnar cell neoplasia).

[815] Additionally, diseases and/or disorders of the reproductive system include disorders and/or diseases of pregnancy, including miscarriage and stillbirth, such as early abortion, late abortion, spontaneous abortion, induced abortion, therapeutic abortion, threatened abortion, missed abortion, incomplete abortion, complete abortion, habitual abortion, missed abortion, and septic abortion; ectopic pregnancy, anemia, Rh incompatibility, vaginal bleeding during pregnancy, gestational diabetes, intrauterine growth retardation, polyhydramnios, HELLP syndrome, abruptio placentae, placenta previa, hyperemesis, preeclampsia, eclampsia, herpes gestationis, and urticaria of pregnancy. Additionally, the polynucleotides, polypeptides, and agonists or antagonists of the present invention may be used in the diagnosis, treatment, and/or prevention of diseases that can complicate pregnancy, including heart disease, heart failure, rheumatic heart disease, congenital heart disease, mitral valve prolapse, high blood pressure, anemia, kidney disease, infectious disease (e.g., rubella, cytomegalovirus, toxoplasmosis, infectious hepatitis, chlamydia, HIV, AIDS, and genital herpes), diabetes mellitus, Graves' disease, thyroiditis, hypothyroidism, Hashimoto's thyroiditis, chronic active hepatitis, cirrhosis of the liver, primary biliary cirrhosis, asthma, systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis, myasthenia gravis, idiopathic thrombocytopenic purpura, appendicitis, ovarian cysts, gallbladder disorders, and obstruction of the intestine.

[816] Complications associated with labor and parturition include premature rupture of the membranes, pre-term labor, post-term pregnancy, postmaturity, labor that progresses too slowly, fetal distress (e.g., abnormal heart rate (fetal or maternal), breathing problems, and abnormal fetal position), shoulder dystocia, prolapsed umbilical cord, amniotic fluid embolism, and aberrant uterine bleeding.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[817] Further, diseases and/or disorders of the postdelivery period, including endometritis, myometritis, parametritis, peritonitis, pelvic thrombophlebitis, pulmonary embolism, endotoxemia, pyelonephritis, saphenous thrombophlebitis, mastitis, cystitis, postpartum hemorrhage, and inverted uterus.

[818] Other disorders and/or diseases of the female reproductive system that may be diagnosed, treated, and/or prevented by the polynucleotides, polypeptides, and agonists or antagonists of the present invention include, for example, Turner's syndrome, pseudohermaphroditism, premenstrual syndrome, pelvic inflammatory disease, pelvic congestion (vascular engorgement), frigidity, anorgasmia, dyspareunia, ruptured fallopian tube, and Mittelschmerz.

Infectious Disease

[819] Polynucleotides or polypeptides, as well as agonists or antagonists of the present invention can be used to treat or detect infectious agents. For example, by increasing the immune response, particularly increasing the proliferation and differentiation of B and/or T cells, infectious diseases may be treated. The immune response may be increased by either enhancing an existing immune response, or by initiating a new immune response. Alternatively, polynucleotides or polypeptides, as well as agonists or antagonists of the present invention may also directly inhibit the infectious agent, without necessarily eliciting an immune response.

[820] Viruses are one example of an infectious agent that can cause disease or symptoms that can be treated or detected by a polynucleotide or polypeptide and/or agonist or antagonist of the present invention. Examples of viruses, include, but are not limited to Examples of viruses, include, but are not limited to the following DNA and RNA viruses and viral families: Arbovirus, Adenoviridae, Arenaviridae, Arterivirus, Bimaviridae, Bunyaviridae, Caliciviridae, Circoviridae, Coronaviridae, Dengue, EBV, HIV, Flaviviridae, Hepadnaviridae (Hepatitis), Herpesviridae (such as, Cytomegalovirus, Herpes Simplex, Herpes Zoster), Mononegavirus (e.g., Paramyxoviridae, Morbillivirus, Rhabdoviridae), Orthomyxoviridae (e.g., Influenza A, Influenza B, and parainfluenza), Papiloma virus, Papovaviridae, Parvoviridae, Picornaviridae, Poxviridae (such as Smallpox or Vaccinia), Reoviridae (e.g., Rotavirus), Retroviridae (HTLV-I, HTLV-II, Lentivirus), and Togaviridae (e.g., Rubivirus).

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Viruses falling within these families can cause a variety of diseases or symptoms, including, but not limited to: arthritis, bronchiolitis, respiratory syncytial virus, encephalitis, eye infections (e.g., conjunctivitis, keratitis), chronic fatigue syndrome, hepatitis (A, B, C, E, Chronic Active, Delta), Japanese B encephalitis, Jumin, Chikungunya, Rift Valley fever, yellow fever, meningitis, opportunistic infections (e.g., AIDS), pneumonia, Burkitt's Lymphoma, chickenpox, hemorrhagic fever, Measles, Mumps, Parainfluenza, Rabies, the common cold, Polio, leukemia, Rubella, sexually transmitted diseases, skin diseases (e.g., Kaposi's, warts), and viremia. polynucleotides or polypeptides, or agonists or antagonists of the invention, can be used to treat or detect any of these symptoms or diseases. In specific embodiments, polynucleotides, polypeptides, or agonists or antagonists of the invention are used to treat: meningitis, Dengue, EBV, and/or hepatitis (e.g., hepatitis B). In an additional specific embodiment polynucleotides, polypeptides, or agonists or antagonists of the invention are used to treat patients nonresponsive to one or more other commercially available hepatitis vaccines. In a further specific embodiment polynucleotides, polypeptides, or agonists or antagonists of the invention are used to treat AIDS.

[821] Similarly, bacterial and fungal agents that can cause disease or symptoms and that can be treated or detected by a polynucleotide or polypeptide and/or agonist or antagonist of the present invention include, but not limited to, the following Gram-Negative and Gram-positive bacteria, bacterial families, and fungi: Actinomyces (e.g., Norcardia), Actinobacter, *Cryptococcus neoformans*, Aspergillus, Bacillaceae (e.g., *Bacillus anthracis*), Bacteroides (e.g., *Bacteroides fragilis*), Blastomycosis, Bordetella, Borrelia (e.g., *Borrelia burgdorferi*), Brucella, Candida, Campylobacter, Chlamydia, Clostridium (e.g., *Clostridium botulinum*, *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium tetani*), Coccidioides, Corynebacterium (e.g., *Corynebacterium diphtheriae*), Cryptococcus, Dermatococcoses, *E. coli* (e.g., Enterotoxigenic *E. coli* and Enterohemorrhagic *E. coli*), Enterobacter (e.g., *Enterobacter aerogenes*), Enterobacteriaceae (Klebsiella, Salmonella (e.g., *Salmonella typhi*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhi*), Serratia, Yersinia, Shigella), Erysipelotrix, Haemophilus (e.g., *Haemophilus influenzae* type B), Helicobacter, Legionella (e.g., *Legionella pneumophila*), Leptospira, Listeria (e.g., *Listeria monocytogenes*), Mycoplasma, Mycobacterium (e.g., *Mycobacterium leprae* and *Mycobacterium tuberculosis*), Vibrio (e.g., *Vibrio cholerae*), Neisseriaceae (e.g., *Neisseria gonorrhoea*, *Neisseria meningitidis*), Pasteurellaceae, Proteus, Pseudomonas (e.g., *Pseudomonas aeruginosa*), Rickettsiaceae,

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Spirochetes (e.g., *Treponema* spp., *Leptospira* spp., *Borrelia* spp.), *Shigella* spp., *Staphylococcus* (e.g., *Staphylococcus aureus*), *Meningiocooccus*, *Pneumococcus* and *Streptococcus* (e.g., *Streptococcus pneumoniae* and Groups A, B, and C *Streptococci*), and *Ureaplasmas*. These bacterial, parasitic, and fungal families can cause diseases or symptoms, including, but not limited to: antibiotic-resistant infections, bacteremia, endocarditis, septicemia, eye infections (e.g., conjunctivitis), uveitis, tuberculosis, gingivitis, bacterial diarrhea, opportunistic infections (e.g., AIDS related infections), paronychia, prosthesis-related infections, dental caries, Reiter's Disease, respiratory tract infections, such as Whooping Cough or Empyema, sepsis, Lyme Disease, Cat-Scratch Disease, dysentery, paratyphoid fever, food poisoning, Legionella disease, chronic and acute inflammation, erythema, yeast infections, typhoid, pneumonia, gonorrhea, meningitis (e.g., meningitis types A and B), chlamydia, syphilis, diphtheria, leprosy, brucellosis, peptic ulcers, anthrax, spontaneous abortions, birth defects, pneumonia, lung infections, ear infections, deafness, blindness, lethargy, malaise, vomiting, chronic diarrhea, Crohn's disease, colitis, vaginosis, sterility, pelvic inflammatory diseases, candidiasis, paratuberculosis, tuberculosis, lupus, botulism, gangrene, tetanus, impetigo, Rheumatic Fever, Scarlet Fever, sexually transmitted diseases, skin diseases (e.g., cellulitis, dermatocycoses), toxemia, urinary tract infections, wound infections, nosocomial infections. Polynucleotides or polypeptides, agonists or antagonists of the invention, can be used to treat or detect any of these symptoms or diseases. In specific embodiments, polynucleotides, polypeptides, agonists or antagonists of the invention are used to treat: tetanus, diphtheria, botulism, and/or meningitis type B.

[822] Moreover, parasitic agents causing disease or symptoms that can be treated, prevented, and/or diagnosed by a polynucleotide or polypeptide and/or agonist or antagonist of the present invention include, but not limited to, the following families or class: Amebiasis, Babesiosis, Coccidiosis, Cryptosporidiosis, Dientamoebiasis, Dourine, Ectoparasitic, Giardiasis, Helminthiasis, Leishmaniasis, Schistosoma, Theileriasis, Toxoplasmosis, Trypanosomiasis, and Trichomonas and Sporozoans (e.g., *Plasmodium vivax*, *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae* and *Plasmodium ovale*). These parasites can cause a variety of diseases or symptoms, including, but not limited to: Scabies, Trombiculiasis, eye infections, intestinal disease (e.g., dysentery, giardiasis), liver disease, lung disease, opportunistic infections (e.g., AIDS related), malaria, pregnancy complications, and toxoplasmosis. polynucleotides or polypeptides, or agonists or antagonists of the

WO 02/02587

PCT/US01/20917

invention, can be used to treat, prevent, and/or diagnose any of these symptoms or diseases. In specific embodiments, polynucleotides, polypeptides, or agonists or antagonists of the invention are used to treat, prevent, and/or diagnose malaria.

[823] Polynucleotides or polypeptides, as well as agonists or antagonists of the present invention of the present invention could either be by administering an effective amount of a polypeptide to the patient, or by removing cells from the patient, supplying the cells with a polynucleotide of the present invention, and returning the engineered cells to the patient (ex vivo therapy). Moreover, the polypeptide or polynucleotide of the present invention can be used as an antigen in a vaccine to raise an immune response against infectious disease.

Regeneration

[824] Polynucleotides or polypeptides, as well as agonists or antagonists of the present invention can be used to differentiate, proliferate, and attract cells, leading to the regeneration of tissues. (See, Science 276:59-87 (1997)). The regeneration of tissues could be used to repair, replace, or protect tissue damaged by congenital defects, trauma (wounds, burns, incisions, or ulcers), age, disease (e.g. osteoporosis, osteoarthritis, periodontal disease, liver failure), surgery, including cosmetic plastic surgery, fibrosis, reperfusion injury, or systemic cytokine damage.

[825] Tissues that could be regenerated using the present invention include organs (e.g., pancreas, liver, intestine, kidney, skin, endothelium), muscle (smooth, skeletal or cardiac), vasculature (including vascular and lymphatics), nervous, hematopoietic, and skeletal (bone, cartilage, tendon, and ligament) tissue. Preferably, regeneration occurs without or decreased scarring. Regeneration also may include angiogenesis.

[826] Moreover, polynucleotides or polypeptides, as well as agonists or antagonists of the present invention, may increase regeneration of tissues difficult to heal. For example, increased tendon/ligament regeneration would quicken recovery time after damage. Polynucleotides or polypeptides, as well as agonists or antagonists of the present invention could also be used prophylactically in an effort to avoid damage. Specific diseases that could be treated include of tendinitis, carpal tunnel syndrome, and other tendon or ligament defects. A further example of tissue regeneration of non-healing wounds includes pressure ulcers, ulcers associated with vascular insufficiency, surgical, and traumatic wounds.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[827] Similarly, nerve and brain tissue could also be regenerated by using polynucleotides or polypeptides, as well as agonists or antagonists of the present invention, to proliferate and differentiate nerve cells. Diseases that could be treated using this method include central and peripheral nervous system diseases, neuropathies, or mechanical and traumatic disorders (e.g., spinal cord disorders, head trauma, cerebrovascular disease, and stroke). Specifically, diseases associated with peripheral nerve injuries, peripheral neuropathy (e.g., resulting from chemotherapy or other medical therapies), localized neuropathies, and central nervous system diseases (e.g., Alzheimer's disease, Parkinson's disease, Huntington's disease, amyotrophic lateral sclerosis, and Shy-Drager syndrome), could all be treated using the polynucleotides or polypeptides, as well as agonists or antagonists of the present invention.

Gastrointestinal Disorders

[828] Polynucleotides or polypeptides, or agonists or antagonists of the present invention, may be used to treat, prevent, diagnose, and/or prognose gastrointestinal disorders, including inflammatory diseases and/or conditions, infections, cancers (e.g., intestinal neoplasms (carcinoid tumor of the small intestine, non-Hodgkin's lymphoma of the small intestine, small bowel lymphoma)), and ulcers, such as peptic ulcers.

[829] Gastrointestinal disorders include dysphagia, odynophagia, inflammation of the esophagus, peptic esophagitis, gastric reflux, submucosal fibrosis and stricturing, Mallory-Weiss lesions, leiomyomas, lipomas, epidermal cancers, adenocarcinomas, gastric retention disorders, gastroenteritis, gastric atrophy, gastric/stomach cancers, polyps of the stomach, autoimmune disorders such as pernicious anemia, pyloric stenosis, gastritis (bacterial, viral, eosinophilic, stress-induced, chronic erosive, atrophic, plasma cell, and Ménétrier's), and peritoneal diseases (e.g., chyloperitoneum, hemooperitoneum, mesenteric cyst, mesenteric lymphadenitis, mesenteric vascular occlusion, panniculitis, neoplasms, peritonitis, pneumoperitoneum, bubphrenic abscess.).

[830] Gastrointestinal disorders also include disorders associated with the small intestine, such as malabsorption syndromes, distension, irritable bowel syndrome, sugar intolerance, celiac disease, duodenal ulcers, duodenitis, tropical sprue, Whipple's disease, intestinal lymphangiectasia, Crohn's disease, appendicitis, obstructions of the ileum, Meckel's

WO 02/02587

PCT/US01/20917

diverticulum, multiple diverticula, failure of complete rotation of the small and large intestine, lymphoma, and bacterial and parasitic diseases (such as Traveler's diarrhea, typhoid and paratyphoid, cholera, infection by Roundworms (*Ascariasis lumbricoides*), Hookworms (*Ancylostoma duodenale*), Threadworms (*Enterobius vermicularis*), Tapeworms (*Taenia saginata*, *Echinococcus granulosus*, *Diphyllobothrium spp.*, and *T. solium*).

[831] Liver diseases and/or disorders include intrahepatic cholestasis (alagille syndrome, biliary liver cirrhosis), fatty liver (alcoholic fatty liver, reye syndrome), hepatic vein thrombosis, hepatocentric degeneration, hepatomegaly, hepatopulmonary syndrome, hepatorenal syndrome, portal hypertension (esophageal and gastric varicos), liver abscess (amebic liver abscess), liver cirrhosis (alcoholic, biliary and experimental), alcoholic liver diseases (fatty liver, hepatitis, cirrhosis), parasitic (hepatic echinococcosis, fascioliasis, amebic liver abscess), jaundice (hemolytic, hepatocellular, and cholestatic), cholestasis, portal hypertension, liver enlargement, ascites, hepatitis (alcoholic hepatitis, animal hepatitis, chronic hepatitis (autoimmune, hepatitis B, hepatitis C, hepatitis D, drug induced), toxic hepatitis, viral human hepatitis (hepatitis A, hepatitis B, hepatitis C, hepatitis D, hepatitis E), Wilson's disease, granulomatous hepatitis, secondary biliary cirrhosis, hepatic encephalopathy, portal hypertension, varices, hepatic encephalopathy, primary biliary cirrhosis, primary sclerosing cholangitis, hepatocellular adenoma, hemangiomas, bile stones, liver failure (hepatic encephalopathy, acute liver failure), and liver neoplasms (angiomyolipoma, calcified liver metastases, cystic liver metastases, epithelial tumors, fibrolamellar hepatocarcinoma, focal nodular hyperplasia, hepatic adenoma, hepatobiliary cystadenoma, hepatoblastoma, hepatocellular carcinoma, hepatoma, liver cancer, liver hemangioendothelioma, mesenchymal hamartoma, mesenchymal tumors of liver, nodular regenerative hyperplasia, benign liver tumors (Hepatic cysts [Simple cysts, Polycystic liver disease, Hepatobiliary cystadenoma, Choledochal cyst], Mesenchymal tumors [Mesenchymal hamartoma, Infantile hemangioendothelioma, Hemangioma, Peliosis hepatis, Lipomas, Inflammatory pseudotumor, Miscellaneous], Epithelial tumors [Bile duct epithelium (Bile duct hamartoma, Bile duct adenoma), Hepatocyte (Adenoma, Focal nodular hyperplasia, Nodular regenerative hyperplasia)], malignant liver tumors [hepatocellular, hepatoblastoma, hepatocellular carcinoma, cholangiocellular, cholangiocarcinoma, cystadenocarcinoma, tumors of blood vessels, angiosarcoma, Kaposi's sarcoma, hemangioendothelioma, other tumors, embryonal sarcoma, fibrosarcoma, leiomyosarcoma, rhabdomyosarcoma,

WO 02/02587

PCT/US01/20917

carcinosarcoma, teratoma, carcinoid, squamous carcinoma, primary lymphoma], peliosis hepatis, erythrohepatic porphyria, hepatic porphyria (acute intermittent porphyria, porphyria cutanea tarda), Zellweger syndrome).

[832] Pancreatic diseases and/or disorders include acute pancreatitis, chronic pancreatitis (acute necrotizing pancreatitis, alcoholic pancreatitis), neoplasms (adenocarcinoma of the pancreas, cystadenocarcinoma, insulinoma, gastrinoma, and glucagonoma, cystic neoplasms, islet-cell tumors, pancreoblastoma), and other pancreatic diseases (e.g., cystic fibrosis, cyst (pancreatic pseudocyst, pancreatic fistula, insufficiency)).

[833] Gallbladder diseases include gallstones (cholelithiasis and cholecholelithiasis), postcholecystectomy syndrome, diverticulosis of the gallbladder, acute cholecystitis, chronic cholecystitis, bile duct tumors, and mucocele.

[834] Diseases and/or disorders of the large intestine include antibiotic-associated colitis, diverticulitis, ulcerative colitis, acquired megacolon, abscesses, fungal and bacterial infections, anorectal disorders (e.g., fissures, hemorrhoids), colonic diseases (colitis, colonic neoplasms [colon cancer, adenomatous colon polyps (e.g., villous adenoma), colon carcinoma, colorectal cancer], colonic diverticulitis, colonic diverticulosis, megacolon [Hirschsprung disease, toxic megacolon]; sigmoid diseases [proctocolitis, sigmoid neoplasms]), constipation, Crohn's disease, diarrhea (infantile diarrhea, dysentery), duodenal diseases (duodenal neoplasms, duodenal obstruction, duodenal ulcer, duodenitis), enteritis (enterocolitis), HIV enteropathy, ileal diseases (ileal neoplasms, ileitis), immunoproliferative small intestinal disease, inflammatory bowel disease (ulcerative colitis, Crohn's disease), intestinal atresia, parasitic diseases (anisakiasis, balantidiasis, blastocystis infections, cryptosporidiosis, dientamoebiasis, amebic dysentery, giardiasis), intestinal fistula (rectal fistula), intestinal neoplasms (cecal neoplasms, colonic neoplasms, duodenal neoplasms, ileal neoplasms, intestinal polyps, jejunal neoplasms, rectal neoplasms), intestinal obstruction (afferent loop syndrome, duodenal obstruction, impacted feces, intestinal pseudo-obstruction [cecal volvulus], intussusception), intestinal perforation, intestinal polyps (colonic polyps, gardner syndrome, peutz-jeghers syndrome), jejunal diseases (jejunal neoplasms), malabsorption syndromes (blind loop syndrome, celiac disease, lactose intolerance, short bowel syndrome, tropical sprue, whipple's disease), mesenteric vascular occlusion, pneumatosis cystoides intestinalis, protein-losing enteropathies (intestinal lymphangiectasis), rectal diseases (anus diseases, fecal incontinence, hemorrhoids, proctitis, rectal fistula, rectal

WO 02/02587

PCT/US01/20917

prolapse, rectocele), peptic ulcer (duodenal ulcer, peptic esophagitis, hemorrhage, perforation, stomach ulcer, Zollinger-Ellison syndrome), postgastrectomy syndromes (dumping syndrome), stomach diseases (e.g., achlorhydria, duodenogastric reflux (bile reflux), gastric antral vascular ectasia, gastric fistula, gastric outlet obstruction, gastritis (atrophic or hypertrophic), gastroparesis, stomach dilatation, stomach diverticulum, stomach neoplasms (gastric cancer, gastric polyps, gastric adenocarcinoma, hyperplastic gastric polyp), stomach rupture, stomach ulcer, stomach volvulus), tuberculosis, visceropiosis, vomiting (e.g., hematemesis, hyperemesis gravidarum, postoperative nausea and vomiting) and hemorrhagic colitis.

[835] Further diseases and/or disorders of the gastrointestinal system include biliary tract diseases, such as, gastroschisis, fistula (e.g., biliary fistula, esophageal fistula, gastric fistula, intestinal fistula, pancreatic fistula), neoplasms (e.g., biliary tract neoplasms, esophageal neoplasms, such as adenocarcinoma of the esophagus, esophageal squamous cell carcinoma, gastrointestinal neoplasms, pancreatic neoplasms, such as adenocarcinoma of the pancreas, mucinous cystic neoplasm of the pancreas, pancreatic cystic neoplasms, pancreatoblastoma, and peritoneal neoplasms), esophageal disease (e.g., bullous diseases, candidiasis, glycogenic acanthosis, ulceration, Barrett esophagus varices, atresia, cyst, diverticulum (e.g., Zenker's diverticulum), fistula (e.g., trachoesophageal fistula), motility disorders (e.g., CREST syndrome, deglutition disorders, achalasia, spasm, gastroesophageal reflux), neoplasms, perforation (e.g., Boerhaave syndrome, Mallory-Weiss syndrome), stenosis, esophagitis, diaphragmatic hernia (e.g., hiatal hernia); gastrointestinal diseases, such as, gastroenteritis (e.g., cholera morbus, norwalk virus infection), hemorrhage (e.g., hematemesis, melena, peptic ulcer hemorrhage), stomach neoplasms (gastric cancer, gastric polyps, gastric adenocarcinoma, stomach cancer), hernia (e.g., congenital diaphragmatic hernia, femoral hernia, inguinal hernia, obturator hernia, umbilical hernia, ventral hernia), and intestinal diseases (e.g., cecal diseases (appendicitis, cecal neoplasms)).

Chemotaxis

[836] Polynucleotides or polypeptides, as well as agonists or antagonists of the present invention may have chemotaxis activity. A chemotaxis molecule attracts or mobilizes cells (e.g., monocytes, fibroblasts, neutrophils, T-cells, mast cells, eosinophils, epithelial and/or

WO 02/02587

PCT/US01/20917

endothelial cells) to a particular site in the body, such as inflammation, infection, or site of hyperproliferation. The mobilized cells can then fight off and/or heal the particular trauma or abnormality.

[837] Polynucleotides or polypeptides, as well as agonists or antagonists of the present invention may increase chemotactic activity of particular cells. These chemotactic molecules can then be used to treat inflammation, infection, hyperproliferative disorders, or any immune system disorder by increasing the number of cells targeted to a particular location in the body. For example, chemotactic molecules can be used to treat wounds and other trauma to tissues by attracting immune cells to the injured location. Chemotactic molecules of the present invention can also attract fibroblasts, which can be used to treat wounds.

[838] It is also contemplated that polynucleotides or polypeptides, as well as agonists or antagonists of the present invention may inhibit chemotactic activity. These molecules could also be used to treat disorders. Thus, polynucleotides or polypeptides, as well as agonists or antagonists of the present invention could be used as an inhibitor of chemotaxis.

Binding Activity

[839] A polypeptide of the present invention may be used to screen for molecules that bind to the polypeptide or for molecules to which the polypeptide binds. The binding of the polypeptide and the molecule may activate (agonist), increase, inhibit (antagonist), or decrease activity of the polypeptide or the molecule bound. Examples of such molecules include antibodies, oligonucleotides, proteins (e.g., receptors), or small molecules.

[840] Preferably, the molecule is closely related to the natural ligand of the polypeptide, e.g., a fragment of the ligand, or a natural substrate, a ligand, a structural or functional mimetic. (See, Coligan et al., *Current Protocols in Immunology* 1(2):Chapter 5 (1991)). Similarly, the molecule can be closely related to the natural receptor to which the polypeptide binds, or at least, a fragment of the receptor capable of being bound by the polypeptide (e.g., active site). In either case, the molecule can be rationally designed using known techniques.

[841] Preferably, the screening for these molecules involves producing appropriate cells which express the polypeptide. Preferred cells include cells from mammals, yeast, *Drosophila*, or *E. coli*. Cells expressing the polypeptide (or cell membrane containing the expressed polypeptide) are then preferably contacted with a test compound potentially

WO 02/02587

PCT/US01/20917

containing the molecule to observe binding, stimulation, or inhibition of activity of either the polypeptide or the molecule.

[842] The assay may simply test binding of a candidate compound to the polypeptide, wherein binding is detected by a label, or in an assay involving competition with a labeled competitor. Further, the assay may test whether the candidate compound results in a signal generated by binding to the polypeptide.

[843] Alternatively, the assay can be carried out using cell-free preparations, polypeptide/molecule affixed to a solid support, chemical libraries, or natural product mixtures. The assay may also simply comprise the steps of mixing a candidate compound with a solution containing a polypeptide, measuring polypeptide/molecule activity or binding, and comparing the polypeptide/molecule activity or binding to a standard.

[844] Preferably, an ELISA assay can measure polypeptide level or activity in a sample (e.g., biological sample) using a monoclonal or polyclonal antibody. The antibody can measure polypeptide level or activity by either binding, directly or indirectly, to the polypeptide or by competing with the polypeptide for a substrate.

[845] Additionally, the receptor to which the polypeptide of the present invention binds can be identified by numerous methods known to those of skill in the art, for example, ligand panning and FACS sorting (Coligan, et al., *Current Protocols in Immun.*, 1(2), Chapter 5, (1991)). For example, expression cloning is employed wherein polyadenylated RNA is prepared from a cell responsive to the polypeptides, for example, NIH3T3 cells which are known to contain multiple receptors for the FGF family proteins, and SC-3 cells, and a cDNA library created from this RNA is divided into pools and used to transfect COS cells or other cells that are not responsive to the polypeptides. Transfected cells which are grown on glass slides are exposed to the polypeptide of the present invention, after they have been labeled. The polypeptides can be labeled by a variety of means including iodination or inclusion of a recognition site for a site-specific protein kinase.

[846] Following fixation and incubation, the slides are subjected to auto-radiographic analysis. Positive pools are identified and sub-pools are prepared and re-transfected using an iterative sub-pooling and re-screening process, eventually yielding a single clone that encodes the putative receptor.

[847] As an alternative approach for receptor identification, the labeled polypeptides can be photoaffinity linked with cell membrane or extract preparations that express the receptor

WO 02/02587

PCT/US01/20917

molecule. Cross-linked material is resolved by PAGE analysis and exposed to X-ray film. The labeled complex containing the receptors of the polypeptides can be excised, resolved into peptide fragments, and subjected to protein microsequencing. The amino acid sequence obtained from microsequencing would be used to design a set of degenerate oligonucleotide probes to screen a cDNA library to identify the genes encoding the putative receptors.

[848] Moreover, the techniques of gene-shuffling, motif-shuffling, exon-shuffling, and/or codon-shuffling (collectively referred to as "DNA shuffling") may be employed to modulate the activities of the polypeptide of the present invention thereby effectively generating agonists and antagonists of the polypeptide of the present invention. See generally, U.S. Patent Nos. 5,605,793, 5,811,238, 5,830,721, 5,834,252, and 5,837,458, and Patten, P. A., *et al.*, *Curr. Opin. Biotechnol.* 8:724-33 (1997); Harayama, S. *Trends Biotechnol.* 16(2):76-82 (1998); Hansson, L. O., *et al.*, *J. Mol. Biol.* 287:265-76 (1999); and Lorenzo, M. M. and Blasco, R. *Biotechniques* 24(2):308-13 (1998); each of these patents and publications are hereby incorporated by reference). In one embodiment, alteration of polynucleotides and corresponding polypeptides may be achieved by DNA shuffling. DNA shuffling involves the assembly of two or more DNA segments into a desired molecule by homologous, or site-specific, recombination. In another embodiment, polynucleotides and corresponding polypeptides may be altered by being subjected to random mutagenesis by error-prone PCR, random nucleotide insertion or other methods prior to recombination. In another embodiment, one or more components, motifs, sections, parts, domains, fragments, etc., of the polypeptide of the present invention may be recombined with one or more components, motifs, sections, parts, domains, fragments, etc. of one or more heterologous molecules. In preferred embodiments, the heterologous molecules are family members. In further preferred embodiments, the heterologous molecule is a growth factor such as, for example, platelet-derived growth factor (PDGF), insulin-like growth factor (IGF-I), transforming growth factor (TGF)-alpha, epidermal growth factor (EGF), fibroblast growth factor (FGF), TGF-beta, bone morphogenetic protein (BMP)-2, BMP-4, BMP-5, BMP-6, BMP-7, activins A and B, decapentaplegic(dpp), 60A, OP-2, dorsalin, growth differentiation factors (GDFs), nodal, MIS, inhibin-alpha, TGF-beta1, TGF-beta2, TGF-beta3, TGF-beta5, and glial-derived neurotrophic factor (GDNF).

[849] Other preferred fragments are biologically active fragments of the polypeptide of the present invention. Biologically active fragments are those exhibiting activity similar, but

WO 02/02587

PCT/US01/20917

not necessarily identical, to an activity of the polypeptide of the present invention. The biological activity of the fragments may include an improved desired activity, or a decreased undesirable activity.

[850] Additionally, this invention provides a method of screening compounds to identify those which modulate the action of the polypeptide of the present invention. An example of such an assay comprises combining a mammalian fibroblast cell, a the polypeptide of the present invention, the compound to be screened and ^3H thymidine under cell culture conditions where the fibroblast cell would normally proliferate. A control assay may be performed in the absence of the compound to be screened and compared to the amount of fibroblast proliferation in the presence of the compound to determine if the compound stimulates proliferation by determining the uptake of ^3H thymidine in each case. The amount of fibroblast cell proliferation is measured by liquid scintillation chromatography which measures the incorporation of ^3H thymidine. Both agonist and antagonist compounds may be identified by this procedure.

[851] In another method, a mammalian cell or membrane preparation expressing a receptor for a polypeptide of the present invention is incubated with a labeled polypeptide of the present invention in the presence of the compound. The ability of the compound to enhance or block this interaction could then be measured. Alternatively, the response of a known second messenger system following interaction of a compound to be screened and the receptor is measured and the ability of the compound to bind to the receptor and elicit a second messenger response is measured to determine if the compound is a potential agonist or antagonist. Such second messenger systems include but are not limited to, cAMP guanylate cyclase, ion channels or phosphoinositide hydrolysis.

[852] All of these above assays can be used as diagnostic or prognostic markers. The molecules discovered using these assays can be used to treat disease or to bring about a particular result in a patient (e.g., blood vessel growth) by activating or inhibiting the polypeptide/molecule. Moreover, the assays can discover agents which may inhibit or enhance the production of the polypeptides of the invention from suitably manipulated cells or tissues.

[853] Therefore, the invention includes a method of identifying compounds which bind to a polypeptide of the invention comprising the steps of: (a) incubating a candidate binding

WO 02/02587

PCT/US01/20917

compound with a polypeptide of the present invention; and (b) determining if binding has occurred. Moreover, the invention includes a method of identifying agonists/antagonists comprising the steps of: (a) incubating a candidate compound with a polypeptide of the present invention, (b) assaying a biological activity, and (c) determining if a biological activity of the polypeptide has been altered.

Targeted Delivery

[854] In another embodiment, the invention provides a method of delivering compositions to targeted cells expressing a receptor for a polypeptide of the invention, or cells expressing a cell bound form of a polypeptide of the invention.

[855] As discussed herein, polypeptides or antibodies of the invention may be associated with heterologous polypeptides, heterologous nucleic acids, toxins, or prodrugs via hydrophobic, hydrophilic, ionic and/or covalent interactions. In one embodiment, the invention provides a method for the specific delivery of compositions of the invention to cells by administering polypeptides of the invention (including antibodies) that are associated with heterologous polypeptides or nucleic acids. In one example, the invention provides a method for delivering a therapeutic protein into the targeted cell. In another example, the invention provides a method for delivering a single stranded nucleic acid (e.g., antisense or ribozymes) or double stranded nucleic acid (e.g., DNA that can integrate into the cell's genome or replicate episomally and that can be transcribed) into the targeted cell.

[856] In another embodiment, the invention provides a method for the specific destruction of cells (e.g., the destruction of tumor cells) by administering polypeptides of the invention (e.g., polypeptides of the invention or antibodies of the invention) in association with toxins or cytotoxic prodrugs.

[857] By "toxin" is meant compounds that bind and activate endogenous cytotoxic effector systems, radioisotopes, holotoxins, modified toxins, catalytic subunits of toxins, or any molecules or enzymes not normally present in or on the surface of a cell that under defined conditions cause the cell's death. Toxins that may be used according to the methods of the invention include, but are not limited to, radioisotopes known in the art, compounds such as, for example, antibodies (or complement fixing containing portions thereof) that bind an inherent or induced endogenous cytotoxic effector system, thymidine kinase, endonuclease, RNase, alpha toxin, ricin, abrin, *Pseudomonas* exotoxin A, diphtheria toxin,

WO 02/02587

PCT/US01/20917

saporin, momordin, gelonin, pokeweed antiviral protein, alpha-sarcin and cholera toxin. By "cytotoxic prodrug" is meant a non-toxic compound that is converted by an enzyme, normally present in the cell, into a cytotoxic compound. Cytotoxic prodrugs that may be used according to the methods of the invention include, but are not limited to, glutaryl derivatives of benzoic acid mustard alkylating agent, phosphate derivatives of etoposide or mitomycin C, cytosine arabinoside, daunorubicin, and phenoxyacetamide derivatives of doxorubicin.

Drug Screening

[858] Further contemplated is the use of the polypeptides of the present invention, or the polynucleotides encoding these polypeptides, to screen for molecules which modify the activities of the polypeptides of the present invention. Such a method would include contacting the polypeptide of the present invention with a selected compound(s) suspected of having antagonist or agonist activity, and assaying the activity of these polypeptides following binding.

[859] This invention is particularly useful for screening therapeutic compounds by using the polypeptides of the present invention, or binding fragments thereof, in any of a variety of drug screening techniques. The polypeptide or fragment employed in such a test may be affixed to a solid support, expressed on a cell surface, free in solution, or located intracellularly. One method of drug screening utilizes eukaryotic or prokaryotic host cells which are stably transformed with recombinant nucleic acids expressing the polypeptide or fragment. Drugs are screened against such transformed cells in competitive binding assays. One may measure, for example, the formulation of complexes between the agent being tested and a polypeptide of the present invention.

[860] Thus, the present invention provides methods of screening for drugs or any other agents which affect activities mediated by the polypeptides of the present invention. These methods comprise contacting such an agent with a polypeptide of the present invention or a fragment thereof and assaying for the presence of a complex between the agent and the polypeptide or a fragment thereof, by methods well known in the art. In such a competitive binding assay, the agents to screen are typically labeled. Following incubation, free agent is separated from that present in bound form, and the amount of free or uncomplexed label is a

WO 02/02587

PCT/US01/20917

measure of the ability of a particular agent to bind to the polypeptides of the present invention.

[861] Another technique for drug screening provides high throughput screening for compounds having suitable binding affinity to the polypeptides of the present invention, and is described in great detail in European Patent Application 84/03564, published on September 13, 1984, which is incorporated herein by reference herein. Briefly stated, large numbers of different small peptide test compounds are synthesized on a solid substrate, such as plastic pins or some other surface. The peptide test compounds are reacted with polypeptides of the present invention and washed. Bound polypeptides are then detected by methods well known in the art. Purified polypeptides are coated directly onto plates for use in the aforementioned drug screening techniques. In addition, non-neutralizing antibodies may be used to capture the peptide and immobilize it on the solid support.

[862] This invention also contemplates the use of competitive drug screening assays in which neutralizing antibodies capable of binding polypeptides of the present invention specifically compete with a test compound for binding to the polypeptides or fragments thereof. In this manner, the antibodies are used to detect the presence of any peptide which shares one or more antigenic epitopes with a polypeptide of the invention.

Antisense And Ribozyme (Antagonists)

[863] In specific embodiments, antagonists according to the present invention are nucleic acids corresponding to the sequences contained in SEQ ID NO: X, or the complementary strand thereof, and/or to cDNA sequences contained in cDNA plasmid: Z identified for example, in Table 1. In one embodiment, antisense sequence is generated internally, by the organism, in another embodiment, the antisense sequence is separately administered (see, for example, O'Connor, J., *Neurochem.* 56:560 (1991). *Oligodeoxynucleotides as Antisense Inhibitors of Gene Expression*, CRC Press, Boca Raton, FL (1988). Antisense technology can be used to control gene expression through antisense DNA or RNA, or through triple-helix formation. Antisense techniques are discussed for example, in Okano, J., *Neurochem.* 56:560 (1991); *Oligodeoxynucleotides as Antisense Inhibitors of Gene Expression*, CRC Press, Boca Raton, FL (1988). Triple helix formation is discussed in, for instance, Lee et al., *Nucleic Acids Research* 6:3073 (1979); Cooney et al., *Science* 241:456 (1988); and Dervan et

WO 02/02587

PCT/US01/20917

al., Science 251:1300 (1991). The methods are based on binding of a polynucleotide to a complementary DNA or RNA.

[864] For example, the use of c-myc and c-myb antisense RNA constructs to inhibit the growth of the non-lymphocytic leukemia cell line HL-60 and other cell lines was previously described. (Wickstrom et al. (1988); Anfossi et al. (1989)). These experiments were performed *in vitro* by incubating cells with the oligonucleotide. A similar procedure for *in vivo* use is described in WO 91/15580. Briefly, a pair of oligonucleotides for a given antisense RNA is produced as follows: A sequence complimentary to the first 15 bases of the open reading frame is flanked by an EcoRI site on the 5' end and a HindIII site on the 3' end. Next, the pair of oligonucleotides is heated at 90°C for one minute and then annealed in 2X ligation buffer (20mM TRIS HCl pH 7.5, 10mM MgCl₂, 10mM dithiothreitol (DTT) and 0.2 mM ATP) and then ligated to the EcoRI/Hind III site of the retroviral vector PMV7 (WO 91/15580).

[865] For example, the 5' coding portion of a polynucleotide that encodes the polypeptide of the present invention may be used to design an antisense RNA oligonucleotide of from about 10 to 40 base pairs in length. A DNA oligonucleotide is designed to be complementary to a region of the gene involved in transcription thereby preventing transcription and the production of the receptor. The antisense RNA oligonucleotide hybridizes to the mRNA *in vivo* and blocks translation of the mRNA molecule into receptor polypeptide.

[866] In one embodiment, the antisense nucleic acid of the invention is produced intracellularly by transcription from an exogenous sequence. For example, a vector or a portion thereof, is transcribed, producing an antisense nucleic acid (RNA) of the invention. Such a vector would contain a sequence encoding the antisense nucleic acid. Such a vector can remain episomal or become chromosomally integrated, as long as it can be transcribed to produce the desired antisense RNA. Such vectors can be constructed by recombinant DNA technology methods standard in the art. Vectors can be plasmid, viral, or others known in the art, used for replication and expression in vertebrate cells. Expression of the sequence encoding the polypeptide of the present invention or fragments thereof, can be by any promoter known in the art to act in vertebrate, preferably human cells. Such promoters can be inducible or constitutive. Such promoters include, but are not limited to, the SV40 early promoter region (Bernoist and Chambon, Nature 29:304-310 (1981), the promoter contained

WO 02/02587

PCT/US01/20917

in the 3' long terminal repeat of Rous sarcoma virus (Yamamoto et al., Cell 22:787-797 (1980), the herpes thymidine promoter (Wagner et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 78:1441-1445 (1981), the regulatory sequences of the metallothionein gene (Brinster, et al., Nature 296:39-42 (1982)), etc.

[867] The antisense nucleic acids of the invention comprise a sequence complementary to at least a portion of an RNA transcript of a gene of the present invention. However, absolute complementarity, although preferred, is not required. A sequence "complementary to at least a portion of an RNA," referred to herein, means a sequence having sufficient complementarity to be able to hybridize with the RNA, forming a stable duplex; in the case of double stranded antisense nucleic acids, a single strand of the duplex DNA may thus be tested, or triplex formation may be assayed. The ability to hybridize will depend on both the degree of complementarity and the length of the antisense nucleic acid. Generally, the larger the hybridizing nucleic acid, the more base mismatches with a RNA it may contain and still form a stable duplex (or triplex as the case may be). One skilled in the art can ascertain a tolerable degree of mismatch by use of standard procedures to determine the melting point of the hybridized complex.

[868] Oligonucleotides that are complementary to the 5' end of the message, e.g., the 5' untranslated sequence up to and including the AUG initiation codon, should work most efficiently at inhibiting translation. However, sequences complementary to the 3' untranslated sequences of mRNAs have been shown to be effective at inhibiting translation of mRNAs as well. See generally, Wagner, R., 1994, Nature 372:333-335. Thus, oligonucleotides complementary to either the 5'- or 3'- non-translated, non-coding regions of polynucleotide sequences described herein could be used in an antisense approach to inhibit translation of endogenous mRNA. Oligonucleotides complementary to the 5' untranslated region of the mRNA should include the complement of the AUG start codon. Antisense oligonucleotides complementary to mRNA coding regions are less efficient inhibitors of translation but could be used in accordance with the invention. Whether designed to hybridize to the 5', 3' or coding region of mRNA of the present invention, antisense nucleic acids should be at least six nucleotides in length, and are preferably oligonucleotides ranging from 6 to about 50 nucleotides in length. In specific aspects the oligonucleotide is at least 10 nucleotides, at least 17 nucleotides, at least 25 nucleotides or at least 50 nucleotides.

[869] The polynucleotides of the invention can be DNA or RNA or chimeric mixtures or

WO 02/02587

PCT/US01/20917

derivatives or modified versions thereof, single-stranded or double-stranded. The oligonucleotide can be modified at the base moiety, sugar moiety, or phosphate backbone, for example, to improve stability of the molecule, hybridization, etc. The oligonucleotide may include other appended groups such as peptides (e.g., for targeting host cell receptors *in vivo*), or agents facilitating transport across the cell membrane (see, e.g., Letsinger et al., 1989, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 86:6553-6556; Lemaitre et al., 1987, Proc. Natl. Acad. Sci. 84:648-652; PCT Publication No. WO88/09810, published December 15, 1988) or the blood-brain barrier (see, e.g., PCT Publication No. WO89/10134, published April 25, 1988), hybridization-triggered cleavage agents. (See, e.g., Krol et al., 1988, BioTechniques 6:958-976) or intercalating agents. (See, e.g., Zon, 1988, Pharm. Res. 5:539-549). To this end, the oligonucleotide may be conjugated to another molecule, e.g., a peptide, hybridization triggered cross-linking agent, transport agent, hybridization-triggered cleavage agent, etc.

[870] The antisense oligonucleotide may comprise at least one modified base moiety which is selected from the group including, but not limited to, 5-fluorouracil, 5-bromouracil, 5-chlorouracil, 5-iodouracil, hypoxanthine, xantine, 4-acetylcytosine, 5-(carboxyhydroxymethyl) uracil, 5-carboxymethylaminomethyl-2-thiouridine, 5-carboxymethylaminomethyluracil, dihydrouracil, beta-D-galactosylquosine, inosine, N6-isopentenyladenine, 1-methylguanine, 1-methylinosine, 2,2-dimethylguanine, 2-methyladenine, 2-methylguanine, 3-methylcytosine, 5-methylcytosine, N6-adenine, 7-methylguanine, 5-methylaminomethyluracil, 5-methoxyaminomethyl-2-thiouracil, beta-D-mannosylquosine, 5'-methoxycarboxymethyluracil, 5-methoxyuracil, 2-methylthio-N6-isopentenyladenine, uracil-5-oxyacetic acid (v), wybutoxosine, pseudouracil, quosine, 2-thiocytosine, 5-methyl-2-thiouracil, 2-thiouracil, 4-thiouracil, 5-methyluracil, uracil-5-oxyacetic acid methyl ester, uracil-5-oxyacetic acid (v), 5-methyl-2-thiouracil, 3-(3-amino-3-N-2-carboxypropyl) uracil, (acp3)w, and 2,6-diaminopurine.

[871] The antisense oligonucleotide may also comprise at least one modified sugar moiety selected from the group including, but not limited to, arabinose, 2-fluoroarabinose, xylulose, and hexose.

[872] In yet another embodiment, the antisense oligonucleotide comprises at least one modified phosphate backbone selected from the group including, but not limited to, a phosphorothioate, a phosphorodithioate, a phosphoramidothioate, a phosphoramidate, a

WO 02/02587

PCT/US01/20917

phosphordiamidate, a methylphosphonate, an alkyl phosphotriester, and a formacetal or analog thereof.

[873] In yet another embodiment, the antisense oligonucleotide is an a-anomeric oligonucleotide. An a-anomeric oligonucleotide forms specific double-stranded hybrids with complementary RNA in which, contrary to the usual b-units, the strands run parallel to each other (Gautier et al., 1987, Nucl. Acids Res. 15:6625-6641). The oligonucleotide is a 2'-O-methylribonucleotide (Inoue et al., 1987, Nucl. Acids Res. 15:6131-6148), or a chimeric RNA-DNA analogue (Inoue et al., 1987, FEBS Lett. 215:327-330).

[874] Polynucleotides of the invention may be synthesized by standard methods known in the art, e.g. by use of an automated DNA synthesizer (such as are commercially available from Biosearch, Applied Biosystems, etc.). As examples, phosphorothioate oligonucleotides may be synthesized by the method of Stein et al. (1988, Nucl. Acids Res. 16:3209), methylphosphonate oligonucleotides can be prepared by use of controlled pore glass polymer supports (Sarin et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 85:7448-7451), etc.

[875] While antisense nucleotides complementary to the coding region sequence could be used, those complementary to the transcribed untranslated region are most preferred.

[876] Potential antagonists according to the invention also include catalytic RNA, or a ribozyme (See, e.g., PCT International Publication WO 90/11364, published October 4, 1990; Sarver et al, Science 247:1222-1225 (1990). While ribozymes that cleave mRNA at site specific recognition sequences can be used to destroy mRNAs, the use of hammerhead ribozymes is preferred. Hammerhead ribozymes cleave mRNAs at locations dictated by flanking regions that form complementary base pairs with the target mRNA. The sole requirement is that the target mRNA have the following sequence of two bases: 5'-UG-3'. The construction and production of hammerhead ribozymes is well known in the art and is described more fully in Haseloff and Gerlach, Nature 334:585-591 (1988). There are numerous potential hammerhead ribozyme cleavage sites within the nucleotide sequence of SEQ ID NO:X. Preferably, the ribozyme is engineered so that the cleavage recognition site is located near the 5' end of the mRNA; i.e., to increase efficiency and minimize the intracellular accumulation of non-functional mRNA transcripts.

[877] As in the antisense approach, the ribozymes of the invention can be composed of modified oligonucleotides (e.g., for improved stability, targeting, etc.) and should be delivered to cells which express *in vivo*. DNA constructs encoding the ribozyme may be

WO 02/02587

PCT/US01/20917

introduced into the cell in the same manner as described above for the introduction of antisense encoding DNA. A preferred method of delivery involves using a DNA construct "encoding" the ribozyme under the control of a strong constitutive promoter, such as, for example, pol III or pol II promoter, so that transfected cells will produce sufficient quantities of the ribozyme to destroy endogenous messages and inhibit translation. Since ribozymes unlike antisense molecules, are catalytic, a lower intracellular concentration is required for efficiency.

[878] Antagonist/agonist compounds may be employed to inhibit the cell growth and proliferation effects of the polypeptides of the present invention on neoplastic cells and tissues, i.e. stimulation of angiogenesis of tumors, and, therefore, retard or prevent abnormal cellular growth and proliferation, for example, in tumor formation or growth.

[879] The antagonist/agonist may also be employed to prevent hyper-vascular diseases, and prevent the proliferation of epithelial lens cells after extracapsular cataract surgery. Prevention of the mitogenic activity of the polypeptides of the present invention may also be desirable in cases such as restenosis after balloon angioplasty.

[880] The antagonist/agonist may also be employed to prevent the growth of scar tissue during wound healing.

[881] The antagonist/agonist may also be employed to treat the diseases described herein.

[882] Thus, the invention provides a method of treating disorders or diseases, including but not limited to the disorders or diseases listed throughout this application, associated with overexpression of a polynucleotide of the present invention by administering to a patient (a) an antisense molecule directed to the polynucleotide of the present invention, and/or (b) a ribozyme directed to the polynucleotide of the present invention.

Binding Peptides and Other Molecules

[883] The invention also encompasses screening methods for identifying polypeptides and nonpolypeptides that bind polypeptides of the invention, and the binding molecules identified thereby. These binding molecules are useful, for example, as agonists and antagonists of the polypeptides of the invention. Such agonists and antagonists can be used, in accordance with the invention, in the therapeutic embodiments described in detail, below.

[884] This method comprises the steps of:

WO 02/02587

PCT/US01/20917

1. contacting polypeptides of the invention with a plurality of molecules; and
2. identifying a molecule that binds the polypeptides of the invention.

[885] The step of contacting the polypeptides of the invention with the plurality of molecules may be effected in a number of ways. For example, one may contemplate immobilizing the polypeptides on a solid support and bringing a solution of the plurality of molecules in contact with the immobilized polypeptides. Such a procedure would be akin to an affinity chromatographic process, with the affinity matrix being comprised of the immobilized polypeptides of the invention. The molecules having a selective affinity for the polypeptides can then be purified by affinity selection. The nature of the solid support, process for attachment of the polypeptides to the solid support, solvent, and conditions of the affinity isolation or selection are largely conventional and well known to those of ordinary skill in the art.

[886] Alternatively, one may also separate a plurality of polypeptides into substantially separate fractions comprising a subset of or individual polypeptides. For instance, one can separate the plurality of polypeptides by gel electrophoresis, column chromatography, or like method known to those of ordinary skill for the separation of polypeptides. The individual polypeptides can also be produced by a transformed host cell in such a way as to be expressed on or about its outer surface (e.g., a recombinant phage). Individual isolates can then be "probed" by the polypeptides of the invention, optionally in the presence of an inducer should one be required for expression, to determine if any selective affinity interaction takes place between the polypeptides and the individual clone. Prior to contacting the polypeptides with each fraction comprising individual polypeptides, the polypeptides could first be transferred to a solid support for additional convenience. Such a solid support may simply be a piece of filter membrane, such as one made of nitrocellulose or nylon. In this manner, positive clones could be identified from a collection of transformed host cells of an expression library, which harbor a DNA construct encoding a polypeptide having a selective affinity for polypeptides of the invention. Furthermore, the amino acid sequence of the polypeptide having a selective affinity for the polypeptides of the invention can be determined directly by conventional means or the coding sequence of the DNA encoding the polypeptide can frequently be determined more conveniently. The primary sequence can then be deduced from the corresponding DNA sequence. If the amino acid sequence is to be determined from the polypeptide itself, one may use microsequencing techniques. The

WO 02/02587

PCT/US01/20917

sequencing technique may include mass spectroscopy.

[887] In certain situations, it may be desirable to wash away any unbound polypeptides from a mixture of the polypeptides of the invention and the plurality of polypeptides prior to attempting to determine or to detect the presence of a selective affinity interaction. Such a wash step may be particularly desirable when the polypeptides of the invention or the plurality of polypeptides are bound to a solid support.

[888] The plurality of molecules provided according to this method may be provided by way of diversity libraries, such as random or combinatorial peptide or nonpeptide libraries which can be screened for molecules that specifically bind polypeptides of the invention. Many libraries are known in the art that can be used, e.g., chemically synthesized libraries, recombinant (e.g., phage display libraries), and in vitro translation-based libraries. Examples of chemically synthesized libraries are described in Fodor et al., 1991, *Science* 251:767-773; Houghten et al., 1991, *Nature* 354:84-86; Lam et al., 1991, *Nature* 354:82-84; Medynski, 1994, *Bio/Technology* 12:709-710; Gallop et al., 1994, *J. Medicinal Chemistry* 37(9):1233-1251; Ohlmeyer et al., 1993, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:10922-10926; Erb et al., 1994, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:11422-11426; Houghten et al., 1992, *Biotechniques* 13:412; Jayawickreme et al., 1994, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:1614-1618; Salmon et al., 1993, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:11708-11712; PCT Publication No. WO 93/20242; and Brenner and Lerner, 1992, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:5381-5383.

[889] Examples of phage display libraries are described in Scott and Smith, 1990, *Science* 249:386-390; Devlin et al., 1990, *Science*, 249:404-406; Christian, R. B., et al., 1992, *J. Mol. Biol.* 227:711-718; Lenstra, 1992, *J. Immunol. Meth.* 152:149-157; Kay et al., 1993, *Gene* 128:59-65; and PCT Publication No. WO 94/18318 dated Aug. 18, 1994.

[890] In vitro translation-based libraries include but are not limited to those described in PCT Publication No. WO 91/05058 dated Apr. 18, 1991; and Mattheakis et al., 1994, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:9022-9026.

[891] By way of examples of nonpeptide libraries, a benzodiazepine library (see e.g., Bunin et al., 1994, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:4708-4712) can be adapted for use. Peptoid libraries (Simon et al., 1992, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:9367-9371) can also be used. Another example of a library that can be used, in which the amide functionalities in peptides have been permethylated to generate a chemically transformed combinatorial library, is described by Ostresh et al. (1994, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:11138-11142).

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[892] The variety of non-peptide libraries that are useful in the present invention is great. For example, Becker and Crooke, 1995, *Bio/Technology* 13:351-360 list benzodiazepines, hydantoins, piperazinediones, biphenyls, sugar analogs, beta-mercaptoketones, arylacetic acids, acylpiperidines, benzopyrans, cubane, xanthines, aminimides, and oxazolones as among the chemical species that form the basis of various libraries.

[893] Non-peptide libraries can be classified broadly into two types: decorated monomers and oligomers. Decorated monomer libraries employ a relatively simple scaffold structure upon which a variety functional groups is added. Often the scaffold will be a molecule with a known useful pharmacological activity. For example, the scaffold might be the benzodiazepine structure.

[894] Non-peptide oligomer libraries utilize a large number of monomers that are assembled together in ways that create new shapes that depend on the order of the monomers. Among the monomer units that have been used are carbamates, pyrrolinones, and morpholinos. Peptoids, peptide-like oligomers in which the side chain is attached to the alpha amino group rather than the alpha carbon, form the basis of another version of non-peptide oligomer libraries. The first non-peptide oligomer libraries utilized a single type of monomer and thus contained a repeating backbone. Recent libraries have utilized more than one monomer, giving the libraries added flexibility.

[895] Screening the libraries can be accomplished by any of a variety of commonly known methods. See, e.g., the following references, which disclose screening of peptide libraries: Parmley and Smith, 1989, *Adv. Exp. Med. Biol.* 251:215-218; Scott and Smith, 1990, *Science* 249:386-390; Fowlkes et al., 1992, *BioTechniques* 13:422-427; Oldenburg et al., 1992, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:5393-5397; Yu et al., 1994, *Cell* 76:933-945; Staudt et al., 1988, *Science* 241:577-580; Bock et al., 1992, *Nature* 355:564-566; Tuerk et al., 1992, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:6988-6992; Ellington et al., 1992, *Nature* 355:850-852; U.S. Pat. No. 5,096,815, U.S. Pat. No. 5,223,409, and U.S. Pat. No. 5,198,346, all to Ladner et al.; Rebar and Pabo, 1993, *Science* 263:671-673; and CT Publication No. WO 94/18318.

[896] In a specific embodiment, screening to identify a molecule that binds polypeptides of the invention can be carried out by contacting the library members with polypeptides of the invention immobilized on a solid phase and harvesting those library members that bind to the polypeptides of the invention. Examples of such screening methods, termed "panning" techniques are described by way of example in Parmley and Smith, 1988, *Gene* 73:305-318;

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Fowlkes et al., 1992, BioTechniques 13:422-427; PCT Publication No. WO 94/18318; and in references cited herein.

[897] In another embodiment, the two-hybrid system for selecting interacting proteins in yeast (Fields and Song, 1989, Nature 340:245-246; Chien et al., 1991, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:9578-9582) can be used to identify molecules that specifically bind to polypeptides of the invention.

[898] Where the binding molecule is a polypeptide, the polypeptide can be conveniently selected from any peptide library, including random peptide libraries, combinatorial peptide libraries, or biased peptide libraries. The term "biased" is used herein to mean that the method of generating the library is manipulated so as to restrict one or more parameters that govern the diversity of the resulting collection of molecules, in this case peptides.

[899] Thus, a truly random peptide library would generate a collection of peptides in which the probability of finding a particular amino acid at a given position of the peptide is the same for all 20 amino acids. A bias can be introduced into the library, however, by specifying, for example, that a lysine occur every fifth amino acid or that positions 4, 8, and 9 of a decapeptide library be fixed to include only arginine. Clearly, many types of biases can be contemplated, and the present invention is not restricted to any particular bias. Furthermore, the present invention contemplates specific types of peptide libraries, such as phage displayed peptide libraries and those that utilize a DNA construct comprising a lambda phage vector with a DNA insert.

[900] As mentioned above, in the case of a binding molecule that is a polypeptide, the polypeptide may have about 6 to less than about 60 amino acid residues, preferably about 6 to about 10 amino acid residues, and most preferably, about 6 to about 22 amino acids. In another embodiment, a binding polypeptide has in the range of 15-100 amino acids, or 20-50 amino acids.

[901] The selected binding polypeptide can be obtained by chemical synthesis or recombinant expression.

Other Activities

[902] A polypeptide, polynucleotide, agonist, or antagonist of the present invention, as a result of the ability to stimulate vascular endothelial cell growth, may be employed in treatment for stimulating re-vascularization of ischemic tissues due to various disease

WO 02/02587

PCT/US01/20917

conditions such as thrombosis, arteriosclerosis, and other cardiovascular conditions. The polypeptide, polynucleotide, agonist, or antagonist of the present invention may also be employed to stimulate angiogenesis and limb regeneration, as discussed above.

[903] A polypeptide, polynucleotide, agonist, or antagonist of the present invention may also be employed for treating wounds due to injuries, burns, post-operative tissue repair, and ulcers since they are mitogenic to various cells of different origins, such as fibroblast cells and skeletal muscle cells, and therefore, facilitate the repair or replacement of damaged or diseased tissue.

[904] A polypeptide, polynucleotide, agonist, or antagonist of the present invention may also be employed stimulate neuronal growth and to treat and prevent neuronal damage which occurs in certain neuronal disorders or neuro-degenerative conditions such as Alzheimer's disease, Parkinson's disease, and AIDS-related complex. A polypeptide, polynucleotide, agonist, or antagonist of the present invention may have the ability to stimulate chondrocyte growth, therefore, they may be employed to enhance bone and periodontal regeneration and aid in tissue transplants or bone grafts.

[905] A polypeptide, polynucleotide, agonist, or antagonist of the present invention may be also be employed to prevent skin aging due to sunburn by stimulating keratinocyte growth.

[906] A polypeptide, polynucleotide, agonist, or antagonist of the present invention may also be employed for preventing hair loss, since FGF family members activate hair-forming cells and promotes melanocyte growth. Along the same lines, a polypeptide, polynucleotide, agonist, or antagonist of the present invention may be employed to stimulate growth and differentiation of hematopoietic cells and bone marrow cells when used in combination with other cytokines.

[907] A polypeptide, polynucleotide, agonist, or antagonist of the present invention may also be employed to maintain organs before transplantation or for supporting cell culture of primary tissues. A polypeptide, polynucleotide, agonist, or antagonist of the present invention may also be employed for inducing tissue of mesodermal origin to differentiate in early embryos.

[908] A polypeptide, polynucleotide, agonist, or antagonist of the present invention may also increase or decrease the differentiation or proliferation of embryonic stem cells, besides, as discussed above, hematopoietic lineage.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[909] A polypeptide, polynucleotide, agonist, or antagonist of the present invention may also be used to modulate mammalian characteristics, such as body height, weight, hair color, eye color, skin, percentage of adipose tissue, pigmentation, size, and shape (e.g., cosmetic surgery). Similarly, a polypeptide, polynucleotide, agonist, or antagonist of the present invention may be used to modulate mammalian metabolism affecting catabolism, anabolism, processing, utilization, and storage of energy.

[910] A polypeptide, polynucleotide, agonist, or antagonist of the present invention may be used to treat weight disorders, including but not limited to, obesity, cachexia, wasting disease, anorexia, and bulimia.

[911] A polypeptide, polynucleotide, agonist, or antagonist of the present invention may be used to change a mammal's mental state or physical state by influencing biorhythms, circadian rhythms, depression (including depressive disorders), tendency for violence, tolerance for pain, reproductive capabilities (preferably by Activin or Inhibin-like activity), hormonal or endocrine levels, appetite, libido, memory, stress, or other cognitive qualities.

[912] A polypeptide, polynucleotide, agonist, or antagonist of the present invention may also be used as a food additive or preservative, such as to increase or decrease storage capabilities, fat content, lipid, protein, carbohydrate, vitamins, minerals, cofactors or other nutritional components.

[913] The above-recited applications have uses in a wide variety of hosts. Such hosts include, but are not limited to, human, murine, rabbit, goat, guinea pig, camel, horse, mouse, rat, hamster, pig, micro-pig, chicken, goat, cow, sheep, dog, cat, non-human primate, and human. In specific embodiments, the host is a mouse, rabbit, goat, guinea pig, chicken, rat, hamster, pig, sheep, dog or cat. In preferred embodiments, the host is a mammal. In most preferred embodiments, the host is a human.

Other Preferred Embodiments

[914] Other preferred embodiments of the claimed invention include an isolated nucleic acid molecule comprising a nucleotide sequence which is at least 95% identical to a sequence of at least about 50 contiguous nucleotides in the nucleotide sequence of SEQ ID NO:X or the complementary strand thereto, and/or cDNA plasmid:V.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[915] Also preferred is a nucleic acid molecule wherein said sequence of contiguous nucleotides is included in the nucleotide sequence of SEQ ID NO:X in the range of positions identified for SEQ ID NO:X in Table 1.

[916] Also preferred is an isolated nucleic acid molecule comprising a nucleotide sequence which is at least 95% identical to a sequence of at least about 150 contiguous nucleotides in the nucleotide sequence of SEQ ID NO:X or the complementary strand thereto, and/or cDNA plasmid:V.

[917] Further preferred is an isolated nucleic acid molecule comprising a nucleotide sequence which is at least 95% identical to a sequence of at least about 500 contiguous nucleotides in the nucleotide sequence of SEQ ID NO:X or the complementary strand thereto, and/or cDNA plasmid:V.

[918] A further preferred embodiment is a nucleic acid molecule comprising a nucleotide sequence which is at least 95% identical to the nucleotide sequence of SEQ ID NO:X in the range of positions identified for SEQ ID NO:X in Table 1.

[919] A further preferred embodiment is an isolated nucleic acid molecule comprising a nucleotide sequence which is at least 95% identical to the complete nucleotide sequence of SEQ ID NO:X or the complementary strand thereto, and/or cDNA plasmid:V.

[920] Also preferred is an isolated nucleic acid molecule which hybridizes under stringent hybridization conditions to a nucleic acid molecule comprising a nucleotide sequence of SEQ ID NO:X or the complementary strand thereto and/or cDNA plasmid:V, wherein said nucleic acid molecule which hybridizes does not hybridize under stringent hybridization conditions to a nucleic acid molecule having a nucleotide sequence consisting of only A residues or of only T residues.

[921] Also preferred is a composition of matter comprising a DNA molecule which comprises cDNA plasmid:V.

[922] Also preferred is an isolated nucleic acid molecule comprising a nucleotide sequence which is at least 95% identical to a sequence of at least 50 contiguous nucleotides in the nucleotide sequence of cDNA plasmid:V.

[923] Also preferred is an isolated nucleic acid molecule, wherein said sequence of at least 50 contiguous nucleotides is included in the nucleotide sequence of an open reading frame sequence encoded by cDNA plasmid:V.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[924] Also preferred is an isolated nucleic acid molecule comprising a nucleotide sequence which is at least 95% identical to sequence of at least 150 contiguous nucleotides in the nucleotide sequence encoded by cDNA plasmid:V.

[925] A further preferred embodiment is an isolated nucleic acid molecule comprising a nucleotide sequence which is at least 95% identical to sequence of at least 500 contiguous nucleotides in the nucleotide sequence encoded by cDNA plasmid:V.

[926] A further preferred embodiment is an isolated nucleic acid molecule comprising a nucleotide sequence which is at least 95% identical to the complete nucleotide sequence encoded by cDNA plasmid:V.

[927] A further preferred embodiment is a method for detecting in a biological sample a nucleic acid molecule comprising a nucleotide sequence which is at least 95% identical to a sequence of at least 50 contiguous nucleotides in a sequence selected from the group consisting of: a nucleotide sequence of SEQ ID NO:X or the complementary strand thereto and a nucleotide sequence encoded by cDNA plasmid:V; which method comprises a step of comparing a nucleotide sequence of at least one nucleic acid molecule in said sample with a sequence selected from said group and determining whether the sequence of said nucleic acid molecule in said sample is at least 95% identical to said selected sequence.

[928] Also preferred is the above method wherein said step of comparing sequences comprises determining the extent of nucleic acid hybridization between nucleic acid molecules in said sample and a nucleic acid molecule comprising said sequence selected from said group. Similarly, also preferred is the above method wherein said step of comparing sequences is performed by comparing the nucleotide sequence determined from a nucleic acid molecule in said sample with said sequence selected from said group. The nucleic acid molecules can comprise DNA molecules or RNA molecules.

[929] A further preferred embodiment is a method for identifying the species, tissue or cell type of a biological sample which method comprises a step of detecting nucleic acid molecules in said sample, if any, comprising a nucleotide sequence that is at least 95% identical to a sequence of at least 50 contiguous nucleotides in a sequence selected from the group consisting of: a nucleotide sequence of SEQ ID NO:X or the complementary strand thereto and a nucleotide sequence encoded by cDNA plasmid:V.

[930] The method for identifying the species, tissue or cell type of a biological sample can comprise a step of detecting nucleic acid molecules comprising a nucleotide sequence in

WO 02/02587

PCT/US01/20917

a panel of at least two nucleotide sequences, wherein at least one sequence in said panel is at least 95% identical to a sequence of at least 50 contiguous nucleotides in a sequence selected from said group.

[931] Also preferred is a method for diagnosing in a subject a pathological condition associated with abnormal structure or expression of a nucleotide sequence of SEQ ID NO:X or the complementary strand thereto or cDNA plasmid:V which encodes a protein, wherein the method comprises a step of detecting in a biological sample obtained from said subject nucleic acid molecules, if any, comprising a nucleotide sequence that is at least 95% identical to a sequence of at least 50 contiguous nucleotides in a sequence selected from the group consisting of: a nucleotide sequence of SEQ ID NO:X or the complementary strand thereto and a nucleotide sequence of cDNA plasmid:V.

[932] The method for diagnosing a pathological condition can comprise a step of detecting nucleic acid molecules comprising a nucleotide sequence in a panel of at least two nucleotide sequences, wherein at least one sequence in said panel is at least 95% identical to a sequence of at least 50 contiguous nucleotides in a sequence selected from said group.

[933] Also preferred is a composition of matter comprising isolated nucleic acid molecules wherein the nucleotide sequences of said nucleic acid molecules comprise a panel of at least two nucleotide sequences, wherein at least one sequence in said panel is at least 95% identical to a sequence of at least 50 contiguous nucleotides in a sequence selected from the group consisting of: a nucleotide sequence of SEQ ID NO:X or the complementary strand thereto and a nucleotide sequence encoded by cDNA plasmid:V. The nucleic acid molecules can comprise DNA molecules or RNA molecules.

[934] Also preferred is an isolated polypeptide comprising an amino acid sequence at least 90% identical to a sequence of at least about 10 contiguous amino acids in the polypeptide sequence of SEQ ID NO:Y; a polypeptide encoded by SEQ ID NO:X or the complementary strand thereto and/or a polypeptide encoded by cDNA plasmid:V.

[935] Also preferred is an isolated polypeptide comprising an amino acid sequence at least 95% identical to a sequence of at least about 30 contiguous amino acids in the amino acid sequence of SEQ ID NO:Y; a polypeptide encoded by SEQ ID NO:X or the complementary strand thereto and/or a polypeptide encoded by cDNA plasmid:V.

[936] Further preferred is an isolated polypeptide comprising an amino acid sequence at least 95% identical to a sequence of at least about 100 contiguous amino acids in the amino

WO 02/02587

PCT/US01/20917

acid sequence of SEQ ID NO:Y; a polypeptide encoded by SEQ ID NO:X or the complementary strand thereto and/or a polypeptide encoded by cDNA plasmid:V.

[937] Further preferred is an isolated polypeptide comprising an amino acid sequence at least 95% identical to the complete amino acid sequence of SEQ ID NO:Y; a polypeptide encoded by SEQ ID NO:X or the complementary strand thereto and/or a polypeptide encoded by cDNA plasmid:V.

[938] Further preferred is an isolated polypeptide comprising an amino acid sequence at least 90% identical to a sequence of at least about 10 contiguous amino acids in the complete amino acid sequence of a polypeptide encoded by cDNA plasmid:V.

[939] Also preferred is a polypeptide wherein said sequence of contiguous amino acids is included in the amino acid sequence of a portion of said polypeptide encoded by cDNA plasmid:V; a polypeptide encoded by SEQ ID NO:X or the complementary strand thereto and/or the polypeptide sequence of SEQ ID NO:Y.

[940] Also preferred is an isolated polypeptide comprising an amino acid sequence at least 95% identical to a sequence of at least about 30 contiguous amino acids in the amino acid sequence of a polypeptide encoded by cDNA plasmid:V.

[941] Also preferred is an isolated polypeptide comprising an amino acid sequence at least 95% identical to a sequence of at least about 100 contiguous amino acids in the amino acid sequence of a polypeptide encoded by cDNA plasmid:V.

[942] Also preferred is an isolated polypeptide comprising an amino acid sequence at least 95% identical to the amino acid sequence of a polypeptide encoded by cDNA plasmid:V.

[943] Further preferred is an isolated antibody which binds specifically to a polypeptide comprising an amino acid sequence that is at least 90% identical to a sequence of at least 10 contiguous amino acids in a sequence selected from the group consisting of: a polypeptide sequence of SEQ ID NO:Y; a polypeptide encoded by SEQ ID NO:X or the complementary strand thereto and a polypeptide encoded by cDNA plasmid:V.

[944] Further preferred is a method for detecting in a biological sample a polypeptide comprising an amino acid sequence which is at least 90% identical to a sequence of at least 10 contiguous amino acids in a sequence selected from the group consisting of: a polypeptide sequence of SEQ ID NO:Y; a polypeptide encoded by SEQ ID NO:X or the complementary strand thereto and a polypeptide encoded by cDNA plasmid:V; which method comprises a

WO 02/02587

PCT/US01/20917

step of comparing an amino acid sequence of at least one polypeptide molecule in said sample with a sequence selected from said group and determining whether the sequence of said polypeptide molecule in said sample is at least 90% identical to said sequence of at least 10 contiguous amino acids.

[945] Also preferred is the above method wherein said step of comparing an amino acid sequence of at least one polypeptide molecule in said sample with a sequence selected from said group comprises determining the extent of specific binding of polypeptides in said sample to an antibody which binds specifically to a polypeptide comprising an amino acid sequence that is at least 90% identical to a sequence of at least 10 contiguous amino acids in a sequence selected from the group consisting of: a polypeptide sequence of SEQ ID NO:Y; a polypeptide encoded by SEQ ID NO:X or the complementary strand thereto and a polypeptide encoded by cDNA plasmid:V.

[946] Also preferred is the above method wherein said step of comparing sequences is performed by comparing the amino acid sequence determined from a polypeptide molecule in said sample with said sequence selected from said group.

[947] Also preferred is a method for identifying the species, tissue or cell type of a biological sample which method comprises a step of detecting polypeptide molecules in said sample, if any, comprising an amino acid sequence that is at least 90% identical to a sequence of at least 10 contiguous amino acids in a sequence selected from the group consisting of: polypeptide sequence of SEQ ID NO:Y; a polypeptide encoded by SEQ ID NO:X or the complementary strand thereto and a polypeptide encoded by cDNA plasmid:V.

[948] Also preferred is the above method for identifying the species, tissue or cell type of a biological sample, which method comprises a step of detecting polypeptide molecules comprising an amino acid sequence in a panel of at least two amino acid sequences, wherein at least one sequence in said panel is at least 90% identical to a sequence of at least 10 contiguous amino acids in a sequence selected from the above group.

[949] Also preferred is a method for diagnosing in a subject a pathological condition associated with abnormal structure or expression of a nucleic acid sequence identified in Table 1 encoding a polypeptide, which method comprises a step of detecting in a biological sample obtained from said subject polypeptide molecules comprising an amino acid sequence in a panel of at least two amino acid sequences, wherein at least one sequence in said panel is at least 90% identical to a sequence of at least 10 contiguous amino acids in a sequence

WO 02/02587

PCT/US01/20917

selected from the group consisting of: polypeptide sequence of SEQ ID NO:Y; a polypeptide encoded by SEQ ID NO:X or the complementary strand thereto and a polypeptide encoded by cDNA plasmid:V.

[950] In any of these methods, the step of detecting said polypeptide molecules includes using an antibody.

[951] Also preferred is an isolated nucleic acid molecule comprising a nucleotide sequence which is at least 95% identical to a nucleotide sequence encoding a polypeptide wherein said polypeptide comprises an amino acid sequence that is at least 90% identical to a sequence of at least 10 contiguous amino acids in a sequence selected from the group consisting of: polypeptide sequence of SEQ ID NO:Y; a polypeptide encoded by SEQ ID NO:X or the complementary strand thereto and a polypeptide encoded by cDNA plasmid:V.

[952] Also preferred is an isolated nucleic acid molecule, wherein said nucleotide sequence encoding a polypeptide has been optimized for expression of said polypeptide in a prokaryotic host.

[953] Also preferred is an isolated nucleic acid molecule, wherein said polypeptide comprises an amino acid sequence selected from the group consisting of: polypeptide sequence of SEQ ID NO:Y; a polypeptide encoded by SEQ ID NO:X or the complementary strand thereto and a polypeptide encoded by cDNA plasmid:V.

[954] Further preferred is a method of making a recombinant vector comprising inserting any of the above isolated nucleic acid molecule into a vector. Also preferred is the recombinant vector produced by this method. Also preferred is a method of making a recombinant host cell comprising introducing the vector into a host cell, as well as the recombinant host cell produced by this method.

[955] Also preferred is a method of making an isolated polypeptide comprising culturing this recombinant host cell under conditions such that said polypeptide is expressed and recovering said polypeptide. Also preferred is this method of making an isolated polypeptide, wherein said recombinant host cell is a eukaryotic cell and said polypeptide is a human protein comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of: polypeptide sequence of SEQ ID NO:Y; a polypeptide encoded by SEQ ID NO:X or the complementary strand thereto and a polypeptide encoded by cDNA plasmid:V. The isolated polypeptide produced by this method is also preferred.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[956] Also preferred is a method of treatment of an individual in need of an increased level of a protein activity, which method comprises administering to such an individual a Therapeutic comprising an amount of an isolated polypeptide, polynucleotide, immunogenic fragment or analogue thereof, binding agent, antibody, or antigen binding fragment of the claimed invention effective to increase the level of said protein activity in said individual.

[957] Also preferred is a method of treatment of an individual in need of a decreased level of a protein activity, which method comprised administering to such an individual a Therapeutic comprising an amount of an isolated polypeptide, polynucleotide, immunogenic fragment or analogue thereof, binding agent, antibody, or antigen binding fragment of the claimed invention effective to decrease the level of said protein activity in said individual.

[958] In specific embodiments of the invention, for each "Contig ID" listed in the fourth column of Table 2, preferably excluded are one or more polynucleotides comprising, or alternatively consisting of, a nucleotide sequence referenced in the fifth column of Table 2 and described by the general formula of a-b, whereas a and b are uniquely determined for the corresponding SEQ ID NO:X referred to in column 3 of Table 2. Further specific embodiments are directed to polynucleotide sequences excluding one, two, three, four, or more of the specific polynucleotide sequences referred to in the fifth column of Table 2.

[959] Preferably excluded from the present invention are one or more polynucleotides comprising a nucleotide sequence described by the general formula of c - d, where both c and d correspond to the positions of nucleotide residues shown in SEQ ID NO:X, and where d is greater than or equal to c + 14.

[960] In no way is this listing meant to encompass all of the sequences which may be excluded by the general formula, it is just a representative example. All references available through these accessions are hereby incorporated by reference in their entirety.

TABLE 2

Gene No.	cDNA Plasmid:V	NT SEQ ID NO: X	Contig ID	Public Accession Numbers
1	HEBNC81	2	1096692	HS1315, HS1911, AA075579, AA075632, AA171844, AA172293, AA534431, AA291512, AA404609, AA404225, AA411046, AA434329, AA706376, AA953518, AB370413, AB388559, AF539668, AF539195, AF682137, AF683712,

WO 02/02587

PCT/US01/20917

				A1684143, A1686371, A1799522, A1858190, A1859795, A1828762, A1870700, AW073686, AW150534, AW470108, and AW615203.
1	HESNC81	10	862015	
2	HDPPA04	3	904765	AU115908, A1990290, AW961323, A1798762, AA044757, AW105205, AW197379, AU1156359, AA039608, AA247117, AW589458, AA303575, AA036918, AA247128, A1214428, AW449368, AA044631, A1762460, AX001872, and A1422780.
2	HDPPA04	11	905419	A1990290, AW961323, A1798762, AA044757, AW105205, AW197379, AU135968, AU156259, AA039608, AW589458, AA303575, AA036918, AA247117, A1214428, AW449368, AA247128, AA044631, A1762460, AW972092, AW972091, AW958355, AW972093, AW968356, AW968729, AW972090, AW971740, AW969229, A1432644, A431357, A1621302, A1432662, A1431248, A1431328, BF448552, A1432649, A1431254, A1431243, A1632665, A4313247, A1432653, A1431250, A1432654, A1431354, A432655, A1431310, A1431312, A1431330, AW081105, A432651, A1432647, A1432677, A1432661, A1432675, A1432519, A1431241, BF589777, BF672742, BF672792, A1432658, BE672719, A1431357, A1432676, BE672759, A1431351, BE672767, A1432673, A1431345, A1431353, AW128900, A1432672, A1432674, A1431346, A1431255, BF672774, BE672748, BE672743, BF672745, A1431340, BE672738, AW128846, A1432664, BE672732, A1432650, A1791349, A1431307, A1431316, AW128897, BE672749, BE672744, BE672773, A1492520, A1431751, A1482509, A1432643, A1432657, A1492510, A1432666, AW129223, A1431247, BE672626, BE676444, A1431308, BE672623, AW128884, AK001872, AX030435, AX030436, Y17793, AP064854, and AR071207.
2	HDPPA04	12	905418	AU135908, AA247128, AA247117, and AK001872.
3	HTTD846, HSDS22	4	812763	
3	HTTD846, HSDS22	13	909573	AW629106, A1991125, AA884903, A1339669, AW000848, BF333492, AW966330, AW964468, AW940645, AW966889, AW975618, AV738340, AV724520, AW973541, D80045, AV744690, AV725097, AV742752, C14389, C14331, AW965158, AV702035, AW949642, AV744012, AW366296, D51799, AW973445, AW699550, AV718489, AW964488, AV718692, D59502, D80195, C14429, AV720791, AV741220, AW960500, AW960553, AW965185, AW965197, D80164, AW966953, AW958597, AV719468, AV718800, AW966013, AW949658, AW949643, AW975621, AW966054, AW966534, AV719783, AW960465, AV742048, AW962395, AV720464, AW949654, AV699927, AW966022, AW177440, AW966975, C15076, AW966065, AW96604, D80038, A1905856, AW978648, AV700229, AV719324, AV718440, AW973513, AV720028, D59467, AW966029, AW965196, AW965184, D59275, AW965175, AW966030, AV718770, AV719188, D80227, AW966062, AW964477, AW949641, AW959570, AW949646, AW973334, AW966531, AW978634, AW959062, D80269, D58283, AW956434, AW949630, D80022, AA305409, AW965163, D80166, AW959799, AW966059, D59859, D80193, AW960473,

WO 02/02587

PCT/US01/20917

				D59619, D80218, D80391, AW973474, D80240, AV719822, D59787, D81030, D51423, AW978661, AW973488, AV720211, AV718844, D80253, AV720203, AW964756, AW973307, D80043, AV723927, AV718938, AV718633, AW959628, AW965177, AW975605, AW949656, AW973485, AV718707, AV718931, AV720878, AV719557, AV720731, AW973482, AV699447, AW958992, AW958993, AV722801, AW959136, AW962082, AW959469, AW959202, D80212, AV720150, D80196, D80188, D59610, AW949657, D80366, D59979, D80219, AV705134, AV701004, AW949655, AW375405, D59927, D57483, D80378, D51022, AW962245, AW973330, D59889, D50995, AW960454, D80024, AV720812, AW949653, AW949631, AW949618, AW964737, AV718681, AW966032, AW959582, AW956397, AW949629, AW949633, AW949632, AV700889, AA305578, AW964332, AW973447, AW966043, AV720533, AW753053, AW966023, AV718530, AV721386, AV707024, D80241, AV727990, AV699746, D81026, AV727978, AW960564, AV699669, AV742001, AW960504, AW960532, D51060, AW965176, AV742022, AW973465, AV738928, AW752082, AW753067, AW964541, D80248, AV699866, AW975623, AV705809, AW966332, AV720654, T03269, AW960570, AW178893, AW179338, AA514388, AV701125, AV701166, AV701149, D80251, AV719913, AW960474, A1557751, AV699652, C75259, AW973490, AV701443, AW378532, D80522, AV719049, AW966399, C14014, AW966333, AV742667, AW177501, AV701335, AW966331, AV742430, AK025267, AK025111, AB020625, AC016572, AX047063, A62298, AX047064, A62300, AR070327, A84916, AX047062, A82595, Y17188, AR018138, AX033851, AX020191, AX035434, AR016808, AX020190, AJ302649, Y17187, AX027925, AJ132110, A94995, AF058696, AR087649, A30438, AX021518, AR008278, AB028859, X67155, D26022, A25909, AX028130, A67220, D89785, A78862, D34614, X82626, AR074545, AR016514, Y12724, D88547, AB002449, AR060385, A43190, AR077702, AR052424, X68127, AR025207, AR008443, AR038669, AJ294956, I50126, I50132, I50128, I50133, AR091537, Y08991, AF260572, AR066488, U79457, A44171, AR060138, A45456, A26615, AR052274, AX014811, AR008277, AR008281, AD012117, AR074139, Y09669, A43192, I14842, AR016691, AR016690, U46128, AX015396, AR066487, AR074136, AR054175, AR074141, AJ287395, AR066482, S68736, AR066490, A85396, AR088705, AX042372, D50010, A85477, I19525, I18367, A86792, A63261, X93549, A70867, AR008408, D88507, AR062872, AR093385, AF135125, D13509, A64136, A68321, AR060133, I79511, AR050070, AF217994, AF123263, AR032065, and AR008382.
4	HCCR39	5	1113428	A1885174, A1744622, AA814734, AA729021, A1636514, A1401144, W58757, T17420, H29295, A1271692, A1817490, AA476679, R54385, AA877627, AW195601, AA701423, AA004377, Z40193, AA036722, AA046759, AA004376, R87400, W25867, AA766565, R84338, P06493, R90870, AA322984, A1743101, R68843, A1479057, R34643,

WO 02/02587

PCT/US01/20917

				AA341547, AA946714, R93883, R66774, R58428, AA700399, AA026328, N47479, A1536655, F06935, R94042, W78955, AA652599, U90550, AR036568, U90543, AR036564, U90142, AL021917, U97497, U97495, and AL050330.
4	HCECR30	14	812734	A1885174, A1744622, AA814734, AA729021, A1636514, A1401144, W58757, AA476679, A1271692, T17420, A1817490, H29295, R54385, AA877627, AA701423, AA036722, AA004377, Z40193, AW195601, R84138, AA004376, W25867, R87400, AA766565, F06493, R68843, R90870, AA322984, R34643, AA046759, A1479057, AA341547, R93883, R66774, A1743101, R58428, AA946714, AA700399, AA026328, N47479, A1536655, F06935, R94042, W78955, AA652599, U90550, AR036568, U90543, AR036564, U90142, AL021917, U97497, U97495, and AL050330.
5	HCE2X64	6	1111069	AW157772, A1768325, AW072067, AW163204, D52151, D52158, C14535, D52025, AW090592, D52014, AA916782, C14534, A1268695, A1589300, D51740, D51951, R54483, D59739, H19000, A1341953, AA627910, C14295, T15574, R52319, H49512, H49742, AA507297, AA363868, H41615, H40838, D59792, Z45247, Z41478, D52130, H19101, F08485, D51823, F04956, D51574, AA333764, D59715, T31138, H06704, H04609, C14365, T33909, T34829, AW163729, AW163813, A1681322, AW132034, A1282903, AL121328, A1682743, A1633419, A1509616, A1527677, A1491852, AW129202, A1249257, A1811344, A1828731, A1539771, A1273048, A1591316, A1284020, AW088793, A1590999, A1572676, A1857296, A1799199, A1554427, A1636445, AL043326, A1868831, AW087445, A1922901, AW169671, AL045500, A1539153, A1610645, A1866606, A1612913, AL036396, A1680165, AL119791, A1433157, A1349772, AL036146, A1554484, A1873704, A1610756, A1912866, A1498579, AL121270, A1590021, AL047042, A1687465, A1702406, A1273843, A1811863, A1475451, AW078929, A1499463, A1520785, A1801322, A1682720, A1433976, A1802542, A1224992, A1678302, A1568870, A1612759, A1952360, AW118513, AW131954, A1679321, A1612920, AW196141, A1690312, A1571551, AW168795, AW238730, A1884469, AW002342, A1702433, AW082040, A1269862, A1344817, A1475817, AA427700, A1866602, A1865014, A1680280, AW262565, A1689571, A1859402, A1860537, A1619749, A1636719, AW082060, A1338716, AA225539, A1047763, AW071349, AL036361, A1568296, A1250293, AL036802, A1679916, A1678762, A1570384, A1859511, A1824537, A1673256, AW103893, A1561299, AW150578, A1269696, A1475371, AL135661, A1567360, A1590120, A1690751, A182504, A1654750, A1474107, A1648684, A1500039, A1567993, A1872711, A1598061, A1888501, AW117882, A1620868, A1571909, A1801606, AW268253, A1434281, AW162071, AW129170, AL045997, A1566507, A1580190, A1801766, A1567351, AW301409, AA640779, A1500077, A1281779, A1701074, A1362144, A1097248, AL045266, A1648663, A1349645, A1580240, A1570909, A1686597, A1573032, A1273142, AW102785, AA470491, AW403717, A1349933, A1445165, AL040243, A1540832, A1446606, A1439087, AW274192, AL040169.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

			AI679504, AI613017, AJ919345, AI453322, AI684279, AI640379, AI079963, AI920968, AI537075, AI687728, AI492528, AI469532, AI654276, AI274013, AI500146, AW195957, AI056759, AI436456, AI815855, AI624668, AI264741, AW103371, AI521012, AW160386, AI660574, AI048871, AI670782, AI432229, AI064830, AI469811, AI628292, AI745713, AI536638, AI801544, AW151485, AW090013, AI269205, AI800453, AI050342, I48979, I89947, AI122850, AB019565, AF090903, AI050146, AF090934, AF113677, AF104032, AF090900, I48978, AI133016, AI050392, I89931, AF090901, Y11587, E03348, S78214, AF113691, AF113013, AI242859, AF078844, AI080137, AI133640, S68736, AI137527, AF113019, AI110221, AI050149, A08916, AF118070, A08913, L31396, L31397, AF090943, AF118064, AI110196, AI117457, AF125949, AI122093, AF106802, AF113689, A93016, AI137459, AR059958, X84990, AF017152, AI080060, AI050277, AI049938, AF158248, AI133093, AI133606, AI122121, AI133075, AI096744, AI137557, AF113676, AI080124, AI117460, AI050138, AI050108, AI133557, AF090896, AI133565, AI050116, AF113694, AF111851, AI049452, AI137283, AI122123, Y11254, AF113690, AI133080, AF113699, AI049314, AF091084, U42766, X63574, E07361, AF146568, A1000937, X82434, Y16645, AF079765, AF125948, AI049300, AI049466, A65341, AR011880, AI117394, U91329, I49625, AI110225, AF017437, E07108, AI049382, AF177401, AI137530, AI117585, AF097996, AI133560, AI238278, A08910, AI049464, U00763, AI050024, E02349, A08912, AI049430, AI122098, AI117435, AI117583, AF067726, AF118094, AF183393, A77033, A77035, AF087943, I33392, X65873, X72889, A58524, A58523, AI049283, A08909, Z82022, AI2297, AI137648, I03321, AI137463, AI122110, AI137538, X70685, U35846, X96540, AI137271, L80742, AI133113, AI080127, U72620, A03736, I08360, AI080159, X93495, U67958, I26207, X98834, AC006336, A93350, I66342, I42402, AF061943, E15569, AI012755, AI110197, AF000145, AI137521, AC004690, S61953, AF119337, AI133072, E08263, E08264, AF095901, AI050172, AR013797, I17767, U96683, Y09972, AI133568, AI110280, AC004093, AI133014, AF057300, AF057299, AR000496, U39656, AF026124, AI133104, AF111112, AI137523, I00734, AF008439, AI137526, AI122111, E00617, E00717, E00778, AI133098, AI137560, AI133077, AI122049, A08911, L68387, AI137556, A07647, AC006371, AF026816, AC004987, Y14314, E05822, AF109906, AF106827, M30514, Z37987, AC004686, AF003737, A1006417, AI137476, AI122118, AR038969, I88866, AF079763, AC005940, AI133067, AR054984, AF091512, Z72491, AF162270, AF153305, U58996, AI117440, AF081197, AI137429, A90832, AF210052, A45787, AF185576, AF100931, AR038854, AC007390, AF111849, E04233, X62580, I30117, X83506, X87582, AI080074, AI117432, U49908, U62317, L13297, AI137523, and AC005992.
6	HEMFH17	7	1111071 AW300475, AA476679, AI202379, R84338, R93883, AA322984, AA766565, AI021917, AI050330, U90543,

WO 02/02587

PCT/US01/20917

				AR036564, U90142, U97495, U90550, and AR036568.
7	US200202587A2	8	1111073	AI691125, AA884503, AI339669, AW00034E, and AB020625.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Table 3

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Met 1	A	-0.70	0.47	.	.	.	-0.40	0.41
Ala 2	A	-0.31	0.47	.	.	.	-0.40	0.32
Ser 3	A	-0.81	0.44	*	.	.	-0.40	0.43
Leu 4	A	.	.	B	.	.	.	-1.23	0.70	*	.	.	-0.60	0.31
Gly 5	A	.	.	B	.	.	.	-1.54	0.77	*	.	.	-0.60	0.25
Gln 6	.	.	B	B	.	.	.	-1.23	1.06	.	.	.	-0.60	0.26
Ile 7	.	.	B	B	.	.	.	-0.94	1.50	*	.	.	-0.60	0.21
Leu 8	.	.	B	B	.	.	.	-1.52	1.22	.	.	.	-0.60	0.28
Phe 9	.	.	B	B	.	.	.	-1.41	1.54	.	.	.	-0.60	0.11
Trp 10	.	.	B	B	.	.	.	-1.57	1.63	*	.	.	-0.60	0.11
Ser 11	.	.	B	B	.	.	.	-2.46	1.53	*	.	.	-0.60	0.18
Ile 12	.	.	B	B	.	.	.	-2.46	1.53	*	.	.	-0.60	0.25
Ile 13	.	.	B	B	.	.	.	-2.53	1.43	*	.	.	-0.60	0.30
Ser 14	.	.	B	B	.	.	.	-2.72	1.20	*	.	.	-0.60	0.05
Ile 15	.	.	B	B	.	.	.	-3.24	1.50	.	.	.	-0.60	0.05
Ile 16	.	.	B	B	.	.	.	-3.53	1.50	.	.	.	-0.60	0.06
Ile 17	.	.	B	B	.	.	.	-2.99	1.31	.	.	.	-0.60	0.05
Ile 18	.	.	B	B	.	.	.	-2.62	1.56	.	.	.	-0.60	0.07
Leu 19	.	.	B	B	.	.	.	-3.28	1.17	.	.	.	-0.60	0.08
Ala 20	A	.	.	A	.	.	.	-2.58	1.17	.	.	.	-0.60	0.09
Gly 21	A	.	.	D	.	.	.	-2.90	0.99	.	.	.	-0.60	0.14
Ala 22	A	.	.	B	.	.	.	-2.90	0.99	.	.	.	-0.60	0.14
Ile 23	A	.	.	B	.	.	.	-2.90	0.99	.	.	.	-0.60	0.09
Ala 24	.	.	B	B	.	.	.	-2.43	1.17	.	.	.	-0.60	0.07
Leu 25	.	.	B	B	.	.	.	-2.54	1.17	.	.	.	-0.60	0.07
Ile 26	.	.	B	B	.	.	.	-2.54	1.46	.	.	.	-0.60	0.08
Ile 27	.	.	B	B	.	.	.	-2.84	1.20	.	.	.	-0.60	0.08
Gly 28	.	.	B	B	.	.	.	-2.76	1.35	*	.	.	-0.60	0.07
Phe 29	.	.	B	B	.	.	.	-2.01	1.09	*	.	.	-0.60	0.13
Gly 30	.	.	B	B	.	.	.	-1.09	0.83	*	.	.	-0.60	0.18
Ile 31	.	.	B	B	.	.	C	-0.23	0.14	.	*	F	0.25	0.26
Ser 32	C	0.36	0.21	.	*	F	0.67	0.56
Gly 33	T	-0.19	-0.19	.	*	F	1.62	0.76
Arg 34	T	T	.	0.20	0.07	*	*	F	1.49	0.76
His 35	T	C	-0.31	-0.13	.	*	F	2.10	0.82
Ser 36	T	C	0.27	0.13	.	*	.	1.14	0.61
Ile 37	.	.	B	B	.	.	.	0.26	0.19	*	*	.	0.33	0.45
Thr 38	.	.	B	B	.	.	.	-0.26	0.67	*	*	.	-0.18	0.46
Val 39	.	.	B	B	.	.	.	-0.96	0.81	*	*	.	-0.39	0.27
Tyr 40	.	.	B	B	.	.	.	-1.22	0.93	.	.	.	-0.60	0.38
Thr 41	.	.	B	B	.	.	.	-1.51	0.63	.	.	.	-0.60	0.36
Val 42	.	.	B	B	.	.	.	-0.97	0.64	.	.	.	-0.60	0.48
Ala 43	.	.	B	B	.	.	.	-0.66	0.43	.	.	.	-0.60	0.33
Ser 44	T	C	-0.69	0.34	*	.	.	0.30	0.37
Ala 45	.	.	B	.	.	T	C	-0.72	0.54	*	.	.	0.00	0.35
Gly 46	T	C	-0.43	0.33	*	.	F	0.48	0.34
Arg 47	T	C	0.44	-0.17	*	.	F	1.30	0.44
Ile 48	.	.	B	0.62	-0.56	*	.	F	1.45	0.73
Gly 49	.	.	B	.	.	T	.	0.16	-0.63	*	.	F	1.90	0.73
Glu 50	.	.	B	.	.	T	.	-0.12	-0.37	*	.	F	1.85	0.32
Arg 51	T	T	.	-0.08	-0.05	*	.	F	2.50	0.30
Gly 52	.	.	B	.	.	T	.	-0.74	-0.18	*	.	F	1.85	0.51
Ile 53	.	.	B	-0.17	-0.24	.	.	.	1.23	0.16
Leu 54	.	.	B	-0.52	0.24	.	.	.	0.40	0.14
Ser 55	.	.	B	-0.52	1.03	.	.	.	-0.13	0.12
Cys 56	.	.	B	-0.73	0.00	*	.	.	-0.40	0.29
Thr 57	.	.	B	-0.39	0.34	*	.	.	-0.10	0.45
Phe 58	.	.	B	-0.39	-0.34	*	.	.	0.50	0.69
Glu 59	A	.	B	.	.	T	.	0.47	-0.04	*	*	F	0.85	0.90
Pro 60	A	T	.	-0.04	-0.61	.	*	F	1.30	1.24
Arg 61	A	T	.	0.32	-0.41	*	*	F	1.00	1.19
Ile 62	A	T	.	0.45	-0.01	*	*	F	1.18	0.52
Lys 63	A	0.44	-0.81	*	*	F	0.95	0.99
Leu 64	A	.	.	B	.	.	.	-0.41	-0.56	*	*	F	0.75	0.42
Ser 65	A	.	.	B	.	.	.	-1.09	0.09	*	*	F	-0.13	0.44
Arg 66	A	.	.	B	.	.	.	-1.05	0.09	*	*	.	-0.10	0.15
Ile 67	.	.	B	B	.	.	.	-0.49	0.45	*	.	.	-0.60	0.32
Val 68	.	.	B	B	.	.	.	-1.34	0.71	*	.	.	-0.60	0.25

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Ile 69	.	.	H	B	.	.	-0.49 1.61 *	.	.	-0.60 0.33
Gln 70	.	.	S	B	.	.	-0.19 1.01 *	.	.	-0.60 0.36
Trp 71	.	.	B	S	.	.	-0.53 0.23 *	.	.	-0.30 0.84
Leu 72	A	.	.	B	.	.	-0.50 0.11 *	.	.	-0.15 1.18
Lys 73	A	.	.	B	.	.	-0.48 0.07 *	.	F	-0.15 0.51
Glu 74	A	.	.	B	.	.	0.09 0.36 *	.	F	-0.15 0.10
Gly 75	A	.	.	B	T	.	-0.72 -0.13 *	.	F	0.95 0.48
Val 76	A	.	.	S	.	.	-1.29 -0.13 *	.	.	0.20 0.20
Leu 77	A	.	.	S	.	.	-0.51 0.51 *	.	.	-0.60 0.08
Gly 78	A	.	.	B	.	.	-0.58 1.01 *	.	.	-0.60 0.12
Leu 79	A	.	.	B	.	.	-1.26 0.59 *	.	.	-0.60 0.27
Val 80	A	.	.	B	.	.	-0.87 0.72 *	.	.	-0.60 0.28
His 81	A	.	.	E	.	.	-0.01 0.64 *	.	.	-0.30 0.57
Glu 82	A	0.46 -0.39 *	.	.	0.45 1.20
Phe 83	A	0.84 -0.84 *	.	.	0.75 1.60
Lys 84	A	A	1.64 -1.29 *	.	F	0.90 2.36
Gln 85	A	A	2.51 -1.79 *	.	F	0.30 2.27
Gly 86	A	.	.	.	T	.	1.72 -1.79 *	.	F	1.50 4.54
Lys 87	A	.	.	.	T	.	1.42 -1.89 *	.	F	1.20 1.87
Arg 88	A	.	.	.	T	.	2.13 -1.30 *	.	F	1.30 1.45
Glu 89	A	.	.	.	T	.	2.09 -1.50 *	.	F	1.30 2.54
Leu 90	A	A	2.09 -1.53 *	.	F	0.90 2.20
Sex 91	A	A	2.43 -1.53 *	.	F	0.90 2.20
Gln 92	A	A	1.79 -1.53 *	.	F	0.90 2.20
Gln 93	A	A	1.09 -0.93 *	.	F	0.90 2.64
Asp 94	A	A	1.20 -0.81 *	.	F	0.90 1.70
Glu 95	A	A	1.67 -1.20 *	.	F	0.90 2.93
Met 96	A	A	2.08 -0.79 *	.	.	0.75 1.10
Phe 97	A	.	.	.	T	.	1.77 -1.27 *	.	.	1.18 1.49
Arg 98	A	.	.	.	T	.	1.18 -0.69 *	.	F	1.30 1.08
Gly 99	A	.	.	.	T	.	0.32 -0.19 *	.	F	1.00 1.10
Arg 100	A	.	.	.	T	.	-0.28 -0.16 *	.	F	0.85 0.94
Thr 101	A	.	.	B	.	.	-0.37 -0.16 *	.	F	0.45 0.42
Ala 102	A	.	.	B	.	.	0.33 0.34 *	.	.	-0.30 0.42
Val 103	A	.	.	B	.	.	0.22 -0.09 *	.	.	0.30 0.36
Met 104	.	.	B	S	.	.	-0.29 0.31 *	.	.	-0.30 0.43
Ala 105	.	.	B	B	.	.	-1.29 0.47 *	.	.	-0.60 0.32
Asp 106	.	.	B	B	.	.	-1.03 0.66 *	.	.	-0.60 0.20
Gln 107	.	.	B	B	.	.	-1.58 0.66 *	.	.	-0.60 0.26
Val 108	.	.	B	B	.	.	-0.73 0.30 *	.	.	-0.30 0.25
Met 109	.	.	B	S	.	.	-0.62 0.20 *	.	.	-0.30 0.24
Val 110	.	.	B	S	.	.	-0.32 0.70 *	.	.	-0.60 0.14
Gly 111	.	.	B	B	.	.	-1.14 0.69 *	.	.	-0.60 0.26
Asn 112	.	.	B	.	T	.	-1.03 0.73 *	.	.	-0.20 0.30
Ala 113	A	.	.	.	T	.	-0.99 0.04 *	.	.	0.10 0.00
Ser 114	A	.	.	.	T	.	-0.06 0.09 *	.	.	0.10 0.66
Leu 115	A	.	.	.	T	.	0.80 -0.34 *	.	.	0.70 0.83
Arg 116	A	0.29 -0.34 *	.	.	0.45 1.22
Leu 117	A	D	0.29 -0.20 *	.	.	0.30 0.73
Lys 118	A	E	0.07 -0.19 *	.	.	0.45 1.53
Asn 119	A	B	0.06 -0.19 *	.	.	0.30 0.64
Val 120	A	B	0.87 0.30 *	.	.	-0.15 1.13
Gln 121	A	B	0.17 -0.39 *	.	.	0.30 0.84
Leu 122	A	B	0.63 0.11 *	.	.	-0.30 0.59
Thr 123	A	B	0.29 0.14 *	.	F	0.10 0.79
Asp 124	.	.	B	.	T	.	0.02 -0.01 *	.	F	1.38 0.66
Ala 125	.	.	B	.	T	.	0.35 0.34 *	.	F	1.55 1.25
Gly 126	.	.	B	.	T	.	0.27 -0.34 *	.	F	2.43 1.73
Thr 127	.	.	B	.	T	.	0.62 -0.26 *	.	F	2.50 0.56
Tyr 128	.	.	B	.	T	.	0.26 0.50 *	.	.	0.80 0.86
Lys 129	.	.	B	.	T	.	-0.62 0.69 *	.	.	0.55 0.61
Cys 130	.	.	B	.	T	.	-0.28 0.94 *	.	.	0.30 0.30
Tyr 131	.	.	E	.	T	.	-0.31 0.54 *	.	.	0.05 0.27
Ile 132	.	.	E	B	.	.	0.04 0.57 *	.	.	-0.26 0.18
Ile 133	.	.	E	B	.	.	-0.06 0.57 *	.	.	0.04 0.68
Thr 134	.	.	E	B	.	.	-0.06 0.43 *	.	F	0.57 0.43
Ser 135	.	.	B	.	T	.	0.27 -0.31 *	.	F	2.36 1.23
Lys 136	.	.	B	.	T	.	0.51 -0.59 *	.	F	3.40 1.74
Gly 137	.	.	B	.	T	.	0.81 -0.87 *	.	F	3.08 1.94
Lys 138	.	.	B	.	T	.	1.70 -0.86 *	.	F	2.52 1.46
Gly 139	.	.	B	.	C	.	1.20 -0.84 *	.	F	1.90 1.17
Asn 140	.	.	B	.	C	.	1.50 -0.16 *	.	F	1.39 0.98
Ala 141	.	.	E	.	T	.	1.21 -0.89 *	.	F	1.18 0.85

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Asn 140	.	.	B	.	T	1.60 0.17	*	0.25 1.24
Leu 143	.	.	B	.	T	1.24 -0.26	*	0.85 1.67
Glu 144	.	.	B	.	.	1.24 -0.17	*	0.65 2.38
Tyr 145	A	.	.	.	T	0.66 -0.24	*	0.85 1.47
Iys 146	A	.	.	.	T	0.54 -0.14	*	1.00 1.79
Thr 147	A	.	.	.	T	0.24 -0.04	*	0.85 0.90
Gly 148	A	.	.	.	T	0.46 0.34	.	0.25 0.77
Ala 149	A	0.24 0.20	.	-0.10 0.38
Phe 150	.	.	B	.	.	0.49 0.63	*	-0.40 0.41
Ser 151	.	.	B	.	.	-0.41 0.14	.	-0.10 0.71
Met 152	.	.	B	.	.	-0.10 0.36	.	-0.19 0.32
Pro 153	.	.	B	.	.	-0.61 0.36	*	-0.10 0.97
Glu 154	.	.	B	.	.	-0.02 0.11	*	0.05 0.54
Val 155	A	0.42 -0.27	*	0.50 0.91
Asn 156	A	.	.	.	T	0.73 -0.12	*	0.70 0.92
Val 157	A	.	.	.	T	0.74 -0.16	*	0.10 0.95
Asp 158	A	.	.	.	T	0.66 0.34	*	0.25 1.16
Tyr 159	A	.	.	.	T	0.36 0.09	.	0.10 0.97
Asn 160	T	1.21 0.07	*	0.45 1.75
Ala 161	T	0.90 -0.57	*	1.50 1.61
Ser 162	A	.	.	.	T	0.94 -0.09	*	1.00 1.67
Ser 163	A	.	.	.	T	1.06 -0.16	*	0.85 0.86
Glu 164	A	0.63 -0.56	*	0.90 1.65
Thr 165	A	0.63 -0.49	*	0.45 0.66
Leu 166	.	.	B	.	.	0.63 -0.87	*	0.60 0.95
Arg 167	.	.	A	B	.	0.72 -0.76	*	0.75 0.90
Cys 168	.	.	A	B	.	1.12 -0.32	*	0.62 0.64
Glu 169	.	.	A	B	.	0.84 -0.81	*	1.33 1.78
Ala 170	T	0.45 -0.59	*	1.39 0.68
Pro 171	T	1.06 0.29	*	1.50 1.11
Arg 172	T	0.94 0.06	*	1.29 0.99
Trp 173	T	1.40 0.45	*	0.98 1.69
Phe 174	C	1.09 0.39	*	0.72 1.69
Pro 175	C	0.82 0.44	*	0.35 1.25
Gln 176	.	.	B	.	C	0.18 1.09	*	-0.25 0.88
Pro 177	.	.	B	.	C	-0.22 0.81	*	-0.25 0.75
Trp 179	.	.	B	.	C	-0.52 0.91	*	-0.25 0.81
Val 179	.	.	B	B	.	-0.12 1.01	.	-0.60 0.30
Val 180	.	.	B	B	.	0.09 1.09	.	-0.60 0.76
Trp 181	.	.	B	B	.	-0.77 0.29	.	-0.60 0.31
Ala 182	.	.	B	B	.	-0.56 1.12	.	-0.60 0.21
Ser 183	.	.	B	B	.	-0.24 0.49	.	-0.35 0.70
Gln 184	.	.	B	B	.	0.27 0.24	*	0.42 1.15
Val 185	.	.	B	B	.	0.53 -0.24	*	1.23 1.11
Asp 186	T	0.82 -0.24	*	2.09 0.85
Gln 187	T	0.71 -0.23	*	2.10 0.79
Gly 188	T	0.71 0.16	*	1.39 0.92
Ala 189	T	0.71 -0.10	*	1.68 0.74
Asn 190	C	0.71 -0.10	*	1.27 0.74
Phe 191	0.41 0.14	*	0.11 0.56
Ser 192	.	.	B	.	.	0.41 0.10	.	0.05 0.74
Glu 193	.	.	B	.	.	0.44 0.00	.	0.65 0.74
Val 194	.	.	B	.	.	0.73 0.09	*	0.20 1.23
Ser 195	C	0.02 -0.31	*	1.30 1.22
Asn 196	T	0.73 0.09	*	0.45 0.61
Thr 197	T	0.32 0.09	*	0.60 1.43
Ser 198	A	.	.	.	T	0.22 0.13	*	0.25 0.88
Phe 199	A	.	.	.	T	0.78 0.14	*	0.10 0.88
Glu 200	A	1.08 0.13	*	-0.10 0.82
Leu 201	A	1.08 -0.36	*	0.80 1.05
Asn 202	A	.	.	.	T	0.53 -0.34	*	1.00 1.97
Ser 203	A	.	.	.	T	0.52 -0.45	*	0.85 0.94
Glu 204	A	.	.	.	T	0.82 0.60	*	1.00 1.47
Asn 205	A	.	.	.	T	0.87 -0.07	*	0.85 0.91
Val 206	A	.	B	.	.	0.62 -0.47	*	0.60 1.35
Thr 207	A	.	B	.	.	-0.22 -0.21	*	0.30 0.58
Met 208	A	.	B	.	.	-1.22 0.43	*	-0.60 0.27
Iys 209	.	.	B	B	.	-1.09 0.41	*	-0.60 0.48
Val 210	.	.	B	B	.	-1.30 0.41	*	-0.60 0.25
Val 211	.	.	B	B	.	-1.29 0.61	*	-0.60 0.21
Ser 212	.	.	B	B	.	-0.38 0.76	*	-0.60 0.16
Val 213	.	.	B	B	.	-1.23 1.16	*	-0.60 0.35
Leu 214	.	.	B	B	.	-1.59 1.16	*	-0.60 0.35

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Trp	215	.	.	B	B	-1.52	1.00	*	.	.	.	-0.60	0.38
Met	216	.	.	B	B	-0.77	1.20	.	*	.	.	-0.60	0.36
Val	217	.	.	B	B	-0.47	1.06	.	*	.	.	-0.60	0.70
Thr	218	.	.	B	B	0.08	0.77	.	*	.	.	-0.60	0.72
Ile	219	.	.	B	B	0.64	0.50	.	.	F	.	-0.45	0.64
Asn	220	.	.	.	B	T	.	.	.	0.39	0.86	.	*	F	.	0.10	1.26
Asp	221	T	T	.	.	-0.08	0.60	.	*	F	.	0.50	1.26
His	222	T	T	.	.	0.18	0.69	.	.	F	.	0.28	0.96
Tyr	223	.	.	B	.	.	T	.	.	-0.40	0.61	*	.	.	.	-0.20	0.59
Ser	224	.	.	B	.	.	T	.	.	0.49	0.90	*	.	.	.	-0.20	0.26
Cys	225	.	.	B	B	0.49	0.50	-0.60	0.31
Met	226	.	.	A	H	0.49	0.41	*	.	.	.	-0.60	0.32
Ile	227	.	.	A	E	-0.09	-0.34	0.20	0.40
Glu	228	A	A	-0.43	-0.04	*	.	.	.	0.20	0.82
Asn	229	A	A	-0.09	-0.11	*	.	.	.	0.45	0.53
Asp	230	A	A	-0.01	-0.72	*	.	F	.	0.90	1.51
Ile	231	A	A	0.28	-0.91	*	.	F	.	0.75	0.88
Ala	232	A	A	0.82	-0.43	*	.	F	.	0.45	0.79
Lys	233	A	A	0.82	-0.40	*	*	F	.	0.45	0.47
Ala	234	A	T	.	.	-0.07	-0.40	*	.	F	.	1.50	1.12
Thr	235	A	T	.	.	-0.02	-0.40	*	*	F	.	0.85	0.77
Gly	236	A	T	.	.	0.01	-0.90	*	*	F	.	1.15	0.77
Asp	237	A	T	.	.	0.29	-0.26	.	*	F	.	0.85	0.57
Ile	238	A	.	.	B	0.24	-0.27	.	*	F	.	0.45	0.87
Lys	239	A	0.33	-0.76	*	.	F	.	0.75	1.00
Val	240	A	.	.	B	0.04	-0.80	.	*	F	.	0.75	0.60
Thr	241	A	A	.	B	0.30	-0.80	*	*	F	.	0.90	1.97
Glu	242	A	A	.	B	0.34	-0.80	*	*	F	.	0.75	0.63
Ser	243	A	A	1.34	-0.80	*	*	F	.	0.90	1.66
Glu	244	A	A	1.41	-1.44	*	.	F	.	0.90	2.55
Ile	245	A	A	1.97	-1.92	*	*	F	.	0.90	2.86
Lys	246	A	A	2.24	-1.54	.	*	F	.	0.90	2.86
Arg	247	A	A	1.43	-1.42	.	*	F	.	0.90	2.25
Arg	248	A	A	1.73	-0.74	*	*	F	.	0.90	1.64
Ser	249	A	A	0.02	-1.03	*	*	F	.	0.90	2.39
Ile	250	A	A	1.00	-0.14	.	*	.	.	0.30	0.96
Leu	251	A	A	0.96	0.24	*	.	.	.	-0.20	0.41
Gln	253	.	.	A	B	0.54	0.74	-0.60	0.49
Leu	254	.	.	A	B	0.49	0.74	*	.	.	.	-0.60	0.48
Leu	255	.	.	A	B	0.19	0.24	-0.15	1.15
Asn	256	T	T	.	.	-0.08	0.06	.	*	F	.	0.65	0.68
Ser	256	T	T	.	.	-0.08	0.04	.	*	F	.	0.80	1.10
Lys	257	A	T	.	.	-0.74	0.64	.	*	F	.	0.40	1.10
Ala	258	.	.	D	.	.	T	.	.	-0.79	-0.07	.	*	F	.	0.85	3.37
Ser	259	.	.	B	B	-0.28	0.17	.	*	.	.	-0.30	0.20
Leu	260	.	.	B	B	-0.58	0.17	.	*	.	.	-0.20	0.14
Cys	262	.	.	B	B	-0.98	0.56	*	*	.	.	-0.60	0.18
Val	263	.	.	B	B	-1.73	0.64	*	*	.	.	-0.20	0.12
Ser	263	.	.	B	B	-1.72	1.24	-0.60	0.12
Sex	264	.	.	B	B	-2.21	1.06	-0.60	0.23
Phe	265	.	.	D	B	-1.80	1.17	-0.60	0.22
Phe	266	.	.	B	B	-1.42	0.91	-0.60	0.23
Ala	267	A	.	.	B	-1.16	1.44	-0.60	0.17
Ile	268	A	.	.	B	-1.67	1.86	-0.60	0.20
Ser	269	A	.	.	R	-2.18	1.46	-0.60	0.19
Trp	270	A	.	.	B	-1.69	1.36	-0.60	0.16
Ala	271	A	.	.	B	-1.80	1.29	-0.60	0.14
Leu	272	.	.	B	.	.	C	.	.	-1.51	1.29	-0.40	0.21
Leu	273	.	.	B	.	.	C	.	.	-0.83	1.29	-0.40	0.27
Pro	274	.	.	B	.	.	C	.	.	-0.78	0.20	-0.40	0.41
Leu	275	C	.	.	-1.30	1.06	-0.20	0.78
Ser	276	C	.	.	-1.21	1.06	0.00	0.78
Pro	277	A	T	.	.	-1.31	0.89	.	*	.	.	-0.20	0.80
Tyr	278	A	T	.	.	-0.46	1.24	.	*	.	.	-0.20	0.50
Leu	279	A	T	.	.	-0.63	0.56	.	*	.	.	-0.20	0.75
Met	280	A	-0.23	0.60	.	*	.	.	-0.40	0.62
Leu	281	.	.	.	B	-0.30	0.60	-0.40	0.50
Lys	282	.	.	B	-0.48	0.27	-0.20	0.78

Table 4

WO 02/02587

PCT/US01/20917

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Met 1	A	A	-1.87	1.06	.	.	.	-0.60	0.19
Ile 2	A	A	-2.29	1.31	.	.	.	-0.60	0.12
Phe 3	A	A	-2.50	1.57	.	.	.	-0.60	0.08
Leu 4	A	A	-3.22	1.76	.	.	.	-0.60	0.08
Leu 5	A	A	-2.83	1.63	.	.	.	-0.60	0.09
Leu 6	A	A	-3.04	1.53	.	.	.	-0.60	0.14
Met 7	A	A	-2.15	1.43	.	*	.	-0.60	0.14
Leu 8	A	B	-2.27	0.74	.	*	.	-0.60	0.30
Ser 9	R	A	-1.46	0.74	.	*	.	-0.60	0.30
Leu 10	A	A	-1.46	0.46	.	*	.	-0.60	0.52
Glu 11	A	A	-0.68	0.33	.	*	.	-0.60	0.32
Ser 12	A	A	-0.08	0.24	.	*	.	-0.30	0.52
Gln 13	A	A	-0.15	0.26	.	*	.	-0.15	1.11
Leu 14	A	A	-0.44	0.36	.	*	.	-0.30	0.45
His 15	A	A	-0.22	0.86	.	*	.	-0.60	0.55
Gln 16	A	A	-1.03	0.67	.	.	.	-0.60	0.32
Ile 17	A	A	-0.22	0.36	.	.	.	-0.60	0.32
Ala 18	A	A	-1.23	1.06	*	.	.	-0.60	0.20
Ala 19	A	A	-1.28	1.04	*	.	.	-0.60	0.17
Leu 20	.	A	B	-1.56	1.29	*	*	.	-0.60	0.18
Phe 21	.	A	B	-2.41	1.09	*	*	.	-0.60	0.26
Thr 22	.	A	B	-1.73	1.23	.	*	.	-0.60	0.19
Val 23	.	A	B	-1.10	1.16	.	.	.	-0.60	0.25
Thr 24	.	A	B	-0.51	0.47	.	.	.	-0.60	0.81
Val 25	.	A	C	-0.51	-0.33	.	.	F	0.65	0.20
Pco 26	-0.06	-0.11	.	*	F	0.90	1.08
Lys 27	-0.63	0.63	.	.	F	0.80	1.18
Glu 28	.	.	B	-0.67	0.20	.	.	F	0.00	1.11
Lys 29	.	.	B	-0.36	0.24	*	.	.	-0.30	0.50
Tyr 30	.	.	B	B	.	.	.	0.47	0.19	*	.	.	0.50	0.44
Ile 31	.	.	B	B	.	.	.	0.32	0.11	*	.	.	-0.30	0.34
Ile 32	.	.	B	B	.	.	.	-0.01	0.74	*	.	.	-0.60	0.41
Glu 33	.	.	B	-0.01	0.14	*	.	.	-0.60	0.35
Mic 34	.	.	.	T	.	.	.	-0.05	0.29	*	.	.	0.30	0.81
Gly 35	.	.	.	T	T	.	.	-0.12	0.04	*	.	F	0.65	0.86
Ser 36	.	.	.	T	C	.	.	-0.04	-0.14	*	*	F	1.08	0.71
Asn 37	.	.	.	T	C	.	.	0.84	0.53	*	*	F	0.15	0.43
Val 38	.	.	.	T	C	.	.	0.18	0.03	.	*	.	0.30	0.76
Thr 39	.	.	B	0.22	0.27	.	*	.	0.08	0.30
Leu 40	.	.	B	-0.14	0.19	.	*	.	0.26	0.30
Glu 41	.	.	B	0.15	0.27	.	*	.	0.14	0.35
Cys 42	.	.	B	-0.16	-0.07	.	*	.	1.22	0.41
Asn 43	.	.	B	.	T	.	.	0.35	-0.07	.	*	.	1.80	0.71
Phe 44	.	.	.	T	.	.	.	0.37	-0.23	*	*	.	1.62	0.41
Asp 45	.	.	.	T	T	.	.	1.14	0.66	*	*	F	1.26	1.02
Thr 46	.	.	.	T	T	.	.	0.29	-0.01	.	*	F	1.48	0.86
Gly 47	.	.	.	T	T	.	.	0.56	0.22	.	*	F	0.59	0.74
Ser 48	.	.	.	T	C	.	.	0.14	-0.16	.	*	F	0.73	0.71
His 49	.	.	B	0.50	0.53	.	*	.	-0.09	0.41
Val 50	.	.	B	-0.39	0.67	.	.	.	-0.72	0.41
Asn 51	.	.	B	-0.67	0.54	.	.	.	-0.61	0.23
Leu 52	.	.	B	-0.63	0.84	.	.	.	-0.56	0.16
Gly 53	.	.	B	-0.92	0.63	.	.	.	-0.48	0.21
Ala 54	.	.	B	-1.19	0.69	.	*	.	-0.40	0.19
Ile 55	A	-1.14	0.67	.	*	.	-0.40	0.21
Thr 56	A	A	-1.14	0.67	*	.	.	-0.60	0.26
Ala 57	A	A	-0.29	0.64	*	.	.	-0.60	0.45
Ser 58	A	A	-0.80	0.14	*	.	.	-0.15	1.28
Leu 59	A	A	-0.21	0.30	*	.	.	-0.30	0.66
Glu 60	.	A	B	0.68	-0.29	*	.	F	0.60	1.13
Lys 61	.	A	B	0.39	-0.49	*	.	F	0.90	1.35
Val 62	.	A	B	1.27	-0.87	*	.	F	1.50	2.74
Glu 63	.	A	B	1.27	-1.07	*	.	F	1.80	2.29
Asu 64	.	A	1.87	-1.89	*	.	F	2.50	1.53
Asp 65	.	.	.	T	.	.	.	1.03	-0.66	.	*	F	3.00	3.19
Thr 66	C	.	.	1.90	-0.80	.	*	F	2.50	2.53
Ser 67	T	C	.	2.76	-0.80	.	*	F	2.40	3.05
Met 68	T	C	.	2.87	-1.20	.	*	F	2.10	3.16
His 69	A	.	.	.	T	.	.	2.26	-1.20	.	*	F	1.60	4.28
Arg 70	A	.	.	.	T	.	.	1.97	-1.19	.	*	F	1.30	3.24

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Glu 71	A	A				1.47	-1.09	*	F	0.90	3.02
Arg 72	A	A				0.96	-0.82	*	F	0.90	1.92
Ala 73	A	A				1.17	-0.64	*	F	0.75	0.77
Thr 74	A	A				1.20	-0.64	*	F	0.60	0.77
Leu 75	A	A				1.09	-0.64	*	F	0.60	0.68
Leu 76	A	A				0.28	-0.24	*	F	0.45	1.17
Glu 77	A	A				-0.04	-0.06	*	F	0.45	0.67
Glu 78	A	A				-0.27	-0.11	*	F	0.60	1.28
Gln 79	A	A				-0.30	-0.11	*	F	0.60	1.25
Leu 80	A	A			T	0.56	-0.37	*	F	0.70	0.72
Pro 81	A	A			T	0.78	-0.37	*	F	0.70	0.63
Leu 82	A	A			T	0.48	0.13	*	F	0.10	0.48
Gly 83	A	A			T	-0.22	0.11	*	F	0.25	0.78
Lys 84	A	A				-0.26	0.21	*	F	0.05	0.44
Ala 85	A	A				-0.33	0.29	*	F	-0.10	0.72
Sec 86	A	A			B	-0.33	0.29	*	F	-0.30	0.51
Phe 87	A	A			B	0.48	0.29	*	F	-0.30	0.40
His 88	A	A			B	-0.03	0.69	*	F	-0.60	0.68
Ile 89	A	A			B	-0.02	0.83	*	F	-0.60	0.38
Pro 90	A	A			H	-0.34	0.84	*	F	-0.60	0.75
Gln 91	A	A			E	0.07	0.70	*	F	-0.60	0.41
Val 92	A	A			B	0.77	0.20	*	F	-0.15	1.15
Gln 93	A	A			B	0.80	-0.49	*	F	0.79	1.24
Val 94	A	A			B	1.34	-0.93	*	F	1.43	1.24
Arg 95	A	A			B	1.36	-0.89	*	F	1.93	1.65
Asp 96	A	A			T	1.31	-1.13	*	F	3.08	1.65
Glu 97	A	A			T	2.17	-0.77	*	F	3.40	3.49
Gly 98	A	A			T	1.50	-1.01	*	F	3.08	3.08
Gln 99	A	A			T	1.47	-0.44	*	F	2.37	0.99
Tyr 100	A	A			B	0.47	0.24	*	F	0.38	0.40
Gln 101	A	A			B	-0.42	0.82	*	F	-0.26	0.28
Cys 102	A	A			B	-0.67	1.19	*	F	-0.60	0.13
Ile 103	A	A			B	-0.67	1.54	*	F	-0.60	0.11
Ile 104	A	A			B	-1.52	1.23	*	F	-0.60	0.27
Ile 105	A	A			B	-1.87	1.46	*	F	-0.60	0.09
Tyr 106	A	A			B	-2.16	1.29	*	F	-0.60	0.13
Gly 107	A	A			B	-1.49	1.61	*	F	-0.60	0.20
Val 108	A	A			B	-0.84	0.83	*	F	-0.60	0.47
Ala 109	A	A			B	0.09	1.00	*	F	-0.60	0.47
Trp 110	A	A			T	0.93	0.29	*	F	0.50	0.95
Asp 111	A	A			T	0.17	0.87	*	F	-0.05	2.00
Tyr 112	A	A			T	0.20	0.61	*	F	-0.05	1.63
Lys 113	A	A			T	0.24	0.60	*	F	-0.05	2.24
Tyr 114	A	A			B	0.88	0.27	*	F	-0.15	1.10
Leu 115	A	A			B	0.31	0.37	*	F	-0.15	1.41
Thr 116	A	A			B	0.36	0.26	*	F	-0.30	0.52
Leu 117	A	A			B	0.01	0.76	*	F	-0.30	0.67
Val 118	A	A			B	-0.33	0.90	*	F	0.45	0.92
Val 119	A	A			B	-0.33	-0.30	*	F	0.45	0.96
Lys 120	A	A			B	0.59	-0.03	*	F	0.60	1.44
Ala 121	A	A			T	0.94	-0.71	*	F	1.30	1.41
Sec 122	A	A			T	0.87	-0.71	*	F	1.15	3.61
Tyr 123	A	A			T	0.82	-0.67	*	F	1.30	1.94
Arg 124	A	A			T	1.37	-0.27	*	F	1.90	2.12
Lys 125	A	A			B	1.29	-0.29	*	F	0.60	2.29
Ile 126	A	A			B	0.99	-0.17	*	F	0.60	1.99
His 127	A	A			B	0.48	-0.14	*	F	0.45	0.71
Phe 128	A	A			B	0.77	0.44	*	F	-0.60	0.29
His 129	A	A			B	-0.20	0.44	*	F	-0.60	0.64
Ile 130	A	A			B	-0.46	0.40	*	F	-0.30	0.29
Leu 131	A	A			B	0.42	0.43	*	F	-0.60	0.41
Lys 132	A	A			B	0.12	-0.06	*	F	0.45	0.52
Val 133	A	A			B	0.43	-0.07	*	F	0.60	1.08
Pro 134	A	A			C	0.47	-0.76	*	F	1.20	2.20
Glu 135	A	A				0.50	-1.44	*	F	0.90	1.90
Thr 136	A	A				1.31	-0.90	*	F	0.90	1.90
Arg 137	A	A				0.45	-1.44	*	F	0.90	2.13
Glu 138	A	A				1.00	-1.19	*	F	0.90	1.02
Val 139	A	A				0.54	-0.70	*	F	0.75	2.03
Glu 140	A	A				0.54	-0.61	*	F	0.60	0.23
Leu 141	A	A				0.27	-0.21	*	F	0.30	0.33
Thr 142	A	A				-0.04	0.29	*	F	-0.30	0.44
Cys 143	A	A				-0.59	0.23	*	F	-0.20	0.37

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Gln 144	A	A	0.22	0.56	*	.	-0.60	0.44
Ala 145	.	.	.	T	T	.	0.01	0.62	*	.	0.20	0.48
Thr 146	.	.	.	T	T	.	0.01	0.57	.	F	0.50	1.39
Gly 147	C	.	-0.27	0.69	.	.	0.00	0.66
Tyr 148	.	.	B	.	T	.	0.40	0.79	*	.	-0.20	0.66
Pro 149	.	A	B	.	.	.	-0.46	0.29	.	.	-0.30	0.79
Leu 150	.	A	B	.	.	.	-0.17	0.44	.	.	-0.60	0.59
Ala 151	.	A	B	.	.	.	-0.14	0.40	.	.	-0.20	0.51
Gln 152	.	A	B	.	.	.	-0.01	0.56	.	.	-0.60	0.35
Val 153	.	A	R	.	.	.	0.23	0.38	.	.	-0.60	0.65
Ser 154	.	A	B	.	.	.	-0.41	0.27	.	.	-0.15	1.02
Trp 155	.	.	.	T	C	.	0.10	0.41	.	.	0.00	0.44
Pro 156	.	.	.	T	C	.	-0.17	0.60	.	.	0.00	0.60
Asn 157	.	.	B	T	T	.	-0.38	0.60	.	.	0.20	0.44
Val 158	.	.	B	.	T	.	-0.11	0.54	.	.	-0.30	0.65
Ser 159	.	.	R	.	.	.	0.19	0.43	*	.	-0.40	0.43
Val 160	.	.	B	.	.	.	0.17	0.40	*	.	-0.10	0.43
Pro 161	.	.	H	T	T	.	0.00	0.49	*	.	-0.20	0.43
Ala 162	.	.	.	T	T	.	0.04	0.23	.	F	0.65	0.83
Asn 163	.	.	.	T	C	.	0.60	0.34	*	F	0.60	1.52
Thr 164	.	.	B	T	.	.	1.01	0.09	.	F	0.40	1.31
Ser 165	C	.	1.56	-0.34	.	F	1.00	2.55
His 166	1.56	-0.36	*	F	1.34	2.79
Asp 167	C	.	2.14	-0.24	*	F	1.68	2.45
Arg 168	C	.	1.80	-0.64	*	F	2.32	2.16
Thr 169	.	.	.	T	C	.	1.10	-0.77	*	F	2.86	2.30
Pro 170	.	.	.	T	T	.	1.36	-0.59	*	F	3.40	1.42
Gln 172	.	.	.	T	T	.	1.22	-0.21	*	F	2.76	1.43
Gly 173	T	.	0.83	0.20	*	F	1.42	1.76
Leu 175	.	.	S	R	.	.	0.41	0.34	*	.	0.38	0.65
Tyr 174	.	.	H	R	.	.	0.42	0.40	*	.	0.04	0.84
Gln 175	.	.	H	B	.	.	-0.22	0.79	*	.	-0.60	0.76
Val 176	.	.	B	B	.	.	-1.03	1.00	*	*	-0.60	0.66
Thr 177	.	.	B	B	.	.	-0.58	1.00	*	.	-0.60	0.35
Ser 178	.	.	B	B	.	.	-0.58	0.24	*	*	-0.10	0.39
Val 179	.	.	B	R	.	.	-0.29	0.53	*	*	-0.60	0.44
Leu 180	.	.	B	B	.	.	-0.50	-0.11	*	*	0.20	0.61
Arg 181	.	.	B	E	.	.	0.14	-0.17	*	.	0.30	0.70
Leu 182	.	.	S	S	.	.	0.24	-0.23	*	.	0.79	1.46
Lys 183	.	.	D	B	.	.	0.20	-0.34	*	F	1.28	2.74
Pro 184	C	.	1.17	-0.60	*	F	2.22	1.28
Pro 185	.	.	.	T	C	.	1.98	-0.60	*	F	2.86	3.29
Pro 186	.	.	.	T	T	.	1.17	-0.89	*	F	3.40	1.64
Gly 187	.	.	.	T	T	.	1.68	-0.10	*	F	2.76	1.40
Arg 188	.	.	.	T	T	.	0.97	-0.14	*	F	2.42	1.78
Asn 189	.	.	E	.	T	.	0.32	0.60	*	.	2.38	0.44
Phe 190	.	.	B	.	T	.	-0.17	0.21	*	.	0.44	0.33
Ser 191	.	.	B	.	T	.	-0.24	0.57	*	.	-0.20	0.25
Cys 192	.	.	D	.	T	.	0.10	1.49	*	.	-0.20	0.20
Val 193	.	.	E	B	.	.	-0.22	1.49	*	.	-0.60	0.28
Phe 194	.	.	E	T	.	.	-0.26	1.19	.	.	-0.20	0.19
Trp 195	.	.	B	T	.	.	-0.51	1.30	*	.	-0.20	0.49
Asn 196	.	.	B	.	C	.	-0.10	1.37	*	*	-0.40	0.48
Thr 197	.	.	B	.	C	.	0.57	0.73	*	*	-0.25	1.21
His 198	.	A	.	.	C	.	0.61	-0.06	*	*	0.65	1.82
Val 199	A	A	1.30	-0.29	*	.	0.30	0.92
Arg 200	A	A	0.48	-0.20	*	.	0.20	0.92
Glu 201	A	A	-0.11	0.00	*	.	0.20	0.57
Leu 202	A	A	-0.10	0.00	.	.	0.50	0.77
Thr 203	A	A	-0.56	-0.26	*	.	0.20	0.53
Leu 204	A	A	-0.10	0.43	*	*	-0.60	0.21
Ala 205	A	A	-1.02	0.43	*	*	-0.60	0.43
Ser 206	A	A	-1.02	0.43	.	*	-0.60	0.25
Ile 207	A	A	-0.51	0.34	.	*	-0.20	0.52
Asp 208	A	A	-0.20	0.64	.	*	-0.30	0.69
Leu 209	A	A	0.03	-0.66	*	F	0.45	0.59
Gln 210	A	A	0.60	0.17	.	F	0.00	1.26
Ser 211	.	A	.	.	C	.	0.69	-0.52	.	F	1.44	1.20
Gln 212	.	A	B	.	.	.	1.69	-0.08	*	F	1.28	1.44
Met 213	.	A	.	.	C	.	1.38	-0.77	*	F	2.12	2.76
Glu 214	.	B	.	.	T	.	2.16	-0.69	*	F	2.56	2.97
Pro 215	.	.	.	T	T	.	1.94	-0.57	*	F	3.40	2.34
Arg 216	.	.	.	T	T	.	1.93	-0.55	*	F	3.06	3.65

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Thr 217	T	C	1.64	-0.87 *	*	F	2.52	2.04	
His 218	T	C	1.42	0.24	.	*	F	1.28	0.07
Pro 219	T	C	0.62	0.50	.	*	F	0.49	0.87
Thr 220	T	T	0.80	1.19 *	*	.	.	0.20	0.50
Trp 221	A	T	.	-0.20	1.20 *	*	.	.	-0.20	0.59
Leu 222	.	.	B	B	.	.	.	-0.59	1.25	.	.	.	-0.59	0.23
Leu 223	.	.	B	B	.	.	.	-1.44	1.74	.	.	.	-0.60	0.14
His 224	.	.	B	B	.	.	.	-1.44	1.84	.	.	.	-0.60	0.09
Ile 225	.	.	B	B	.	.	.	-1.43	1.46	.	.	.	-0.60	0.17
Phe 226	.	.	B	B	.	.	.	-1.81	1.16	.	.	.	-0.60	0.28
Ile 227	.	.	B	.	.	T	.	-1.59	1.04	.	.	.	-0.20	0.11
Pro 228	T	T	-1.59	1.25	.	.	.	0.20	0.11
Ser 229	T	T	-2.52	1.23	.	.	.	0.20	0.09
Cys 230	.	.	E	.	.	T	.	-2.23	0.84	.	.	.	-0.20	0.13
Ile 231	.	.	B	B	.	.	.	-2.52	1.04	.	.	.	-0.60	0.07
Ile 232	.	.	B	B	.	.	.	-2.33	1.20	.	.	.	-0.60	0.04
Ala 233	.	.	D	B	.	.	.	-3.02	1.70	.	.	.	-0.60	0.06
Phe 234	.	.	B	B	.	.	.	-3.30	1.81	.	.	.	-0.60	0.06
Ile 235	.	.	D	B	.	.	.	-2.24	1.63	.	.	.	-0.60	0.09
Pro 236	.	.	H	B	.	.	.	-2.92	1.43	.	.	.	-0.60	0.12
Ile 237	A	.	B	-2.92	2.87	.	.	.	-0.60	0.11
Ala 238	A	.	B	-2.91	1.47	.	.	.	-0.60	0.11
Thr 239	A	.	B	-3.02	1.29	*	.	.	-0.60	0.12
Val 240	A	.	B	-2.22	1.23 *	*	.	.	-0.60	0.14
Ile 241	A	.	B	-1.28	0.50	.	.	.	-0.60	0.28
Ala 242	A	.	S	-0.39	0.00	.	*	.	0.30	0.39
Leu 243	A	.	B	-0.62	-0.09	*	.	.	0.30	0.31
Arg 244	A	.	B	-0.87	-0.04 *	*	.	.	0.45	1.07
Lys 245	A	.	B	-0.31	-0.16	.	*	F	0.45	0.57
Gln 246	A	A	0.82	-0.26	.	*	F	0.60	1.13
Leu 247	A	A	0.60	-0.94	*	.	.	0.75	1.22
Cys 248	.	A	E	1.17	-0.26 *	*	.	.	0.30	0.50
Gln 249	.	A	B	0.76	0.30	*	.	.	-0.60	0.45
Lys 250	.	A	B	0.42	0.49 *	.	.	.	-0.60	0.74
Leu 251	.	A	B	0.46	0.19 *	.	F	.	0.24	1.84
Tyr 252	.	A	B	1.27	-0.39 *	.	F	.	1.28	2.13
Ser 253	T	.	1.62	-0.79	.	F	.	2.52	1.70
Ser 254	T	T	1.31	-0.30	.	F	.	2.76	3.11
Lys 255	T	T	1.31	0.50 *	.	S	.	1.40	2.06
Asp 256	T	T	2.23	-1.26 *	.	F	.	2.06	4.27
Thr 257	T	T	2.27	-1.64 *	.	F	.	2.72	6.25
Thr 258	.	.	B	1.71	-1.60 *	.	F	.	1.78	4.83
Lys 259	.	.	B	1.70	-0.96 *	.	F	.	1.44	2.15
Arg 260	.	.	H	B	.	.	.	1.34	-0.47 *	.	F	.	0.60	2.15
Pro 261	.	.	B	B	.	.	.	1.03	-0.47 *	.	F	.	0.60	2.15
Val 262	.	.	B	B	.	.	.	1.39	-0.47 *	.	P	.	0.60	1.58
Thr 263	.	.	B	B	.	.	.	1.81	-0.47 *	.	F	.	0.60	1.58
Thr 264	.	.	B	B	.	.	.	1.77	-0.47 *	.	F	.	0.60	2.00
Thr 265	.	.	B	B	.	.	.	0.80	-0.90 *	.	F	.	1.34	4.67
Lys 266	.	.	B	B	.	.	.	1.01	-0.90 *	.	P	.	1.55	2.40
Arg 267	.	.	D	1.57	-0.99 *	.	F	.	2.98	2.60
Glu 268	.	.	B	1.29	-1.09 *	.	F	.	2.20	2.49
Val 269	.	.	B	0.74	-1.05 *	.	F	.	1.58	1.66
Asn 270	.	.	B	1.06	-0.42 *	*	F	.	1.21	0.48
Ser 271	.	.	B	0.20	-0.93 *	*	.	.	0.94	0.44
Ala 272	.	.	D	0.09	0.26 *	*	.	.	-0.18	0.49
Val 273	.	.	B	-0.32	0.41	*	.	.	-0.59	0.45
Asn 274	.	.	H	-0.16	0.70	*	.	.	-0.40	0.20
Leu 275	.	.	E	-0.46	1.23	*	.	.	-0.40	0.31
Asn 276	.	.	E	-0.44	1.11	.	.	.	-0.60	0.27
Leu 277	C	0.16	1.29	.	.	.	-0.20	0.27
Trp 278	C	0.72	0.99	*	.	.	-0.20	0.78
Ser 279	C	0.44	0.73	.	.	.	-0.20	0.75
Trp 280	C	0.87	0.76	.	.	.	-0.20	0.80
Glu 281	C	0.48	0.50	.	.	.	-0.95	1.09
Pro 282	T	.	0.90	0.91	.	.	.	0.45	1.04
Gly 283	T	.	0.80	0.96	.	.	.	0.45	1.27

Table 5

I II III IV V VI VII VIII IX X XI XII XIII XIV

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Met 1	A	A	-2.47	0.70	-0.60	0.31
Ala 2	A	A	-1.38	0.96	-0.60	0.20
Leu 3	A	A	-1.80	0.91	-0.60	0.21
Met 4	A	A	-2.27	1.17	-0.60	0.17
Leu 5	A	A	-2.69	1.26	-0.60	0.13
Ser 6	A	A	-2.59	1.39	-0.60	0.13
Leu 7	A	A	-2.61	1.09	-0.60	0.17
Val 8	A	A	-2.61	1.16	*	.	.	.	-0.60	0.17
Leu 9	A	A	-1.97	1.16	*	.	.	.	-0.60	0.11
Ser 10	A	A	-1.97	0.77	*	.	.	.	-0.60	0.26
Leu 11	.	A	E	-2.01	0.77	*	.	.	.	-0.60	0.28
Leu 12	.	A	E	-1.50	0.56	*	.	.	.	-0.60	0.24
Lys 13	.	A	B	-0.99	0.26	*	.	F	.	-0.15	0.34
Leu 14	.	A	C	-0.18	0.30	.	.	F	.	0.05	0.41
Gly 15	.	.	.	T	T	.	.	-0.17	0.01	*	.	F	.	0.65	0.86
Ser 16	.	.	.	T	C	.	.	0.64	0.24	*	.	F	.	0.45	0.45
Gly 17	.	.	.	T	C	.	.	0.60	0.64	*	.	F	.	0.15	0.95
Gln 18	.	.	B	.	T	.	.	-0.14	0.60	*	.	F	.	-0.05	0.71
Tyr 19	.	.	B	E	.	.	.	0.32	0.96	-0.60	0.46
Gln 20	.	.	B	B	.	.	.	0.46	1.00	-0.60	0.46
Val 21	.	.	B	B	.	.	.	0.76	1.00	-0.60	0.41
Phe 22	.	.	B	G	.	.	.	1.14	0.60	.	*	.	.	-0.20	0.65
Gly 23	.	.	.	T	C	.	.	0.95	-0.31	1.50	0.75
Pro 24	.	.	.	T	T	.	.	0.37	-0.39	.	.	F	.	2.35	1.57
Asp 25	.	.	.	T	C	.	.	0.37	-0.29	.	.	F	.	2.40	1.34
Lys 26	.	.	.	T	C	.	.	0.63	-0.67	*	.	F	.	3.00	2.35
Pro 27	.	.	.	B	.	.	C	0.52	-0.80	*	.	F	.	3.30	1.84
Val 28	.	.	B	B	.	.	.	0.01	-0.34	*	.	.	.	1.20	0.76
Gln 29	.	.	B	B	.	.	.	-0.12	0.20	*	.	.	.	0.20	0.28
Ala 30	.	.	B	B	.	.	.	-0.12	0.72	-0.30	0.18
Leu 31	.	.	B	E	.	.	.	-0.17	0.30	-0.30	0.42
Val 32	.	.	B	E	.	.	.	-0.54	-0.34	0.30	0.41
Gly 33	A	.	.	R	.	.	.	-0.28	-0.24	.	.	F	.	0.45	0.41
Gln 34	A	-0.98	-0.24	.	.	F	.	0.45	0.50
Asp 35	A	-0.69	-0.14	.	.	F	.	0.45	0.58
Ala 36	A	-0.54	-0.40	0.20	0.79
Ala 37	A	.	.	B	.	.	.	-0.39	-0.26	0.30	0.24
Phe 38	A	.	.	B	.	.	.	-0.86	0.33	-0.60	0.15
Ser 39	A	.	.	B	.	.	.	-1.16	1.21	-0.60	0.10
Cys 40	A	.	.	B	.	.	.	-1.37	1.10	-0.60	0.14
Phe 41	A	.	.	B	.	.	.	-0.73	1.03	-0.60	0.24
Leu 42	.	.	D	.	E	.	.	-0.46	0.24	-0.30	0.36
Ser 43	.	.	.	T	C	.	.	0.35	0.34	.	*	F	.	0.45	0.98
Pro 44	.	.	.	T	C	.	.	-0.04	0.17	.	*	F	.	0.60	1.82
Lys 45	.	.	.	T	C	.	.	0.62	-0.11	.	*	F	.	1.20	2.23
Tyr 46	A	.	.	T	.	.	.	0.72	-0.30	.	*	F	.	1.30	2.88
Asn 47	A	0.54	-0.59	.	*	F	.	0.50	1.88
Ala 48	A	1.24	-0.50	.	*	.	.	0.30	0.93
Gln 49	A	0.60	-0.50	.	*	.	.	0.45	1.12
Ala 50	A	0.67	-0.34	.	*	.	.	0.30	0.52
Met 51	A	0.38	-0.74	.	*	.	.	0.60	1.00
Glu 52	A	-0.42	-0.46	.	*	.	.	0.30	0.50
Val 53	A	0.28	0.23	.	*	.	.	-0.30	0.43
Arg 54	A	-0.07	-0.17	.	*	.	.	0.30	0.85
Phe 55	A	0.52	-0.36	.	*	.	.	0.30	0.43
Phe 56	A	0.43	0.06	.	*	.	.	0.25	1.13
Arg 57	A	.	.	.	T	.	.	0.13	0.19	.	*	.	.	0.10	0.57
Gly 58	.	.	.	T	T	.	.	0.63	0.57	.	*	F	.	0.35	0.77
Gln 59	.	.	.	T	T	.	.	-0.29	0.17	.	*	F	.	0.80	1.20
Phe 60	.	.	.	B	.	.	.	-0.44	0.33	.	*	F	.	0.05	0.45
Ser 61	.	.	.	B	.	.	.	0.22	0.67	.	*	F	.	-0.25	0.24
Ser 62	.	.	B	B	.	.	.	-0.70	0.74	.	*	.	.	-0.60	0.27
Val 63	.	.	D	B	.	.	.	-0.60	1.03	.	*	.	.	-0.60	0.25
Val 64	.	.	B	B	.	.	.	-0.49	1.00	.	*	.	.	-0.60	0.30
Phe 65	.	.	B	B	.	.	.	0.21	0.51	.	*	.	.	-0.25	0.43
Leu 66	.	.	B	B	.	.	.	0.17	0.33	.	*	.	.	0.30	0.98
Tyr 67	.	.	D	.	T	.	.	0.51	0.01	.	*	.	.	1.27	1.30
Arg 68	.	.	.	T	T	.	.	1.37	-0.63	.	*	F	.	3.06	1.62
Asp 69	.	.	.	T	T	.	.	2.22	-1.13	.	*	F	.	3.40	3.88
Gly 70	.	.	.	T	T	.	.	2.04	-1.11	.	*	F	.	3.06	4.29
Lys 71	.	.	.	T	.	.	.	2.15	-1.74	.	*	F	.	2.52	3.39
Asp 72	C	.	.	1.80	-0.96	.	.	F	.	1.98	1.76

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Gln 73	C	1.59	-0.34	.	F	1.34	1.76
Pro 74	.	.	E	.	.	.	1.09	-0.37	.	F	0.00	1.52
Phe 75	.	.	E	.	.	.	1.22	0.24	.	.	-0.10	0.00
Met 76	.	.	B	.	.	.	1.18	0.67	.	.	-0.40	0.80
Gln 77	.	.	B	.	.	.	0.93	0.67	.	.	-0.46	0.90
Met 78	.	.	B	.	.	.	0.92	1.00	*	.	-0.35	1.63
Phe 79	.	.	E	.	.	.	0.80	0.61	*	*	0.03	2.83
Gln 80	T	.	1.61	0.43	*	*	0.98	1.63
Tyr 81	T	T	1.90	0.63	.	*	1.82	3.23
Gln 82	A	.	.	.	T	.	1.94	-0.10	.	*	2.36	3.01
Gly 83	T	.	1.73	-0.53	.	*	3.40	3.48
Arg 84	.	.	B	.	T	.	1.09	-0.24	.	*	2.36	1.83
Thr 85	.	.	B	.	.	.	1.13	-0.36	.	*	1.90	0.78
Lys 86	.	.	B	.	.	.	1.38	-0.76	.	*	2.24	1.59
Leu 87	.	.	E	.	.	.	1.09	-1.13	.	*	2.13	1.25
Val 88	.	.	E	.	T	.	0.52	-0.80	.	*	2.22	1.26
Lys 89	.	.	R	.	T	.	-0.17	-0.60	.	.	2.30	0.44
Asp 90	.	.	B	.	T	.	0.14	-0.20	*	.	1.77	0.94
Ser 91	.	.	E	.	T	.	-0.24	-0.79	*	.	1.64	1.26
Ile 92	A	A	0.68	-1.00	*	.	1.95	0.62
Ala 93	A	A	0.66	-1.00	*	*	0.98	0.75
Glu 94	A	A	0.30	-0.31	.	*	0.45	0.38
Gly 95	A	A	-0.51	-0.31	*	*	0.45	0.73
Arg 96	A	A	-0.10	-0.31	*	*	0.45	0.60
Ile 97	A	A	-0.02	-0.31	.	*	0.75	0.67
Ser 98	A	A	0.57	-0.13	*	*	0.30	0.56
Leu 99	A	A	0.57	-0.56	*	*	0.60	0.50
Arg 100	A	A	0.02	-0.16	*	*	0.45	1.14
Leu 101	A	A	-0.40	-0.26	*	*	0.30	0.60
Glu 102	.	B	-0.37	-0.06	.	*	0.45	1.94
Asn 103	.	A	B	.	.	.	-0.88	-0.10	.	*	0.30	0.40
Ile 104	.	A	B	.	.	.	-0.67	0.59	.	*	-0.60	0.40
Thr 105	.	A	B	.	.	.	-0.77	-0.10	.	.	0.30	0.38
Val 106	.	A	B	.	.	.	-0.30	0.40	.	*	-0.60	0.24
Leu 107	.	A	B	.	.	.	-1.12	0.43	.	.	-0.60	0.34
Asp 108	.	A	B	.	.	.	-1.36	0.43	.	.	-0.60	0.19
Ala 109	.	A	B	.	.	.	-0.81	0.70	.	.	-0.60	0.41
Gly 110	.	.	.	T	.	.	-1.17	0.49	*	.	0.00	0.49
Leu 111	.	B	.	T	.	.	-0.20	0.27	*	.	0.10	0.16
Tyr 112	.	B	.	T	.	.	-0.28	0.17	*	*	0.10	0.30
Gly 113	.	B	.	T	.	.	-0.58	0.56	*	*	-0.20	0.33
Cys 114	.	B	.	T	.	.	-0.23	0.51	*	*	-0.20	0.35
Arg 115	.	B	B	.	.	.	0.06	0.21	*	*	-0.20	0.20
Ile 116	.	B	B	.	.	.	0.57	-0.14	*	*	0.45	0.52
Ser 117	.	R	B	.	.	.	0.57	-0.19	*	*	0.76	1.31
Sec 118	.	B	.	T	.	.	0.67	0.60	*	*	1.32	1.05
Gln 119	.	B	.	T	.	.	1.33	0.76	.	*	0.58	2.38
Ser 120	.	.	T	T	.	.	1.27	0.47	.	*	1.14	3.03
Tyr 121	.	.	T	T	.	.	1.57	0.09	.	F	1.60	4.52
Tyr 122	A	.	T	.	.	.	0.98	0.20	.	.	0.89	2.64
Gln 123	A	B	0.99	0.49	.	.	0.03	1.38
Lys 124	A	B	0.39	1.01	.	.	-0.28	0.93
Ala 125	.	B	B	.	.	.	0.43	0.26	*	.	0.02	1.02
Ile 126	.	A	B	.	.	.	0.72	0.19	.	*	-0.30	0.45
Trp 127	.	A	B	.	.	.	0.13	0.19	.	*	-0.30	0.42
Glu 128	A	A	-0.13	0.63	*	*	-0.60	0.31
Leu 129	A	A	-0.52	0.71	*	*	-0.60	0.59
Gln 130	.	B	-1.04	0.53	.	*	-0.60	0.57
Val 131	.	A	B	.	.	.	-0.50	0.30	.	*	-0.30	0.27
Ser 132	.	A	.	.	C	.	-0.51	0.72	.	*	-0.40	0.33
Ala 133	.	A	.	.	C	.	-1.27	0.43	.	*	-0.40	0.25
Leu 134	.	A	B	.	.	.	-0.77	0.27	.	*	-0.60	0.25
Gly 135	.	A	.	T	.	.	-1.58	0.46	.	.	-0.20	0.23
Ser 136	.	B	B	.	.	.	-1.61	0.76	.	.	-0.60	0.24
Val 137	.	B	B	.	.	.	-1.61	0.94	.	.	-0.60	0.20
Pro 138	.	B	B	.	.	.	-1.91	0.64	.	.	-0.60	0.37
Leu 139	.	B	B	.	.	.	-1.69	0.90	.	*	-0.60	0.14
Ile 140	.	B	B	.	.	.	-1.69	1.01	.	.	-0.60	0.19
Ser 141	.	B	B	.	.	.	-1.63	0.60	.	.	-0.60	0.12
Ile 142	.	B	B	.	.	.	-1.63	1.15	.	.	-0.60	0.24
Ala 143	.	B	B	.	.	.	-1.42	1.09	*	.	-0.60	0.25
Gly 144	.	B	B	.	.	.	-0.50	0.40	*	*	-0.24	0.31
Tyr 145	.	B	B	.	.	.	0.38	0.01	*	*	0.33	0.87

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Val 145	.	.	B	B	.	.	-0.20	-0.67 *	.	.	1.53	1.44		
Asp 147	.	.	B	.	.	T	.	0.59	-0.49 *	.	F	2.04	1.02	
Arg 148	.	.	B	.	.	T	.	0.47	-0.51 *	.	F	2.50	1.23	
Asp 149	.	.	B	.	.	T	.	0.00	-0.59 *	.	F	2.34	1.25	
Ile 150	.	.	B	.	.	T	.	-0.42	-0.54 *	.	.	1.78	0.82	
Gln 151	.	.	A	E	.	.	.	0.43	0.03 *	.	.	0.22	0.17	
Leu 152	.	.	A	E	.	.	.	0.23	-0.42 *	.	.	-0.34	0.16	
Leu 153	.	.	A	E	.	.	.	-0.28	0.01 *	.	.	-0.60	0.34	
Cys 154	.	.	A	D	.	.	.	-0.62	0.51 *	.	.	-0.60	0.26	
Gln 155	.	.	A	.	.	T	.	-0.02	0.54 *	*	F	-0.05	0.21	
Ser 156	T	T	.	-0.73	0.77 *	.	F	0.35	0.40
Ser 157	T	T	.	-0.12	0.67 *	.	F	0.35	0.64
Gly 158	T	T	.	0.80	0.73 *	.	F	0.35	0.57
Trp 159	T	T	.	1.26	0.33 *	.	F	0.65	0.84
Phe 160	T	C	.	0.29	0.27 *	.	F	0.45	0.27
Pro 161	T	C	.	0.66	0.47 *	*	F	0.50	1.11
Arg 162	T	C	.	1.03	0.54 *	*	F	0.20	1.36
Pro 163	T	T	.	1.06	-0.37 *	*	F	1.40	1.13
Val 164	T	.	.	1.39	-0.24 *	*	F	1.20	2.13
Ala 165	T	.	.	1.74	-0.57 *	*	F	1.50	2.17
Lys 166	T	.	.	1.70	-0.24 *	*	F	1.20	1.30
Trp 167	T	.	.	1.63	-0.28 *	*	F	1.54	1.49
Lys 168	C	.	1.50	-0.33 *	*	F	1.68	2.55
Gly 169	C	.	1.81	-0.40 *	*	F	2.03	1.26
Pro 170	C	.	2.40	0.00 *	*	F	1.96	2.66
Gln 171	T	T	.	1.54	-0.31 *	*	F	2.40	1.74
Gly 172	T	C	.	1.53	0.23 *	.	F	2.56	1.45
Gln 173	T	.	.	1.18	-0.27 *	.	F	2.03	1.26
Asp 174	B	.	.	1.32	-0.22 *	.	F	1.82	1.05
Leu 175	B	.	.	1.43	-0.61 *	*	F	2.12	1.07
Ser 176	D	.	.	1.54	-0.66 *	*	F	2.32	1.37
Thr 177	D	.	.	1.58	-1.06 *	*	F	2.66	1.60
Asp 178	T	T	.	1.58	-0.37 *	*	F	3.40	2.80
Ser 179	T	C	.	1.89	-0.86 *	*	F	2.46	3.37
Arg 180	T	T	.	2.50	-1.24 *	*	F	3.06	4.57
Thr 181	T	T	.	2.20	-1.73 *	.	F	3.06	4.57
Asn 182	T	T	.	2.48	-1.11 *	.	F	3.06	3.37
Arg 183	B	.	.	2.13	-1.00 *	.	F	2.66	2.34
Asp 184	T	T	.	2.82	-0.57 *	.	F	3.40	1.61
Met 185	E	.	.	0.81	-0.37 *	.	.	2.06	0.82
His 186	E	.	.	1.13	0.01 *	.	.	1.12	0.56
Gly 187	D	.	.	0.27	0.01 *	*	.	3.78	0.56
Leu 188	B	.	.	0.16	0.46 *	*	.	-0.26	0.27
Phe 189	A	B	.	.	-0.75	0.04 *	*	.	-0.30	0.35
Asp 190	A	B	.	.	-0.43	0.23 *	*	.	-0.30	0.25
Val 191	A	B	.	.	-1.21	0.25 *	*	.	-0.20	0.40
Gln 192	A	B	.	.	-1.18	0.19 *	*	.	-0.20	0.38
Ile 193	A	B	.	.	-1.22	-0.11 *	*	.	0.50	0.23
Ser 194	A	D	.	.	-0.52	0.53 *	*	.	-0.60	0.33
Leu 195	A	A	.	.	.	B	.	.	-0.52	0.29 *	*	.	-0.20	0.22
Thr 196	A	A	.	.	.	B	.	.	0.33	0.29 *	*	.	-0.30	0.81
Val 197	A	A	.	.	.	B	.	.	-0.25	0.00 *	*	.	0.55	0.58
Gln 198	A	A	.	.	.	B	.	.	0.25	0.11 *	*	F	0.50	1.00
Glu 199	A	A	.	.	.	B	.	.	0.25	-0.14 *	.	F	1.20	0.82
Asn 200	T	T	.	0.21	-0.24 *	.	F	2.40	1.48
Ala 201	T	T	.	0.22	-0.20 *	.	F	2.50	0.60
Gly 202	T	T	.	0.41	-0.21 *	.	F	3.25	0.46
Ser 203	T	T	.	0.13	0.36 *	.	F	1.20	0.15
Ile 204	A	-0.49	0.34 *	*	.	0.40	0.22
Ser 205	A	-0.28	0.46 *	*	.	-0.15	0.21
Cys 206	B	.	.	0.18	0.02 *	*	.	-0.10	0.30
Ser 207	A	B	.	.	-0.07	0.14 *	*	.	-0.30	0.50
Met 208	A	A	0.20	-0.04 *	*	.	0.20	0.44
Arg 209	A	A	0.28	0.07 *	*	.	-0.15	1.13
His 210	A	A	0.28	0.19 *	.	.	-0.30	0.69
Ala 211	A	A	1.06	0.15 *	.	.	-0.30	0.83
His 212	A	A	1.36	-0.43 *	.	.	0.30	0.83
Leu 213	A	A	1.10	-0.63 *	.	.	0.48	1.18
Ser 214	A	A	0.99	-0.29 *	.	.	0.30	0.47
Arg 215	A	A	0.72	-0.79 *	*	F	0.90	1.10
Glu 216	A	A	1.42	-0.30 *	*	F	0.90	1.79
Val 217	A	D	.	.	0.60	-1.59 *	*	F	0.90	0.62
Glu 218	A	D	.	.	1.41	-1.33 *	*	F	0.75	0.89

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Ser 219	A	.	.	B	.	.	.	0.82	-0.92 *	*	F	0.75	0.97
Arg 220	.	.	H	B	.	.	.	0.37	-0.24 *	*	F	0.48	0.94
Val 221	.	.	B	B	.	.	.	0.37	-0.46 .	*	F	0.45	0.54
Gln 222	A	.	.	B	.	.	.	0.93	-0.46 .	*	.	0.64	0.67
Ile 233	A	T	.	1.04	0.07 *	*	.	0.78	0.36
Gly 224	A	T	.	1.46	0.07 *	*	F	1.27	0.95
Asp 225	F	T	.	1.39	-0.57 .	*	F	3.06	1.07
Trp 226	T	T	.	2.21	-0.97 .	.	F	3.40	3.06
Arg 227	.	.	B	1.87	-1.16 *	.	F	2.46	4.20
Arg 228	T	T	.	2.76	-1.16 *	.	F	2.72	2.49
Lys 229	T	T	.	2.51	-0.76 *	.	F	2.38	4.10
His 230	T	T	.	2.17	-1.17 *	.	F	2.38	2.12
Gly 231	T	C	2.50	-0.74 *	.	F	2.18	1.07
Gln 232	T	.	.	2.50	-0.74 *	.	F	2.52	1.07
His 233	C	.	2.43	0.74 *	.	F	2.66	1.54
Gly 234	T	T	.	2.14	-1.24 *	.	F	3.40	3.11
Lys 235	.	.	B	.	.	T	.	1.88	-0.91 *	.	F	2.66	2.81
Arg 236	T	T	.	1.92	-0.93 *	.	F	2.77	3.73
Lys 237	T	T	.	1.52	-1.04 *	.	F	2.48	5.05
Tyr 238	.	.	B	.	.	T	.	2.13	-1.09 .	.	F	1.79	3.19
Ser 239	.	.	B	.	.	T	.	1.62	-0.89 .	.	F	1.50	2.35
Ser 240	.	.	B	.	.	T	.	1.31	0.10 .	.	F	0.50	0.82
Ser 241	.	.	B	.	.	T	.	1.23	0.86 .	.	F	0.15	0.82
His 242	.	.	B	0.89	0.10 .	.	.	0.30	1.03
Ile 243	.	.	B	0.43	0.10 *	.	.	0.15	1.03
Tyr 244	.	.	B	0.52	0.50 *	.	.	-0.35	0.86
Asp 245	.	.	B	0.52	0.51 *	.	.	-0.40	0.75
Ser 246	.	.	B	0.02	0.43 *	.	F	-0.10	1.41
Pro 247	.	.	B	-0.26	0.43 *	.	F	-0.05	0.76
Pro 248	T	C	.	-0.07	0.06 *	.	F	0.45	0.61
Ser 249	T	C	.	-0.42	0.84 .	.	F	0.18	0.59
Icu 250	T	C	.	-0.42	1.07 .	.	.	0.00	0.45
Ser 251	.	.	B	-0.73	0.29 .	.	.	-0.10	0.49
Pro 252	.	.	S	B	.	.	.	-0.37	0.54 .	.	.	-0.60	0.31
Met 253	.	.	B	B	.	.	.	-1.04	1.01 .	.	.	-0.60	0.60
Arg 254	.	.	B	B	.	.	.	-1.56	1.01 .	.	.	-0.60	0.31
Pro 255	.	.	B	B	.	.	.	-0.63	1.31 .	.	.	-0.60	0.20
Tyr 256	.	.	S	B	.	.	.	-0.54	1.51 .	.	.	-0.60	0.59
His 257	.	.	S	B	.	.	.	-0.70	0.54 .	.	.	-0.70	0.54
Leu 258	.	.	S	B	.	.	.	-0.44	0.39 *	.	.	-0.60	0.47
Arg 259	.	.	B	R	.	.	.	-0.66	0.62 *	.	.	-0.25	0.29
Pro 260	.	.	B	T	.	.	.	-0.63	0.70 *	*	F	0.75	0.65
Val 261	.	.	B	T	.	.	.	-0.27	0.19 *	*	F	1.00	0.42
Gly 262	T	C	.	0.03	-0.50 *	*	F	2.35	0.42
Pro 263	T	T	.	0.89	0.30 *	*	F	2.50	0.28
Cys 264	.	.	B	.	.	T	.	-0.03	-0.43 *	*	F	1.85	0.74
Arg 265	.	.	B	.	.	T	.	-0.68	-0.39 .	*	.	1.45	0.62
His 266	A	.	B	-0.42	-0.17 .	*	.	0.80	0.30
Lys 267	A	.	B	-0.42	0.31 .	*	.	-0.05	0.85
Leu 268	A	.	B	-0.52	-0.33 .	*	.	0.30	0.28
Val 269	A	.	B	-0.67	0.26 .	*	.	-0.30	0.40
Met 270	A	.	A	-0.73	0.24 .	*	.	-0.60	0.15
Gly 271	A	.	A	-0.96	0.54 .	*	.	-0.60	0.40
Trp 272	A	.	A	-1.00	0.54 .	*	.	-0.60	0.44
Leu 273	A	.	A	-1.08	0.10 .	*	.	-0.30	0.77
Lys 274	A	.	A	-1.03	0.37 .	*	.	-0.30	0.65
Leu 275	A	.	A	-0.78	0.63 .	*	.	-0.60	0.31
Gln 276	A	.	A	-0.43	0.57 .	*	.	-0.60	0.37
Ile 277	A	.	B	-0.88	-0.11 .	*	.	0.30	0.32
Leu 278	A	.	A	-0.20	0.53 .	*	.	-0.60	0.29
Gly 279	A	.	A	-0.94	0.24 .	*	.	-0.30	0.23
Glu 280	A	.	A	-0.39	0.73 .	*	.	-0.60	0.26
Val 281	A	.	A	-0.29	0.69 *	*	.	-0.60	0.26
His 282	A	.	A	-0.06	0.00 *	*	.	0.20	0.45
Phe 283	A	.	A	0.54	-0.43 .	.	.	0.30	0.82
Val 284	A	.	B	0.86	0.60 .	*	.	0.45	1.07
Glu 285	A	.	A	0.56	-0.14 .	*	F	0.60	1.07
Lys 286	A	T	.	0.60	-0.26 *	.	F	1.00	1.66
Pro 287	A	T	.	-0.18	-0.36 *	.	F	1.00	1.85
His 288	A	T	.	0.52	-0.31 *	.	F	0.86	0.88
Ser 289	A	T	.	0.49	0.09 *	.	.	0.10	0.76
Leu 290	A	.	.	B	.	.	.	0.19	0.77 .	*	.	-0.60	0.35
Leu 291	.	.	B	B	.	.	.	-0.20	0.73 .	*	.	-0.60	0.34

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Gln 292	.	.	B	B	.	.	.	-0.33	0.66	.	.	.	-0.60	0.25
Ile 293	.	.	B	B	.	.	.	-0.60	0.70	.	.	.	-0.45	0.30
Ser 294	.	.	B	.	.	T	.	-0.61	0.40	.	.	F	0.25	0.49
Gly 295	T	T	.	-0.11	0.20	.	.	F	0.65	0.41
Gly 296	T	T	.	-0.11	0.29	.	*	F	0.65	0.84
Ser 297	T	C	-0.07	0.25	*	.	F	0.45	0.52
Thr 298	.	.	B	B	.	.	.	0.87	-0.10	*	.	F	0.90	1.04
Thr 299	.	.	B	B	.	.	.	0.82	-0.53	*	.	F	1.50	2.11
Leu 300	.	.	D	B	.	.	.	0.95	-0.53	*	.	F	1.80	1.95
Lys 301	.	.	.	B	T	.	.	1.30	-0.49	*	.	F	2.20	1.67
Lys 302	T	.	.	1.35	-0.57	*	.	F	3.00	1.86
Gly 303	T	C	1.43	-0.63	*	.	F	2.70	3.49
Pro 304	T	C	1.42	-0.40	*	.	F	2.10	1.83
Asn 305	T	C	1.53	-0.01	*	.	F	1.80	1.33
Pro 306	T	T	.	1.28	0.77	*	.	F	0.90	1.08
Trp 307	T	.	0.23	0.77	.	.	.	0.15	1.05
Ser 308	C	1.07	0.73	.	.	.	-0.20	0.90
Phe 309	.	.	B	0.61	0.76	.	.	F	-0.25	0.80
Pro 310	.	.	R	0.02	0.90	.	.	F	-0.25	0.46
Ser 311	T	C	-0.58	0.49	.	.	F	0.15	0.34
Pro 312	T	T	.	-0.92	0.79	.	.	F	0.35	0.23
Cys 313	T	T	.	-0.90	0.79	.	.	.	0.20	0.18
Ala 314	.	.	B	.	T	T	.	-0.51	0.79	.	.	.	0.30	0.11
Leu 315	.	.	B	-0.69	0.89	.	.	.	-0.40	0.20
Phe 316	.	.	B	-0.78	0.89	.	.	.	-0.40	0.47
Phe 317	.	.	B	-0.95	0.74	.	.	.	-0.49	0.60
Thr 318	.	.	B	-0.68	0.67	.	.	.	-0.40	0.92

Table 6

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Met 1	A	A	-0.04	-0.17	.	.	.	0.45	1.00
Glu 2	A	A	-0.24	-0.13	.	.	.	0.30	0.79
Pro 3	A	A	-0.57	-0.05	.	.	.	0.50	0.63
Ala 4	A	A	-0.31	0.23	*	.	.	-0.20	0.52
Ala 5	A	A	-0.62	0.11	.	*	.	-0.30	0.41
Ala 6	A	A	-0.32	0.20	.	.	.	-0.60	0.23
Leu 7	A	A	-0.21	0.86	.	.	.	-0.60	0.30
His 8	A	A	-0.21	0.36	*	.	.	-0.30	0.53
Phe 9	A	A	-0.51	0.29	*	.	.	-0.20	0.90
Ser 10	A	A	0.08	0.29	*	.	.	-0.15	1.11
Arg 11	A	.	.	.	T	.	.	-0.14	-0.01	*	.	F	1.00	1.09
Pro 12	A	.	.	.	T	.	.	-0.14	0.17	*	.	F	0.49	1.04
Ala 13	A	.	.	.	T	.	.	-0.52	0.07	*	.	F	0.25	0.64
Ser 14	A	.	.	.	T	.	.	-1.03	0.37	*	.	.	0.10	0.37
Leu 15	A	.	B	-1.54	1.06	.	.	.	-0.60	0.14
Leu 16	A	.	B	-1.96	1.31	.	*	.	-0.60	0.12
Leu 17	A	.	B	-2.58	1.20	.	.	.	-0.60	0.12
Leu 18	A	.	B	-2.43	1.20	.	*	.	-0.60	0.32
Leu 19	A	.	B	-2.82	1.29	.	.	.	-0.60	0.08
Ser 20	A	.	B	-2.92	1.20	.	.	.	-0.60	0.09
Leu 21	A	.	B	-2.97	1.20	.	.	.	-0.60	0.09
Cys 22	A	.	B	-2.46	1.15	.	*	.	-0.60	0.08
Ala 23	A	.	B	-2.32	0.86	.	*	.	-0.60	0.08
Leu 24	A	.	B	-1.42	0.57	.	*	.	-0.60	0.10
Val 25	A	.	B	-1.82	0.69	.	*	.	-0.60	0.33
Ser 26	A	.	B	-1.32	0.80	.	*	.	-0.60	0.20
Ala 27	A	.	B	-1.53	0.89	.	*	.	-0.60	0.50
Gln 28	A	.	B	-1.78	0.84	.	*	.	-0.60	0.50
Phe 29	.	B	B	-1.31	0.84	.	*	.	-0.60	0.28
Thr 30	.	B	B	-0.67	0.89	.	*	.	-0.60	0.27
Val 31	.	B	B	-0.96	0.61	.	*	.	-0.60	0.24
Val 32	.	B	B	-0.37	0.51	.	*	.	-0.40	0.28
Gly 33	.	.	B	.	.	.	C	-0.88	0.53	.	*	F	-0.25	0.31
Pro 34	T	.	.	-0.77	0.47	.	.	F	0.15	0.65
Ala 35	T	.	.	-1.27	0.51	.	.	F	0.15	0.62
Asn 26	T	C	.	-1.00	0.56	.	.	F	0.15	0.51
Pro 37	A	.	.	.	T	.	.	-0.74	0.63	.	.	.	-0.20	0.34
Ile 38	A	A	-1.26	0.81	.	.	.	-0.60	0.35
Leu 39	.	A	B	-1.29	0.96	*	.	.	-0.60	0.15

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Ala 40	A	A	-0.95 0.98 *	.	.	-0.40 0.10
Met 41	A	A	-0.80 0.56	.	.	-0.60 0.24
Val 42	A	A	-0.99 0.27	.	.	-0.30 0.47
Gly 43	A	T	.	-0.22 0.07	.	F	0.25 0.67
Glu 44	A	T	.	-0.22 0.05	*	F	0.25 0.88
Asp 45	A	T	.	0.38 0.13	*	F	0.40 1.09
Thr 46	A	T	.	0.33 -0.51	*	F	1.30 2.15
Thr 47	A	A	1.13 -0.37	*	F	0.45 0.66
Leu 48	A	A	0.67 0.13	.	.	-0.30 0.56
Arg 49	A	A	0.37 0.41	.	.	-0.60 0.32
Lys 50	A	A	0.15 0.21	.	.	0.00 0.30
His 51	A	A	.	.	.	T	.	0.47 0.26 *	*	.	0.70 0.56
Leu 52	.	A	C	0.82 -0.43 *	*	.	1.40 0.48
Ser 53	T	C	1.63 -0.43 *	*	F	2.40 1.85
Pro 54	T	C	0.92 -0.60 *	*	F	3.00 2.18
Glu 55	A	T	.	1.60 -0.60	.	F	2.50 2.67
Lys 56	A	T	.	1.63 -1.29	.	F	2.20 3.45
Asn 57	A	A	1.84 -1.67	.	F	1.50 3.73
Ala 58	A	A	2.14 -1.49	.	F	1.20 2.13
Glu 59	A	A	1.50 -1.49 *	*	F	0.90 1.85
Arg 60	A	A	1.61 -0.84 *	*	F	0.75 0.88
Met 61	A	A	1.28 -1.24 *	*	.	0.75 1.65
Glu 62	A	A	0.58 -0.83 *	*	.	0.75 1.00
Val 63	A	A	1.28 -0.04 *	*	.	0.30 0.82
Arg 64	A	A	0.98 -0.04 *	*	.	0.45 1.03
Tyr 65	A	A	0.90 -0.27 *	*	.	0.30 0.80
Phe 66	A	A	0.88 0.13 *	*	.	-0.15 1.86
Arg 67	.	A	.	.	.	T	.	0.58 0.27 *	*	F	0.28 0.82
Ser 68	T	T	1.22 0.66 *	*	F	0.50 1.05
Gln 69	T	T	0.52 0.17 *	*	F	0.80 1.87
Phe 70	T	C	-0.04 -0.11	.	F	1.05 0.96
Ser 71	T	C	-0.04 0.53	.	F	0.15 0.53
Pro 72	H	.	-1.01 0.93	.	.	-0.40 0.27
Ala 73	H	T	-0.56 1.17	.	.	-0.20 0.23
Val 74	H	B	-0.91 1.14	.	.	-0.44 0.21
Phe 75	H	B	-0.55 0.76	.	.	-0.28 0.35
Val 76	H	B	-0.60 0.76 *	.	.	-0.12 0.34
Tyr 77	T	T	-0.28 0.69 *	.	.	0.81 0.45
Lys 78	T	T	0.31 0.04	.	F	1.60 1.07
Gly 79	T	C	1.26 -0.74	*	F	2.11 2.29
Gly 80	T	C	1.67 -1.30 *	*	F	1.98 2.98
Arg 81	.	A	C	2.52 -1.66 *	*	F	1.42 2.15
Glu 82	.	A	C	2.77 -1.66	*	F	1.26 3.77
Arg 83	A	A	2.72 -2.69	*	F	0.90 6.59
Thr 84	A	A	2.47 -0.11	*	F	0.90 8.82
Glu 85	A	A	2.81 -1.50	*	F	0.90 3.33
Glu 86	A	A	2.70 -1.50	*	F	0.90 2.95
Met 87	A	A	2.46 -1.50	*	F	0.90 2.52
Met 88	A	A	2.46 -1.25	*	F	0.90 3.70
Glu 89	A	A	2.42 -1.23	*	F	0.90 3.62
Glu 90	A	A	2.53 -0.80	*	F	0.90 2.07
Tyr 91	A	T	.	1.64 -1.30	*	F	1.30 4.09
Arg 92	A	T	.	1.33 -1.13	*	F	1.30 1.66
Gly 93	A	T	.	1.23 -0.64	*	F	1.30 1.28
Arg 94	A	T	.	0.38 0.14	.	F	0.25 0.76
Ile 95	A	B	.	0.08 0.03	.	.	-0.30 0.29
Thr 96	A	B	.	0.37 0.41	.	.	-0.60 0.23
Phe 97	B	.	0.26 -0.01 *	*	.	0.64 0.40
Val 98	B	.	-0.29 -0.01 *	*	.	0.90 0.55
Ser 99	B	.	-0.40 -0.01 *	*	F	1.87 0.46
Lys 100	T	T	0.60 -0.10 *	.	F	2.61 0.86
Asp 101	T	T	0.57 -0.89 *	.	F	3.40 2.27
Ile 102	T	C	0.97 -1.10 *	.	F	2.86 1.67
Asn 103	T	T	0.97 -1.10 *	.	F	2.72 1.32
Arg 104	T	T	0.88 -0.46 *	*	F	1.93 0.80
Gly 105	T	T	-0.18 0.04 *	.	F	0.99 0.72
Ser 106	A	T	.	-1.03 0.04 *	*	F	0.25 0.27
Val 107	A	B	.	-1.05 0.29	.	.	-0.10 0.14
Ala 108	A	B	.	-1.07 0.97	.	.	-0.60 0.10
Leu 109	B	B	-1.18 1.04	.	.	-0.60 0.10
Val 110	B	B	-1.69 1.06 *	.	.	-0.60 0.22
Ile 111	B	B	-1.70 1.06	.	.	-0.60 0.16
His 112	A	B	.	-1.43 1.04	.	.	-0.60 0.28

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Asn 113	A	.	.	B	.	.	.	-0.04 0.86	.	.	.	-0.60 0.38
Val 114	A	.	.	B	.	.	.	-0.03 0.61	.	.	.	-0.60 0.94
Met 115	A	.	.	B	.	.	.	0.02 -0.07	.	*	.	0.45 1.20
Ala 116	A	.	.	B	.	.	.	1.37 -0.17	.	.	F	0.88 1.20
Gln 117	A	T	.	0.51 -0.34	.	.	F	1.56 1.60
Gln 118	T	T	0.27 -0.10	*	*	F	2.09 0.77
Asn 119	T	T	1.23 0.17	*	*	F	1.92 1.26
Gly 120	T	T	0.68 -0.33	*	*	F	2.60 1.36
Ile 121	T	.	1.22 -0.16	*	*	.	2.02 0.42
Tyr 122	T	.	0.52 0.60	*	*	.	0.84 0.41
Arg 123	T	.	0.52 0.99	*	*	.	0.55 0.56
Cys 124	.	.	.	B	.	.	.	0.52 0.96	*	*	.	-0.12 0.89
Tyr 125	.	.	.	B	.	.	.	0.52 0.27	*	*	.	-0.10 0.88
Phe 126	.	.	.	B	.	.	.	1.52 -0.06	*	*	.	0.84 0.49
Gln 127	T	.	1.47 -0.06	*	*	F	1.88 1.91
Gln 128	T	.	1.11 -0.24	*	*	F	2.22 1.55
Gly 129	T	T	1.78 -0.24	*	*	F	2.76 2.80
Arg 130	T	T	2.02 -1.03	*	*	F	3.40 2.70
Ser 131	T	C	2.13 -1.43	*	*	F	2.86 2.70
Tyr 132	A	T	.	1.24 -0.92	*	*	F	2.32 2.75
Asp 133	A	A	0.42 -0.67	*	*	F	1.42 0.99
Glu 134	A	A	0.09 0.01	*	*	.	0.04 0.61
Ala 135	A	A	-0.03 -0.37	*	*	.	0.30 0.76
Ile 136	A	A	-0.59 -0.44	*	*	.	0.30 0.37
Ileu 137	A	A	-1.20 0.33	*	*	.	-0.30 0.15
Arg 138	A	A	-1.79 0.84	*	*	.	-0.60 0.12
Ileu 139	A	A	-2.13 0.84	*	*	.	-0.60 0.17
Val 140	A	A	-2.36 0.59	*	*	.	-0.60 0.20
Val 141	A	A	-1.81 0.29	*	*	.	-0.60 0.09
Ala 142	A	A	-1.30 1.01	*	*	.	-0.60 0.10
Gly 143	T	.	-1.27 0.71	.	*	.	-0.20 0.19
Ileu 144	C	-0.77 0.67	.	.	.	0.10 0.50
Gly 145	C	-0.72 -0.14	.	.	F	0.86 0.77
Ser 146	C	-0.76 0.04	*	.	F	0.75 0.64
Iys 147	.	A	-0.17 0.30	*	*	F	0.05 0.64
Pro 148	A	A	-0.71 -0.39	*	*	F	0.45 0.95
Ileu 149	A	A	0.14 -0.13	*	*	.	0.30 0.50
Ile 150	A	A	-0.10 -0.51	*	*	.	0.60 0.50
Gln 151	A	A	0.20 -0.11	*	*	.	0.30 0.22
Ile 152	A	A	0.15 -0.04	*	*	.	0.30 0.68
Iys 153	A	A	0.37 -0.73	.	*	F	3.24 1.69
Ala 154	A	A	0.03 -1.41	*	*	F	2.58 1.63
Gln 155	A	A	1.42 -0.99	*	*	F	1.92 2.40
Glu 156	A	T	.	0.53 -1.29	*	*	F	2.65 1.94
Asp 157	T	T	1.13 -0.60	*	*	F	3.40 1.07
Gly 158	T	T	0.28 -0.19	*	*	F	2.61 0.65
Ser 159	T	T	0.87 0.10	*	*	F	1.67 0.21
Ile 160	A	A	0.20 0.10	*	*	.	0.30 0.32
Trp 161	A	A	-0.69 0.67	*	*	.	-0.26 0.17
Ileu 162	A	A	-0.99 0.93	*	*	.	-0.60 0.09
Glu 163	.	A	B	-0.99 0.93	*	*	.	-0.60 0.17
Cys 164	T	.	-1.03 0.67	*	*	.	-0.89 0.16
Ile 165	T	.	-0.43 0.29	.	.	.	0.20 0.26
Ser 166	T	T	-0.29 0.41	*	*	.	0.20 0.12
Gly 167	T	T	0.21 1.17	.	.	F	0.35 0.25
Gly 168	T	T	0.21 1.03	.	.	F	0.26 0.77
Trp 169	T	C	0.67 0.34	.	.	F	0.45 0.99
Tyr 170	T	C	0.74 0.29	.	.	F	0.60 1.65
Pro 171	T	C	0.73 0.64	.	.	F	0.30 1.29
Glu 172	T	C	0.22 0.70	.	.	F	0.30 1.77
Pro 173	T	T	0.28 0.43	*	.	F	0.35 0.84
Ileu 174	B	T	0.65 0.59	*	.	.	-0.20 0.57
Trp 175	B	T	0.92 0.16	*	*	.	0.10 0.64
Val 176	B	T	0.92 0.16	*	*	.	0.10 0.70
Trp 177	B	T	0.69 0.16	*	*	.	0.59 1.31
Arg 178	B	.	0.84 0.23	*	.	.	0.73 1.42
Asp 179	T	C	1.16 0.17	*	*	F	1.67 1.09
Pro 180	T	T	0.81 -0.47	*	*	F	2.76 3.11
Tyr 181	T	T	0.61 -0.74	*	*	F	3.40 1.18
Gly 182	T	T	0.89 -0.10	*	*	F	2.61 0.52
Glu 183	B	.	0.19 0.13	*	.	.	1.12 0.52
Val 184	A	B	.	-0.62 0.40	*	*	.	0.08 0.34
Val 185	A	B	.	-0.27 0.33	*	*	.	0.04 0.28

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Pro 186	A	A	-0.12	-0.10	*	.	.	.	0.50	0.33
Ala 187	A	A	-0.65	-0.10	*	.	.	.	0.50	0.76
Leu 188	A	A	-0.93	-0.10	*	.	.	.	0.30	0.76
Lys 189	A	A	-0.97	-0.36	*	.	.	F	0.45	0.66
Glu 190	A	A	-0.70	-0.10	0.30	0.46
Val 191	A	A	-0.49	-0.10	0.30	0.56
Ser 192	A	A	-0.49	-0.79	0.60	0.47
Ile 193	A	A	0.32	-0.39	0.30	0.87
Ala 194	A	A	-0.07	-0.82	0.30	0.61
Asp 195	A	T	.	-0.98	-0.80	0.70	0.48
Ala 196	A	T	.	-0.72	-0.20	.	.	.	F	0.85	0.53
Asp 197	A	T	.	-1.02	-0.10	.	.	.	F	0.85	0.46
Gly 198	A	T	.	-0.89	0.01	.	.	.	*	0.10	0.27
Leu 199	A	.	.	B	-0.71	0.66	.	.	.	*	-0.60	0.20
Phe 200	A	.	.	B	-1.02	0.54	.	.	.	*	-0.60	0.17
Met 201	A	.	.	B	-1.02	1.12	*	.	.	.	-0.60	0.25
Val 202	A	.	.	B	-1.09	1.20	-0.60	0.31
Thr 203	A	.	.	B	-2.42	1.16	-0.60	0.26
Thr 204	A	.	.	B	-2.50	1.06	*	*	.	.	-0.60	0.29
Ala 205	A	.	.	B	-1.69	1.13	*	*	.	.	-0.60	0.18
Val 206	A	.	.	D	-1.09	0.48	.	*	.	.	-0.60	0.24
Ile 207	A	.	.	B	-0.29	0.00	.	*	.	.	-0.30	0.28
Ile 208	A	.	.	B	-0.12	-0.49	.	*	.	.	0.53	0.55
Arg 209	A	.	.	B	-0.87	-0.23	0.91	1.25
Asp 210	.	.	.	B	.	T	.	.	.	0.03	-0.23	1.54	1.22
Lys 211	.	.	.	B	.	T	.	.	.	0.89	-0.91	.	.	F	.	2.23	3.42
Tyr 212	.	.	.	B	.	T	.	.	.	0.92	-1.20	*	.	.	.	2.30	2.80
Val 213	.	.	.	B	.	T	.	.	.	1.51	-0.56	*	*	.	.	2.07	1.25
Arg 214	.	.	.	B	.	T	.	.	.	0.73	-0.17	1.29	0.94
Asn 215	.	.	.	B	.	T	.	.	.	0.45	0.10	*	.	.	.	0.48	0.39
Val 216	.	.	.	B	.	T	.	.	.	-0.17	0.03	*	.	.	.	0.33	0.53
Ser 217	T	.	T	.	-0.22	0.83	*	.	.	.	0.50	0.20
Cys 218	T	.	T	.	0.62	0.43	*	.	.	.	0.20	0.20
Ser 219	T	.	T	.	0.21	0.43	*	.	.	.	0.50	0.42
Val 220	T	.	T	.	-0.60	0.27	*	*	.	.	0.50	0.46
Asn 221	T	.	T	.	-0.56	0.87	.	*	F	.	0.38	0.70
Asn 222	T	C	-0.60	0.69	.	.	F	.	0.15	0.43
Thr 223	.	A	.	B	.	.	.	C	.	0.07	0.15	.	.	F	.	-0.25	0.58
Leu 224	.	A	.	B	.	.	.	C	.	0.27	0.49	.	.	F	.	-0.25	0.62
Leu 225	A	A	.	B	1.27	0.89	.	.	F	.	-0.15	0.67
Gly 226	A	A	.	B	1.27	-0.31	.	.	F	.	0.45	0.93
Gln 227	A	A	0.96	-0.80	.	.	F	.	0.90	1.94
Glu 228	A	A	0.42	-1.00	.	.	F	.	0.90	2.40
Lys 229	A	A	.	B	0.33	-1.04	.	.	F	.	0.90	0.55
Glu 230	A	A	.	B	0.44	-0.79	.	.	F	.	0.90	1.03
Thr 231	A	A	.	B	-0.10	-0.40	.	.	F	.	0.45	0.52
Val 232	A	A	.	B	-0.21	0.29	-0.20	0.18
Ile 233	A	A	.	B	-0.51	0.71	-0.60	0.16
Met 234	A	.	.	B	-0.66	0.71	*	.	.	.	-0.60	0.18
Ile 235	A	T	.	.	.	-1.26	0.61	*	.	.	.	-0.20	0.35
Pro 236	A	T	.	.	.	-1.64	0.76	.	.	F	.	-0.05	0.43
Glu 237	T	.	T	.	-1.09	0.59	.	.	F	.	0.35	0.49
Ser 238	T	.	T	.	-0.41	0.13	.	.	F	.	0.80	1.09
Phe 239	C	.	-0.20	0.83	0.10	0.94
Met 240	T	C	0.29	0.10	*	.	.	.	0.30	0.55
Pro 241	T	C	0.29	0.49	*	.	.	.	0.15	0.55
Ser 242	T	.	0.00	0.53	*	.	F	.	0.35	0.58
Ala 243	T	C	-0.30	0.66	.	.	F	.	0.50	1.05
Ser 244	T	C	-0.46	0.66	.	.	F	.	0.15	0.67
Pro 245	A	T	.	-0.44	0.87	-0.20	0.27
Tyr 246	A	T	.	-1.04	0.59	-0.20	0.37
Met 247	A	T	.	-1.33	1.17	-0.20	0.23
Val 248	A	.	.	B	-1.60	1.79	-0.60	0.15
Ala 249	A	.	.	B	-2.19	1.50	-0.60	0.21
Leu 250	A	.	.	B	-2.79	1.27	-0.60	0.07
Ala 251	A	.	.	B	-2.81	1.34	-0.60	0.08
Val 252	A	.	.	B	-2.80	1.15	-0.60	0.12
Ile 253	A	.	.	B	-2.24	1.19	-0.60	0.14
Leu 254	A	.	.	B	-1.07	0.89	-0.60	0.19
Thr 255	A	.	.	B	-1.24	0.81	-0.60	0.40
Ala 256	A	.	.	B	-1.56	1.09	-0.60	0.60
Ser 257	T	C	-1.36	1.01	.	.	F	.	0.15	0.72
Pro 258	T	.	-0.77	0.97	0.20	0.27

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Trp	259	T	T	-0.56	0.87	.	.	0.20	0.49
Met	260	A	T	-0.56	0.99	.	.	-0.20	0.36
Val	261	A	.	.	.	B	.	-0.82	1.09	.	.	-0.60	0.34
Sar	262	A	.	.	.	B	.	-1.41	1.30	.	.	-0.60	0.24
Met	263	A	.	.	.	B	.	-2.02	1.07	.	.	-0.60	0.17
Thr	264	A	.	.	.	B	.	-2.31	1.34	.	.	-0.60	0.19
Val	265	A	.	.	.	B	.	-2.57	1.00	.	.	-0.60	0.24
Ile	266	A	.	.	.	B	.	-2.41	1.26	.	.	-0.60	0.11
Leu	267	A	.	.	.	B	.	-3.00	1.43	.	.	-0.60	0.06
Ala	268	A	.	.	.	B	.	-3.29	1.63	.	.	-0.60	0.06
Val	269	A	.	.	.	B	.	-3.68	1.67	.	.	-0.60	0.06
Phe	270	A	.	.	.	B	.	-3.43	1.77	.	.	-0.60	0.06
Ile	271	A	.	.	.	B	.	-3.12	1.70	.	.	-0.60	0.06
Ile	272	A	.	.	.	B	.	-3.17	1.70	.	.	-0.60	0.08
Phe	273	A	.	.	.	B	.	-2.88	1.70	.	.	-0.60	0.07
Met	274	A	.	.	.	B	.	-2.91	1.30	.	.	-0.60	0.14
Ala	275	A	.	.	.	B	.	-2.88	1.50	.	.	-0.60	0.14
Val	276	A	.	.	.	B	.	-2.66	1.13	.	.	-0.60	0.09
Ser	277	A	.	.	.	B	.	-2.65	0.97	.	.	-0.60	0.05
Ile	278	A	.	.	.	B	.	-1.91	1.04	*	.	-0.60	0.05
Cys	279	A	.	.	.	B	.	-1.27	0.54	*	.	-0.60	0.09
Cys	280	A	.	.	.	B	.	-1.49	-0.10	.	.	0.30	0.13
Ile	281	A	.	.	.	B	.	-0.63	0.20	*	.	-0.30	0.15
Iys	282	A	.	.	.	B	.	-0.72	-0.09	.	.	0.30	0.48
Iys	283	A	.	.	.	B	.	0.67	-0.66	*	.	0.90	1.90
Leu	284	A	.	.	.	B	.	1.38	-1.23	*	.	0.90	4.44
Gln	285	A	.	.	.	B	.	2.09	-1.91	*	.	0.90	4.44
Arg	286	A	.	.	.	B	.	2.02	-1.91	*	.	0.90	4.44
Gln	287	A	.	.	.	B	.	1.23	-1.23	*	.	0.90	2.78
Lys	288	A	.	.	.	B	.	0.89	-1.23	*	.	0.90	1.90
Lys	289	A	.	.	.	B	.	1.36	-1.24	*	.	0.90	1.23
Ile	290	A	.	.	.	B	.	1.36	-0.81	*	.	0.75	0.70
Leu	291	A	.	.	.	B	.	1.29	-0.81	*	.	1.15	0.61
Ser	292	A	.	.	.	B	.	1.32	-0.81	*	.	1.15	0.61
Gly	293	A	.	.	.	T	.	0.42	-0.81	*	.	1.30	1.74
Glu	294	A	.	.	.	T	.	0.39	-0.86	*	.	1.30	1.56
Iys	295	A	.	.	.	B	.	1.28	-1.54	*	.	0.90	2.02
Lys	296	A	.	.	.	B	.	2.09	-1.53	*	.	0.90	3.53
Val	297	A	.	.	.	B	.	2.39	-1.96	*	.	0.90	3.93
Glu	298	A	.	.	.	B	.	2.78	-1.96	*	.	0.90	3.06
Gln	299	A	.	.	.	B	.	2.78	-1.96	*	.	0.90	2.06
Glu	300	A	.	.	.	B	.	1.84	-1.96	*	.	0.90	7.14
Glu	301	A	.	.	.	B	.	1.21	-1.91	*	.	0.90	2.69
Lys	302	A	.	.	.	B	.	2.07	-1.41	*	.	0.90	1.62
Glu	303	A	.	.	.	B	.	2.07	-1.41	*	.	0.90	1.69
Ile	304	A	.	.	.	B	.	1.26	-1.01	*	.	0.75	1.69
Ala	305	A	.	.	.	B	.	1.26	-0.33	*	.	0.30	0.70
Gln	306	A	.	.	.	B	.	1.26	0.07	*	.	-0.30	0.70
Gln	307	A	.	.	.	B	.	1.23	0.07	*	.	0.60	1.72
Leu	308	A	.	.	.	B	.	0.40	-0.61	*	.	0.90	2.95
Gln	309	A	.	.	.	B	.	1.40	-0.43	*	.	0.60	1.40
Gln	310	A	.	.	.	B	.	1.70	-0.82	*	.	0.90	1.58
Glu	311	A	.	.	.	B	.	1.83	-0.81	*	.	0.60	0.02
Leu	312	A	.	.	.	B	.	1.92	-1.00	*	.	0.75	2.29
Arg	313	A	.	.	.	B	.	2.42	-1.40	*	.	0.75	2.59
Trp	314	A	.	.	.	B	.	2.72	-0.91	*	.	0.75	2.16
Arg	315	A	.	.	.	B	.	0.93	-0.13	*	.	0.45	2.25
Arg	316	A	.	.	.	B	.	0.88	-0.13	*	.	0.30	0.95
Thr	317	A	.	.	.	B	.	1.10	0.37	*	.	-0.15	1.33
Phe	318	A	.	.	.	B	.	0.40	-0.04	*	.	0.30	0.64
Leu	319	A	.	.	.	B	.	0.69	0.46	*	.	-0.60	0.33
His	320	C	.	-0.28	0.45	*	.	-0.45	0.38
Ala	321	A	.	.	.	B	.	-1.24	0.61	*	.	-0.60	0.33
Ala	322	A	.	.	.	B	.	-1.74	0.47	*	.	-0.60	0.29
Asp	323	A	.	.	.	B	.	-1.04	0.47	*	.	-0.60	0.18
Val	324	A	.	.	.	B	.	-0.44	-0.03	*	.	0.30	0.25
Val	325	A	.	.	.	B	.	-0.41	-0.10	*	.	0.58	0.45
Leu	326	A	.	.	.	B	.	-0.13	-0.60	*	.	1.16	0.45
Asp	327	A	.	.	.	T	.	-0.13	-0.11	*	.	1.69	0.97
Pro	328	A	.	.	.	T	.	-0.17	-0.26	*	.	2.12	1.19
Asp	329	T	.	0.48	-0.40	*	.	3.80	1.96
Thr	330	A	.	.	.	T	.	1.33	-0.66	.	.	2.42	1.82
Ala	331	A	.	.	.	T	.	1.33	-0.66	.	.	1.74	2.03

WO 02/02587

PCT/US01/20917

His 322	A	A	0.63	-0.40	.	F	1.16	1.00
Pro 333	A	A	0.03	0.39	.	F	0.13	0.60
Glu 334	A	A	-0.27	0.59	.	.	-0.60	0.49
Leu 335	A	A	0.04	0.47	*	.	-0.60	0.48
Phe 336	A	A	0.63	-0.03	*	.	0.30	0.54
Leu 337	A	A	0.70	-0.46	*	.	0.30	0.52
Ser 338	A	A	1.10	-0.46	*	F	0.94	1.24
Glu 339	A	A	0.80	-1.14	*	F	1.58	2.91
Arg 340	A	.	.	.	T	.	.	0.76	-1.54	*	F	2.32	4.57
Arg 341	A	.	.	.	T	.	.	1.57	-1.55	*	F	2.86	2.63
Arg 342	T	.	.	2.49	-1.97	*	F	3.40	2.96
Ser 343	T	T	.	2.44	-1.97	*	F	3.06	3.36
Val 344	T	.	.	2.23	-1.54	*	F	2.86	1.70
Arg 345	T	.	.	1.99	-1.11	*	F	2.86	1.34
Gly 347	T	C	.	1.88	-0.74	*	F	3.86	4.15
Pro 348	T	T	.	2.29	-0.99	*	F	3.40	3.65
Tyr 349	T	T	.	2.22	-0.99	*	F	3.06	3.65
Arg 350	T	T	.	1.97	-0.34	*	F	2.42	2.74
Gln 351	.	B	B	1.86	-0.39	*	F	1.78	2.74
Arg 352	.	B	B	2.20	-0.77	*	F	1.24	2.92
Val 353	.	.	B	B	.	C	.	2.20	-1.13	*	F	1.10	2.40
Pro 354	.	.	.	B	.	C	.	2.44	-0.70	*	F	1.44	2.14
Arg 355	C	.	2.44	-1.10	*	F	1.58	1.89
Asn 356	T	C	1.74	-1.10	*	F	2.92	4.99
Pro 357	T	C	1.63	-0.96	*	F	1.86	2.80
Glu 358	T	T	.	2.19	-1.39	*	F	3.40	2.80
Arg 359	T	T	.	2.40	-1.00	*	F	3.06	2.33
Phe 360	T	T	.	2.19	-1.00	*	F	2.72	2.61
Asp 361	T	T	.	1.52	1.00	*	F	2.38	2.33
Ser 362	T	T	.	0.86	-0.43	*	F	1.59	0.64
Gln 363	T	C	.	0.07	0.21	*	F	0.45	0.55
Pro 364	B	T	.	-0.39	0.11	.	F	0.38	0.27
Cys 365	B	T	.	0.02	0.54	.	.	-0.20	0.20
Val 366	D	.	C	0.02	1.07	.	.	-0.40	0.12
Leu 367	B	.	C	0.02	0.67	.	.	-0.40	0.14
Gly 368	B	T	.	-0.68	0.63	.	.	-0.20	0.34
Trp 369	A	-1.06	0.94	.	.	-0.40	0.40
Gln 370	A	-0.69	0.70	.	.	-0.40	0.48
Ser 371	A	-0.18	0.40	.	.	-0.40	0.66
Phe 372	A	0.68	0.40	.	.	-0.12	0.62
Ala 373	A	T	.	0.99	-0.52	.	F	1.71	0.71
Ser 374	T	T	1.03	-0.01	.	F	2.09	0.74
Gly 375	F	T	1.14	0.36	.	F	1.92	1.31
Lys 376	T	T	1.10	-0.42	*	F	2.80	2.54
His 377	C	1.80	-0.50	*	F	2.12	1.87
Tyr 378	T	C	1.69	-0.49	*	F	2.04	3.06
Arg 379	T	T	1.68	-0.13	*	F	1.96	1.33
Gly 380	T	T	2.02	0.36	*	F	1.08	1.40
Asn 381	T	T	1.69	-0.14	*	F	1.40	1.55
Phe 382	C	1.38	0.01	*	F	0.49	0.83
Thr 383	C	1.41	0.44	*	F	0.43	0.83
Glu 384	T	.	0.98	0.44	*	F	0.97	0.80
Trp 385	T	.	1.44	0.53	*	F	1.26	1.33
Gly 386	T	C	0.86	-0.26	*	F	2.40	1.81
Pro 387	T	C	1.31	-0.24	*	F	2.16	1.05
Thr 388	C	1.73	0.51	*	F	1.02	1.57
Arg 389	T	C	0.84	-0.40	*	F	1.68	3.11
Ala 390	B	T	.	1.13	-0.14	*	.	1.09	2.41
Tyr 391	B	T	.	1.18	-0.17	*	.	0.85	1.57
Arg 392	B	T	.	0.58	-0.27	.	.	0.85	1.07
His 393	B	T	.	0.89	0.42	.	.	-0.29	0.98
Asn 394	B	T	.	0.40	-0.09	*	.	0.70	0.93
Ser 395	T	.	1.07	-0.46	*	F	1.05	0.64
Leu 396	T	.	1.10	-0.06	*	F	1.54	1.50
Asp 397	T	.	0.32	-0.31	*	F	1.88	1.52
Ser 398	T	.	1.30	-0.14	*	F	2.07	0.61
Gln 399	T	C	1.37	-0.53	*	F	2.86	1.44
Pro 400	T	T	1.46	-1.21	*	F	3.40	1.73
Cys 401	T	T	1.98	-0.79	*	F	3.06	1.99
Arg 402	T	T	1.77	-0.26	*	F	2.42	1.24
Lys 403	T	.	1.77	-0.23	*	F	1.88	2.21
Pro 404	T	.	1.77	-0.27	*	F	1.54	2.03

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Trp 405	T	C	1.98	-0.44	.	.	P	1.30	2.67
Pro 406	T	C	2.42	-0.04	.	.	F	1.20	2.32
Ser 407	T	T	2.11	0.59	.	.	F	1.08	2.32
Gln 408	T	T	2.03	0.39	.	.	F	1.36	3.41
Glu 409	C	2.24	-0.03	.	.	F	1.84	3.00
Pro 410	C	2.32	-0.96	.	.	F	2.32	3.60
Pro 411	T	T	2.32	-0.01	.	.	F	2.80	3.21
His 412	T	C	2.62	0.01	.	.	F	1.72	2.87
Asn 413	C	2.62	0.01	.	.	F	1.44	2.38
Pro 414	T	C	2.73	-0.43	.	.	F	1.76	3.34
Pro 415	T	C	2.91	-0.84	.	.	F	1.78	4.81
Asn 416	T	T	2.53	-0.84	.	.	F	1.70	4.07
Glu 417	A	T	.	1.76	-0.74	.	.	F	1.30	2.66
Arg 418	A	A	0.94	-0.49	.	.	F	0.60	1.42
His 419	A	A	0.94	-0.25	.	.	.	0.30	0.73
Ala 420	A	A	0.86	-0.20	.	.	.	0.30	0.65
Leu 421	A	A	0.51	0.29	.	.	.	-0.30	0.44
Leu 422	T	C	0.48	0.61	.	.	.	0.00	0.32
Pro 423	T	C	-0.49	0.61 *	*	*	F	0.75	0.44
Ser 424	T	T	-0.34	0.76	.	.	F	0.35	0.39
Gly 425	T	C	0.24	0.97	.	.	F	0.45	0.83
His 426	A	A	1.02	-0.61	.	.	F	0.90	1.04
Val 427	A	A	1.02	-0.54	.	.	*	0.75	1.06
Arg 428	A	A	1.02	-0.24	.	.	.	0.30	0.88
Glu 429	A	A	0.73	-0.24 *	*	*	.	0.45	1.00
His 430	A	A	0.45	-0.24 *	*	*	.	0.45	1.36
Leu 431	.	A	C	-0.18	-0.39	.	.	*	0.50	0.70
Pro 432	A	E	-0.02	0.40	.	.	*	-0.60	0.35
Ala 433	A	A	-0.44	1.19	.	.	*	-0.60	0.23
Ala 434	A	A	-0.66	1.17	.	.	.	-0.60	0.39
Phe 435	.	A	.	.	.	T	.	-0.22	0.81	.	.	.	-0.20	0.29
Phe 436	.	A	.	.	.	T	.	-0.23	0.97	.	.	.	-0.20	0.56
Thr 437	T	C	-0.71	0.90	.	.	F	0.15	0.86
Pro 438	T	C	-0.33	0.90	.	.	F	0.15	1.00
Thr 439	T	C	-1.01	0.80	.	.	F	0.18	0.95
Pro 440	T	T	-0.52	0.59	.	.	F	0.35	0.35
Ala 441	T	.	-0.13	0.53	.	.	.	0.00	0.35
Leu 442	C	-0.51	0.49	.	.	.	-0.20	0.22
Cys 443	T	-1.11	0.79	.	.	.	-0.90	0.10
Pro 444	A	T	.	-1.63	1.04	.	.	.	-0.20	0.15
Ser 445	A	T	.	-2.21	1.23	.	.	.	-0.20	0.15
Phe 446	A	T	.	-1.93	1.23	.	.	.	-0.20	0.23
Leu 447	A	B	.	-1.42	1.14	.	.	*	-0.60	0.22
Ile 448	A	B	.	-1.57	1.10	.	.	.	-0.60	0.22
Leu 449	A	B	.	-1.64	1.40	.	.	.	-0.60	0.22
Thr 450	A	B	.	-2.16	1.53	.	.	.	-0.60	0.26
Ser 451	A	B	.	-1.84	1.53	.	.	.	-0.60	0.26
Leu 452	A	B	.	-1.42	1.27	.	.	.	-0.60	0.42
Trp 453	A	B	.	-1.00	1.01	.	.	.	-0.60	0.36
Leu 454	A	B	.	-0.58	0.96	.	.	.	-0.60	0.34

Table 7

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Met 1	A	.	.	R	.	.	.	-0.25	-0.41 *	.	.	.	0.30	0.88
Arg 2	.	.	B	B	.	.	.	-0.13	-0.20 *	.	.	.	0.30	0.51
Gln 3	A	.	.	B	.	.	.	-0.04	0.29	.	*	.	-0.20	0.42
Ile 4	.	.	B	B	.	.	.	0.46	0.81	.	*	.	-0.60	0.67
Val 5	.	.	B	B	.	.	.	-0.01	0.90	.	*	.	0.30	0.67
Trp 6	.	.	E	B	.	.	.	0.28	0.54	.	*	.	-0.60	0.29
Tyr 7	.	.	B	B	.	.	.	0.17	1.13	.	.	.	-0.29	0.59
Arg 8	.	.	D	B	.	.	.	-0.18	0.64 *	.	.	.	0.17	1.32
Val 9	.	.	B	B	.	.	.	0.27	0.23 *	.	.	.	0.78	1.25
Thr 10	.	.	.	T	T	.	.	0.21	-0.26 *	*	F	.	2.49	0.79
Asp 11	.	.	.	T	T	.	.	0.51	-0.53	*	F	.	3.10	0.58
Gly 12	.	.	.	T	T	.	.	0.60	0.16	*	F	.	1.39	0.55
Gly 13	.	.	.	T	T	.	.	0.19	-0.49	*	F	.	2.18	0.76
Thr 14	.	.	.	B	.	.	C	1.39	-0.57 *	*	F	.	1.57	0.79
Ile 15	.	.	B	E	.	.	.	0.81	-0.57 *	*	F	.	1.21	1.39
Lys 16	.	.	B	E	.	.	.	0.11	-0.31 *	*	F	.	0.60	1.13

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Gln 17	.	.	B	S	.	.	0.14	0.04	*	*	F	-0.15	0.66
Lys 18	.	.	B	B	.	.	-0.21	0.04	.	*	F	0.00	1.38
Ile 19	.	.	S	S	.	.	0.10	0.14	.	*	.	-0.30	0.60
Phe 20	.	.	B	G	.	.	0.40	0.14	.	*	.	-0.30	0.58
Thr 21	.	.	B	B	.	.	-0.24	0.24	.	*	.	-0.20	0.22
Phe 22	.	.	B	S	.	.	-0.54	0.66	.	.	.	-0.60	0.41
Asp 23	.	.	S	B	.	.	-1.29	0.96	.	.	.	-0.60	0.41
Ala 24	A	-0.71	0.66	.	*	.	-0.40	0.28
Met 25	A	-0.01	0.56	.	*	.	-0.40	0.64
Phe 26	A	0.06	0.17	.	*	.	-0.10	0.62
Sec 27	A	.	.	.	T	.	0.46	0.92	.	*	.	-0.20	0.96
Thr 28	A	.	.	.	T	.	0.42	0.61	.	.	.	-0.05	1.30
Asa 29	T	C	0.41	0.70	.	.	.	0.15	2.04
Tyr 30	T	C	1.01	0.52	.	.	.	0.15	1.60
Ser 31	C	1.73	0.34	.	.	.	0.25	1.81
Ile 32	A	1.79	0.06	.	.	.	0.03	1.81
Met 33	A	2.19	0.41	.	.	.	-0.25	1.81
Glu 34	A	2.33	-0.34	.	*	.	0.65	2.64
Asn 35	A	.	.	.	T	.	2.59	-0.72	.	.	.	1.15	3.08
Tyr 36	A	.	.	.	T	.	2.83	-1.23	.	*	F	1.30	7.67
Arg 37	A	.	.	.	T	.	2.92	-1.84	.	*	F	1.30	7.67
Lys 38	A	.	.	.	T	.	2.71	-1.84	.	*	F	1.30	7.97
Arg 39	A	1.86	-1.56	.	*	F	1.10	4.19
Glu 40	A	1.62	-1.67	.	*	F	1.10	1.59
Asp 41	.	.	B	B	.	.	1.86	-0.91	.	*	F	0.90	1.25
Leu 42	.	.	B	B	.	.	1.44	-0.51	.	*	.	0.75	1.10
Val 43	.	.	B	B	.	.	1.09	-0.12	.	.	.	0.30	0.85
Tyr 44	.	.	B	B	.	.	0.12	0.36	*	*	.	-0.20	0.74
Gln 45	.	.	B	B	.	.	0.23	1.00	*	*	F	-0.15	0.66
Ser 46	.	.	B	M	.	.	-0.58	0.21	*	*	F	0.00	1.75
Thr 47	.	.	B	M	.	.	0.02	0.26	*	*	F	-0.15	0.82
Val 48	.	.	B	B	.	.	0.88	0.03	*	*	F	-0.15	0.82
Arg 49	.	.	B	B	.	.	0.27	-0.17	.	*	.	0.45	1.06
Leu 50	.	.	B	B	.	.	0.32	-0.11	.	*	.	0.20	0.55
Pro 51	.	.	B	M	.	.	-0.21	-0.60	.	*	.	0.75	1.44
Glu 52	.	.	B	B	.	.	-0.20	-0.56	.	*	.	0.60	0.52
Val 53	.	.	B	B	.	.	0.66	-0.17	.	*	.	0.61	0.84
Arg 54	.	.	B	B	.	.	0.84	-0.86	.	*	.	1.23	0.81
Ile 55	.	.	B	B	.	.	1.01	-0.09	.	*	F	1.68	0.84
Ser 56	.	.	.	T	T	.	1.01	-0.46	*	*	F	2.64	1.12
Asp 57	.	.	.	T	T	.	0.77	-0.67	*	*	F	2.10	0.88
Asn 58	.	.	.	T	C	.	1.62	0.09	*	*	F	1.84	1.88
Gly 59	.	.	.	T	C	.	0.84	-0.60	*	*	T	2.43	2.56
Pro 60	.	.	.	T	.	.	1.70	-0.41	.	*	F	1.57	0.82
Tyr 61	.	.	.	T	.	.	1.14	0.09	.	.	.	0.61	0.69
Glu 62	.	.	B	B	.	.	0.80	0.23	.	*	.	-0.30	0.52
Cys 63	.	.	B	B	.	.	-0.09	0.33	.	*	.	-0.30	0.33
His 64	.	.	B	B	.	.	0.61	0.59	.	.	.	-0.60	0.15
Val 65	.	.	B	B	.	.	0.22	0.59	.	*	.	-0.60	0.13
Gly 66	.	.	B	B	.	.	0.58	0.59	*	*	.	-0.60	0.42
Ile 67	.	.	B	B	.	.	-0.01	0.01	*	*	.	-0.30	0.60
Tyr 68	.	.	A	B	.	.	0.34	0.01	*	*	.	-0.30	0.82
Asp 69	A	0.43	-0.16	*	*	F	0.60	1.20
Arg 70	A	1.34	-0.57	*	.	F	0.90	2.35
Ala 71	A	1.73	-1.26	*	.	F	0.90	2.71
Thr 72	A	1.77	-2.01	*	.	F	0.90	4.44
Arg 73	A	1.16	-1.37	*	.	T	0.90	1.68
Gln 74	A	.	.	B	.	.	0.54	-0.72	*	.	F	0.90	1.84
Lys 75	.	.	A	B	B	.	-0.36	-0.54	*	.	F	0.75	0.71
Val 76	.	.	A	B	B	.	-0.07	-0.52	.	.	.	0.60	0.36
Val 77	.	.	A	B	B	.	-0.10	-0.14	.	*	.	0.30	0.28
Leu 78	.	.	A	B	B	.	-0.21	0.29	.	*	.	-0.20	0.14
Ala 79	.	.	B	.	T	.	-1.10	0.69	*	.	.	-0.20	0.30
Ser 80	A	.	.	.	T	.	-1.84	0.73	*	.	F	-0.05	0.29
Gly 81	A	.	.	.	T	.	-1.80	0.87	.	*	F	-0.05	0.30
Asn 82	A	.	.	.	T	.	-0.94	0.87	.	*	.	-0.20	0.24
Ile 83	.	.	B	B	.	.	-0.59	0.77	.	*	.	-0.60	0.22
Phe 84	.	.	B	B	.	.	-1.00	1.03	.	*	.	-0.60	0.22
Leu 85	.	.	B	B	.	.	-1.29	1.21	.	*	.	-0.60	0.14
Asn 86	.	.	B	B	.	.	-1.16	1.21	*	*	.	-0.60	0.20
Val 87	.	.	B	B	.	.	-1.27	1.06	.	*	.	-0.60	0.35
Met 88	.	.	B	B	.	.	-0.79	0.70	.	.	.	-0.60	0.65
Ala 89	.	.	B	B	.	C	-0.29	0.50	.	.	.	-0.40	0.59

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Phe 90	T	C	-0.47	0.48	.	F	F	3.30	1.06
Phe 91	T	C	-0.47	0.81	.	F	F	0.18	0.76
Thr 92	T	.	-0.47	-0.09	.	F	F	2.00	1.29
Ser 93	A	.	.	.	T	.	-0.72	0.66	.	F	F	0.25	0.62
Ile 94	.	A	B	B	.	.	-0.72	0.27	.	.	.	-0.30	0.30
Glu 95	.	A	B	B	.	.	-1.10	0.34	.	.	.	-0.30	0.21
Val 96	.	A	B	B	.	.	-0.69	0.36	.	.	.	-0.20	0.16
Val 97	.	A	B	B	.	.	-0.89	-0.03	.	.	.	0.30	0.37
Ala 98	.	A	B	B	.	.	-0.80	-0.23	.	.	.	0.30	0.31
Ala 99	.	A	B	.	.	.	-0.50	0.20	.	.	.	-0.20	0.65
Asp 100	A	-0.71	0.66	.	F	F	-0.15	0.83
Thr 101	.	A	.	.	.	C	-0.56	-0.16	.	F	F	3.80	1.35
Phe 102	C	0.00	0.13	*	F	F	0.40	1.16
Ala 103	C	0.70	0.01	*	F	F	0.28	0.93
Pro 104	C	1.04	0.01	*	F	F	0.40	1.26
Phe 105	.	.	D	.	.	.	1.04	0.28	.	.	.	0.05	1.28
Ser 106	.	.	B	.	T	.	0.77	0.26	*	.	.	6.34	2.19
Arg 107	.	.	B	.	T	.	0.98	0.26	.	.	.	0.43	1.43
Tyr 108	.	.	B	.	T	.	1.57	0.23	*	.	.	0.52	2.86
Gln 109	T	.	1.03	-0.16	*	.	.	1.61	3.43
Ala 110	T	.	1.27	0.24	*	.	.	0.90	1.82
Gln 111	.	.	B	F	.	.	0.96	0.73	*	*	.	0.31	1.40
Asn 112	.	.	B	F	.	.	-0.01	0.66	*	*	.	0.07	0.66
Phe 113	.	.	B	B	.	.	-0.43	0.30	.	.	.	-0.43	0.49
Thr 114	.	.	B	B	.	.	-1.53	0.97	.	.	.	-0.51	0.15
Leu 115	.	.	B	B	.	.	-1.59	1.26	.	.	.	-0.60	0.07
Val 116	.	.	B	B	.	.	-1.89	1.50	.	.	.	-0.60	0.06
Cys 117	.	.	B	B	.	.	-2.23	1.10	.	.	.	-0.60	0.05
Ile 118	.	.	B	B	.	.	-1.08	1.04	.	.	.	-0.39	0.06
Val 119	.	.	B	B	.	T	-1.52	0.79	.	.	.	0.22	0.08
Ser 120	T	T	-0.92	0.14	*	F	F	1.28	0.32
Gly 121	F	T	-0.66	0.00	.	F	F	2.09	0.69
Gly 122	T	C	-0.20	-0.19	.	F	F	2.10	0.94
Lys 123	C	0.09	-0.40	*	F	F	1.84	1.08
Pro 124	C	0.09	-0.17	.	F	F	1.63	1.08
Ala 125	0.14	0.04	.	F	F	0.47	0.82
Pro 126	-0.21	0.37	*	.	.	0.11	0.64
Met 127	.	.	A	H	.	.	0.18	1.18	.	.	.	-0.60	0.36
Val 128	.	.	A	H	.	.	0.74	0.73	.	.	.	-0.60	0.11
Tyr 129	.	.	A	H	.	.	0.46	0.29	.	.	.	0.04	0.39
Phe 130	.	.	A	H	.	.	0.70	-0.20	*	.	.	1.13	1.52
Igs 131	.	.	B	.	T	.	0.91	-0.39	*	.	.	1.07	2.01
Arg 132	T	F	1.30	-1.03	*	F	F	3.06	2.23
Asp 133	T	T	1.27	-1.36	*	F	F	3.40	3.97
Gly 134	T	C	1.51	-1.46	*	F	F	2.66	1.39
Glu 135	C	1.62	-1.46	*	F	F	2.32	1.19
Pro 136	C	0.72	-0.56	*	F	F	1.83	0.72
Ile 137	.	.	B	.	.	.	0.40	-0.21	*	F	F	0.93	0.54
Asp 138	.	.	B	.	.	.	-0.41	-0.32	.	.	.	0.50	0.48
Ala 139	.	.	B	.	.	.	-0.27	0.37	.	.	.	-0.10	0.26
Val 140	.	.	B	.	.	.	-0.37	0.33	.	.	.	-0.10	0.45
Pro 141	.	.	B	.	.	.	-0.37	-0.36	.	.	.	0.50	0.51
Leu 142	.	.	B	.	.	.	0.31	0.07	.	.	.	0.14	0.98
Ser 143	.	.	B	.	.	.	-0.28	0.00	.	F	F	1.28	1.52
Glu 144	.	.	B	.	.	.	-0.28	-0.14	.	F	F	1.52	1.06
Pro 145	C	0.28	-0.07	.	F	F	1.96	1.38
Pro 146	0.19	-0.37	*	F	F	2.40	1.30
Ala 147	T	.	0.66	-0.37	.	F	F	2.16	1.00
Ala 148	C	0.74	0.05	.	F	F	0.97	0.64
Ser 149	T	.	-0.07	0.01	.	F	F	0.93	0.64
Ser 150	.	.	B	.	T	.	0.24	0.31	.	F	F	0.69	0.52
Gly 151	.	.	B	.	T	.	0.36	0.21	.	F	F	0.51	0.50
Pro 152	T	C	0.64	-0.29	.	F	F	1.72	1.12
Leu 153	C	1.34	-0.29	.	F	F	1.78	1.12
Gln 154	.	.	B	.	.	.	1.43	-0.67	*	F	F	2.14	2.23
Asp 155	.	.	B	.	.	.	1.02	-0.67	*	F	F	3.80	2.22
Ser 156	.	.	B	.	T	.	1.49	-0.31	*	F	F	2.04	2.12
Arg 157	.	.	B	.	T	.	1.40	-1.00	*	F	F	2.08	2.84
Pro 158	.	.	B	.	T	.	1.40	-1.01	*	F	F	1.82	2.11
Phe 159	.	.	A	.	T	.	0.59	-0.33	*	F	F	1.26	1.30
Arg 160	.	.	A	.	.	.	0.56	-0.03	*	F	F	0.55	0.55
Ser 161	.	.	A	B	.	.	0.97	0.47	*	.	.	-0.60	0.48
Leu 162	.	.	A	B	.	.	0.86	0.04	*	.	.	-0.15	1.09

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Leu 152	.	A	B	.	.	0.26	-0.74 *	*	.	0.50	0.23
His 164	A	A	.	.	.	0.96	-0.06 *	.	.	0.20	0.87
Arg 165	A	A	.	.	.	0.64	-0.44 *	.	F	0.50	1.16
Asp 166	A	A	.	.	.	0.03	-1.13 *	.	F	0.90	2.35
Leu 167	A	A	.	.	.	1.69	-1.32 *	.	F	0.90	2.49
Asp 168	A	.	.	.	T	1.90	-1.83 *	.	F	1.30	2.54
Asp 169	A	.	.	.	T	1.93	-1.21 .	.	F	1.30	1.53
Thr 170	A	.	.	.	T	1.87	-0.81 .	.	F	1.30	3.16
Lys 171	A	.	.	.	T	1.57	-1.50 .	.	F	1.30	3.79
Met 172	A	A	.	.	.	1.57	-1.11 .	.	F	0.90	3.04
Gln 175	A	R	.	.	.	1.27	-0.42 .	*	F	0.64	1.74
Lys 174	A	A	.	.	.	0.46	-0.52 *	*	F	0.90	1.16
Ser 175	A	A	.	.	.	-0.04	0.16 *	.	F	-0.15	0.97
Leu 176	.	A	B	.	.	-0.09	0.23 *	.	.	-0.30	0.86
Ser 177	.	A	B	.	.	-0.08	-0.17 .	.	.	0.36	0.39
Leu 178	.	A	B	.	.	-0.08	0.33 .	.	.	-0.30	0.29
Leu 179	A	A	.	.	.	-0.12	-0.06 *	*	.	0.30	0.61
Asp 180	A	A	.	.	.	0.29	-0.34 *	*	.	0.64	0.73
Ala 181	A	A	.	.	.	0.76	-0.79 *	*	F	1.58	1.74
Glu 182	A	A	.	.	.	0.71	-0.99 *	.	F	1.32	2.09
Asn 183	T	1.62	-1.24 *	.	F	3.06	1.24
Asp 184	T	2.33	-1.24 *	*	F	3.40	2.40
Gly 185	T	1.99	-1.31 *	.	F	3.06	2.14
Gly 186	T	2.27	-0.56 *	.	F	2.72	2.09
Asp 187	T	2.27	-0.47 *	.	F	1.58	1.54
Pro 188	T	2.38	-0.47 *	.	F	1.54	2.69
Tyr 189	.	.	E	.	T	2.06	-0.90 *	.	F	1.64	5.23
Thr 190	.	.	D	.	T	2.20	-0.90 *	.	F	1.98	4.20
Gln 191	.	.	E	.	T	2.56	-0.51 *	.	F	2.12	3.64
Arg 192	.	.	R	.	T	2.10	-0.94 *	.	F	2.65	4.85
Pro 193	T	1.50	-1.27 *	.	F	3.40	3.12
Ser 194	T	1.43	-1.07 *	.	F	3.06	1.49
Asp 195	T	1.53	-0.93 *	.	F	2.92	1.10
Gly 196	T	1.53	-0.16 *	.	F	2.16	1.10
Leu 197	T	1.21	-0.59 *	.	F	2.24	1.37
Thr 198	T	1.42	-0.54 *	*	F	2.10	1.08
Pro 199	T	0.83	-0.14 *	.	F	2.00	1.76
Asp 200	T	-0.09	0.11 *	*	F	1.40	1.49
Pro 201	.	.	B	.	T	-0.56	0.11 .	*	F	0.85	0.85
Asn 202	.	.	B	.	T	0.26	0.21 .	*	.	0.50	0.45
Ile 203	.	.	R	.	T	0.36	0.29 .	*	.	0.30	0.47
Leu 204	.	.	B	.	.	0.26	0.71 .	*	.	-0.10	0.47
Leu 205	.	.	R	.	.	-0.06	0.77 .	*	.	-0.10	0.42
Gln 206	.	.	B	.	T	0.16	0.86 .	*	F	-0.05	0.87
Pro 207	.	.	B	.	T	0.16	0.17 .	*	F	0.66	1.83
Thr 208	T	0.16	-0.11 .	.	F	1.72	3.56
Thr 209	T	0.76	-0.31 *	.	F	1.94	1.44
Gln 210	T	1.37	-0.85 *	.	F	2.04	1.44
Asn 211	T	1.26	-0.31 *	.	F	2.60	1.73
Ile 212	.	.	B	.	.	0.51	-0.51 *	.	F	1.94	1.73
Pro 213	.	.	B	.	.	0.07	-0.36 *	.	F	1.23	0.74
Glu 214	.	.	S	.	B	0.08	0.29 *	.	F	0.37	0.34
Thr 215	.	.	R	.	.	0.19	0.27 .	.	F	0.11	0.65
Val 216	.	.	D	.	B	0.19	-0.41 *	.	F	0.45	0.82
Val 217	.	.	F	.	D	0.38	-0.84 .	.	.	0.60	0.83
Ser 218	.	.	B	.	.	0.38	-0.06 *	.	.	0.50	0.50
Arg 219	.	.	B	.	.	0.49	-0.11 *	*	F	0.80	1.04
Glu 220	A	0.51	-0.76 *	.	F	1.10	2.72
Phe 221	A	.	.	.	T	0.51	-0.49 *	.	F	1.00	2.14
Pro 222	A	.	.	.	T	1.43	-0.23 *	.	F	0.85	0.81
Asp 223	T	1.32	0.37 *	.	.	0.50	0.64
Trp 224	T	0.82	0.65 *	.	.	0.20	0.99
Val 225	.	.	B	.	.	0.62	0.29 *	.	.	-0.10	0.65
His 226	.	.	B	.	.	1.12	-0.06 *	.	.	0.50	0.57
Ser 227	.	.	B	.	.	1.02	0.37 *	*	.	-0.10	0.84
Ala 228	T	0.67	-0.06 *	.	F	1.00	1.62
Glu 229	T	0.26	0.66 .	.	F	0.40	2.88
Pro 230	T	0.20	0.34 .	*	F	0.80	1.21
Met 231	T	0.44	0.64 .	*	F	0.35	0.89
Tyr 232	A	.	.	.	T	0.73	0.15 .	*	.	0.42	1.12
Pro 233	.	.	D	.	.	1.00	0.64 *	.	.	-0.26	0.99
Leu 234	.	.	B	.	R	1.13	0.60 *	.	.	-0.09	0.92
Asp 235	.	.	B	.	B	1.01	0.11 *	.	.	0.53	1.15

WO 02/02587

PCT/US01/20917

His 236	.	.	B	.	.	T	.	1.11	-0.16 *	.	.	1.70	1.91
Ser 237	T	.	.	1.06	-0.52 *	.	F	2.38	2.68
Arg 238	C	.	1.46	-0.81 *	.	F	2.01	3.45
Thr 239	T	.	2.27	-0.43 *	.	F	1.54	2.41
Pro 240	C	.	1.81	-0.92 *	.	F	1.74	3.01
Ser 241	T	.	.	1.33	-0.89 *	.	F	2.34	1.52
Ser 242	T	.	.	0.98	-0.40 *	.	F	2.01	1.52
Asp 243	T	.	.	0.87	-0.24 *	.	F	2.12	0.73
Gly 244	C	.	0.32	-0.67 *	.	F	2.70	0.94
Thr 245	.	.	B	0.64	-0.43 *	.	F	1.53	0.52
Val 246	.	.	B	0.35	-0.90 *	.	F	1.56	0.61
Glu 247	.	.	B	B	.	.	.	-0.16	-0.30 *	.	.	0.84	0.62
Val 248	.	.	B	B	.	.	.	-0.97	-0.04 *	.	.	0.57	0.36
Arg 249	.	.	B	B	.	.	.	-0.93	0.16 *	.	.	-0.20	0.40
Ala 250	.	.	B	B	.	.	.	-0.52	0.90 *	.	.	0.30	0.33
Leu 251	A	.	B	-0.37	0.92 *	.	.	-0.60	0.47
Leu 252	A	.	B	-1.18	0.76 *	.	.	-0.60	0.34
Thr 252	.	.	B	T	.	.	.	-0.32	1.44 *	.	.	-0.20	0.28
Trp 254	.	.	B	D	.	.	.	-0.64	1.34 *	.	.	-0.60	0.55
Thr 255	.	.	B	B	.	.	.	-0.96	1.09 *	.	.	-0.45	1.03
Leu 256	.	.	B	.	.	C	.	-0.15	0.80 *	.	.	0.05	1.24
Asn 257	T	.	.	0.68	1.00 *	.	.	0.60	0.02
Pro 258	T	.	.	0.99	0.99 *	.	F	1.25	0.95
Glu 259	T	C	.	1.28	0.90 *	.	F	2.40	1.86
Ile 260	T	.	.	1.90	-0.59 *	.	F	3.00	2.00
Asp 261	A	A	1.00	-0.59 *	.	F	2.10	1.21
Asn 262	A	A	0.30	-0.23 *	.	F	1.35	0.62
Glu 263	A	A	0.21	0.96 *	.	F	0.45	0.77
Ala 264	A	A	-0.46	0.24 *	.	.	0.60	0.62
Ileu 265	A	A	0.45	0.33 *	.	.	-0.30	0.22
Phe 266	A	A	-0.42	-0.07 *	.	.	0.30	0.21
Ser 267	A	A	-0.38	0.57 *	.	.	-0.60	0.15
Cys 268	A	A	-0.42	0.97 *	.	.	-0.20	0.37
Glu 269	A	A	-0.03	0.11 *	.	.	0.30	0.58
Val 270	A	A	0.19	-0.47 *	.	.	0.30	0.66
Lys 271	A	A	0.08	-0.36 *	.	.	0.45	1.25
His 272	A	A	0.08	-0.24 *	.	.	0.30	0.60
Pro 273	A	A	0.34	0.14 *	.	.	-0.15	1.08
Ala 274	A	A	-0.07	0.11 *	.	.	-0.20	0.53
Leu 275	A	A	0.19	0.54 *	.	.	-0.60	0.61
Ser 276	A	A	0.14	0.66 *	.	.	-0.60	0.39
Met 277	A	A	-0.41	0.83 *	.	.	-0.60	0.66
Pro 278	A	A	-0.20	0.63 *	.	.	-0.68	0.81
Met 279	A	B	-0.47	-0.06 *	.	.	0.45	1.06
Gln 280	A	A	0.02	0.20 *	.	.	-0.30	0.79
Ala 281	A	.	B	-0.48	0.07 *	.	.	-0.30	0.74
Glu 282	A	.	B	-0.73	0.31 *	.	.	-0.30	0.61
Val 283	A	.	B	-1.11	0.36 *	.	.	-0.20	0.26
Thr 284	A	.	B	-0.72	0.56 *	.	.	-0.60	0.26
Leu 285	A	.	B	-0.68	0.39 *	.	.	-0.30	0.23
Val 286	A	.	B	-0.43	0.59 *	.	.	0.00	0.63
Ala 287	A	.	.	.	T	.	.	-0.69	0.17 *	.	.	0.70	0.42
Pro 288	A	.	.	.	T	.	.	0.26	0.11 *	.	F	1.15	0.81
Lys 289	T	T	.	-0.32	-0.57 *	.	F	2.90	2.19
Gly 290	T	C	.	-0.37	-0.53 *	.	F	3.00	1.60
Pro 291	.	.	B	E	.	.	.	-0.11	-0.39 *	.	F	1.65	0.73
Lys 292	.	.	B	B	.	.	.	0.17	-0.20 *	.	F	1.38	0.94
Ile 293	.	.	B	B	.	.	.	0.17	0.29 *	.	.	0.30	0.53
Val 294	.	.	B	D	.	.	.	-0.18	0.29 *	.	.	0.00	0.53
Met 295	.	.	B	E	.	.	.	0.28	0.24 *	.	.	-0.04	0.35
Thr 296	.	.	K	.	.	T	.	-0.10	0.24 *	.	.	0.77	0.99
Pro 297	.	.	S	.	.	T	.	-0.03	0.06 *	.	F	1.18	1.34
Ser 298	.	.	S	.	.	T	.	0.90	-0.19 *	.	F	2.34	2.66
Arg 299	.	.	B	.	.	T	.	0.51	-0.56 *	.	F	2.60	1.37
Ala 300	.	.	B	B	.	.	.	1.11	-0.61 *	.	F	1.79	0.87
Arg 301	.	.	B	B	.	.	.	1.11	-1.04 *	.	F	1.68	1.09
Val 302	.	.	B	B	.	.	.	0.47	-0.36 *	.	.	1.12	0.80
Gly 303	.	.	B	B	.	.	.	0.88	-0.30 *	.	F	0.71	0.59
Asp 304	.	.	B	B	.	.	.	-0.12	-0.80 *	.	F	0.75	0.88
Thr 305	.	.	D	B	.	.	.	-0.34	-0.11 *	.	F	0.45	0.56
Val 306	.	.	E	B	.	.	.	-1.31	-0.07 *	.	.	0.36	0.46
Arg 307	.	.	E	B	.	.	.	-0.49	0.14 *	.	.	-0.30	0.23
Ile 308	.	.	B	B	.	.	.	-0.49	0.64 *	.	.	-0.60	0.19

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Leu 309	.	.	B	B	.	.	-1.19	0.59	*	*	.	-0.60	0.26	
Val 310	.	.	B	B	.	.	-0.88	0.72	*	*	.	-0.60	0.11	
His 311	.	.	B	.	.	T	-0.02	1.13	*	*	.	-0.20	0.28	
Gly 312	T	C	-0.23	0.84	*	*	.	0.00	0.55
Phe 313	T	C	-0.20	0.16	.	.	.	0.48	1.29
Gln 314	T	C	0.01	0.16	.	.	F	0.69	0.70
Asn 315	T	C	0.66	0.44	.	.	F	0.43	0.62
Glu 316	T	C	0.69	0.44	.	.	F	0.82	1.10
Val 317	T	C	0.82	-0.34	.	.	F	1.96	1.10
Phe 318	T	C	0.92	-0.31	.	.	F	2.90	1.06
Pro 319	T	C	0.22	-0.10	.	.	F	2.01	0.60
Glu 320	T	C	-0.09	0.69	.	.	F	0.87	0.70
Pro 321	A	T	.	-0.28	0.53	.	.	F	0.58	1.17
Met 322	A	.	B	0.17	0.66	*	.	.	-0.36	0.80
Phe 323	A	.	B	0.90	0.71	.	.	.	-0.60	0.67
Thr 324	A	.	B	0.33	0.71	*	.	.	-0.60	0.94
Trp 325	.	.	B	B	.	.	.	-0.01	0.93	*	*	.	-0.39	0.63
Thr 326	.	.	B	B	.	.	.	-0.10	0.74	*	*	.	-0.18	0.72
Arg 327	.	.	D	B	.	.	.	0.61	0.34	*	*	F	0.58	0.67
Val 328	.	.	B	.	.	T	.	0.50	-0.14	*	*	F	1.84	1.25
Gly 329	T	C	0.00	-0.87	*	*	F	2.10	0.71
Ser 330	.	.	B	.	.	T	.	0.29	-0.17	*	*	F	1.69	0.30
Arg 331	.	.	B	.	.	T	.	0.26	-0.17	*	*	F	1.48	0.68
Leu 332	.	.	B	.	.	T	.	-0.26	-0.39	*	*	F	1.27	0.88
Leu 333	.	.	B	.	.	T	.	0.21	-0.43	*	*	F	1.26	0.68
Asp 334	T	C	0.46	-0.31	*	*	F	1.05	0.35
Gly 335	T	C	0.06	-0.31	*	*	F	1.05	0.73
Ser 336	A	T	.	-0.06	-0.21	*	*	F	0.85	0.77
Ala 337	A	0.41	-0.90	*	*	F	0.95	0.77
Glu 338	A	1.27	-0.47	*	*	F	0.69	0.77
Phe 339	A	T	.	1.27	-0.90	*	*	F	1.30	1.15
Asp 340	A	T	.	0.80	-1.29	*	*	F	1.30	1.97
Gly 341	A	T	.	0.24	-1.10	*	*	F	1.15	0.94
Lys 342	A	T	.	0.02	-0.46	*	*	F	0.65	0.80
Glu 343	A	.	A	.	.	T	.	0.02	-0.86	*	*	F	0.78	0.40
Leu 344	A	.	A	0.83	-0.56	*	*	.	0.60	0.69
Val 345	A	.	A	-0.02	-0.89	.	.	.	0.60	0.68
Leu 346	A	.	A	0.11	-0.34	.	.	.	0.30	0.39
Glu 347	A	.	A	-0.32	0.99	*	*	.	-0.10	0.95
Arg 348	A	.	A	-0.52	-0.10	*	*	.	0.30	0.74
Val 349	A	.	A	-0.82	-0.74	*	*	.	0.75	1.85
Pro 350	A	.	A	0.33	-0.74	*	*	.	0.60	0.74
Phe 351	A	0.80	-0.34	*	*	.	0.50	0.61
Gln 352	A	0.50	0.99	*	*	.	-0.10	0.81
Leu 353	A	T	.	-0.21	-0.17	*	*	F	0.85	0.71
Asu 354	T	T	0.40	0.01	*	*	F	0.65	0.69
Gly 355	T	T	0.72	0.27	*	*	F	0.60	0.63
Ser 356	T	T	0.54	0.27	*	*	.	0.55	1.48
Met 357	.	.	B	0.33	0.16	*	*	.	-0.10	0.49
Tyr 358	.	.	B	0.56	0.24	*	*	.	-0.20	0.72
Arg 359	.	.	B	0.56	0.31	.	.	.	-0.10	0.54
Cys 360	.	.	B	0.90	0.33	*	*	.	-0.10	0.95
Thr 361	.	.	B	0.99	0.11	*	*	.	-0.10	0.98
Ala 362	.	.	B	0.78	-0.21	*	*	F	0.65	0.77
Gln 363	.	.	B	0.68	0.47	*	*	F	-0.10	1.19
Asn 364	T	C	0.27	0.33	.	.	F	0.48	0.81
Pro 365	T	C	0.62	0.23	.	.	F	0.60	1.06
Leu 366	T	T	0.93	0.21	.	.	F	0.65	0.90
Gly 367	T	T	1.21	-0.19	.	.	F	1.57	0.93
Ser 368	T	C	1.18	-0.10	.	.	F	3.57	0.87
Thr 369	.	.	B	.	.	T	.	0.87	-0.05	*	*	F	1.78	1.44
Asp 370	.	.	B	.	.	T	.	1.19	-0.25	*	*	F	2.04	1.20
Thr 371	.	.	B	.	.	T	.	1.13	-0.86	*	*	F	2.60	3.07
His 372	.	.	B	B	.	.	.	0.64	-0.36	*	*	F	1.64	1.75
Thr 373	.	.	B	B	.	.	.	0.09	-0.16	*	*	F	1.23	0.74
Arg 374	.	.	B	B	.	.	.	-0.10	0.49	.	.	.	-0.08	0.36
Leu 375	.	.	B	B	.	.	.	-0.10	0.79	*	*	.	-0.34	0.24
Ile 376	.	.	B	B	.	.	.	0.01	0.29	.	.	.	-0.30	0.29
Val 377	.	.	B	B	.	.	.	-0.17	0.20	.	.	.	-0.30	0.24
Phe 378	.	.	B	B	.	.	.	0.14	0.63	.	.	.	-0.60	0.44
Glu 379	.	.	B	B	.	.	.	-0.86	0.34	.	.	F	0.00	1.02
Asn 380	T	C	-0.26	0.34	*	*	F	0.35	0.96
Pro 381	T	.	0.74	0.13	*	*	F	1.14	1.78

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Asn 382	T	C	1.26	-0.55	.	F	2.13	1.95
Ile 383	T	C	1.69	-0.23	.	F	2.22	1.70
Prc 384	T	C	1.64	-0.14	*	F	2.56	1.12
Arg 385	T	T	1.64	-0.57	*	F	3.40	1.20
Gly 386	.	.	B	.	T	.	1.56	-0.97	*	F	2.66	2.87
Thr 387	.	.	B	.	T	.	1.56	-1.27	*	F	2.63	2.49
Glu 388	.	.	B	.	T	.	2.10	-1.20	*	F	2.40	2.04
Asp 389	T	T	3.01	-0.07	*	F	2.97	3.04
Sex 390	T	T	1.01	-0.01	*	F	2.24	1.89
Asn 391	T	T	1.01	-0.71	.	F	2.10	0.77
Gly 392	T	T	1.11	-0.25	.	F	2.49	0.45
Ser 393	T	.	0.80	0.14	.	F	1.38	0.52
Ile 394	C	0.46	0.24	.	F	0.87	0.47
Gly 395	T	C	0.17	0.27	*	F	0.76	0.47
Prc 396	T	C	0.28	0.34	*	F	0.45	0.25
Thr 397	.	.	B	.	T	.	-0.15	-0.04	*	F	0.95	0.99
Gly 398	.	.	B	.	T	.	-0.20	-0.04	*	F	0.85	0.83
Ala 399	.	.	B	B	.	.	-0.12	0.01	*	F	-0.15	0.77
Arg 400	.	.	B	B	.	.	-0.63	0.27	*	F	-0.30	0.44
Leu 401	.	.	B	B	.	.	-1.23	0.42	*	F	-0.60	0.23
Thr 402	.	.	B	B	.	.	-1.51	0.69	*	F	-0.60	0.27
Leu 403	.	.	B	B	.	.	-1.98	0.69	*	F	-0.60	0.14
Val 404	.	.	B	B	.	.	-1.70	1.37	*	F	-0.60	0.14
Leu 405	A	.	B	B	.	.	-2.67	1.37	*	F	-0.60	0.14
Ala 406	A	.	B	B	.	.	-2.74	1.33	*	F	-0.60	0.12
Leu 407	A	.	B	B	.	.	-3.24	1.33	*	F	-0.60	0.12
Thr 408	A	.	B	B	.	.	-2.43	1.27	*	F	-0.60	0.12
Val 409	A	.	B	B	.	.	-2.39	0.69	*	F	-0.60	0.20
Ile 410	A	.	B	B	.	.	-1.89	0.27	*	F	-0.60	0.20
Leu 411	A	.	B	B	.	.	-1.69	0.67	*	F	-0.60	0.20
Glu 412	A	.	B	B	.	.	-1.27	0.61	*	F	-0.60	0.35
Leu 413	A	.	B	B	.	.	-1.34	0.40	*	F	-0.20	0.64
Thr 414	A	.	B	B	.	.	-0.88	0.14	*	F	-0.20	0.89

Table 8

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Met 1	A	A	-0.04	-0.17	.	.	.	0.45	1.00
Glu 2	A	A	-0.24	-0.10	.	.	.	0.30	0.79
Prc 3	A	A	-0.67	-0.03	.	.	.	0.30	0.63
Ala 4	A	A	-0.21	0.23	.	*	.	-0.30	0.52
Ala 5	A	A	-0.62	0.11	.	*	.	-0.30	0.41
Ala 6	A	A	-0.23	0.30	.	*	.	-0.60	0.23
Leu 7	A	A	-0.21	0.26	*	.	.	-0.60	0.30
His 8	A	A	-0.22	0.26	*	.	.	-0.30	0.89
Phe 9	A	A	-0.73	0.29	*	.	.	-0.30	0.80
Ser 10	A	A	0.00	0.29	*	.	.	-0.15	1.11
Arg 11	A	T	.	-0.14	-0.01	*	.	F	1.00	1.05
Prc 12	A	T	.	-0.14	0.17	*	.	F	0.40	1.01
Ala 13	A	T	.	-0.92	0.37	*	.	F	0.25	0.64
Sex 14	A	T	.	-1.03	0.37	*	.	F	0.10	0.27
Leu 15	A	.	.	B	.	.	.	-1.54	1.06	*	.	.	-0.60	0.14
Leu 16	A	.	.	B	.	.	.	-1.95	1.21	*	.	.	-0.60	0.12
Leu 17	A	.	.	B	.	.	.	-2.56	1.20	*	.	.	-0.60	0.12
Leu 18	A	.	.	B	.	.	.	-2.63	1.50	*	.	.	-0.60	0.12
Leu 19	A	.	.	B	.	.	.	-2.82	1.39	*	.	.	-0.60	0.08
Ser 20	A	.	.	B	.	.	.	-2.52	1.20	*	.	.	-0.60	0.05
Leu 21	A	.	.	B	.	.	.	-2.07	1.20	*	.	.	-0.60	0.05
Cys 22	A	.	.	B	.	.	.	-2.46	1.16	*	.	.	-0.60	0.08
Ala 23	A	.	.	B	.	.	.	-2.23	0.85	*	.	.	-0.60	0.08
Leu 24	A	.	.	B	.	.	.	-1.43	0.27	*	.	.	-0.60	0.10
Val 25	A	.	.	B	.	.	.	-1.98	0.69	*	.	.	-0.60	0.33
Sex 26	A	.	.	B	.	.	.	-1.48	0.76	*	.	.	-0.60	0.24
Ala 27	.	.	B	B	.	.	.	-1.67	0.74	*	.	.	-0.60	0.43
Gln 28	.	.	B	B	.	.	.	-1.93	0.70	*	.	.	-0.60	0.43
Val 29	.	.	B	B	.	.	.	-1.47	0.70	*	.	.	-0.60	0.34
Thr 30	.	.	B	B	.	.	.	-0.57	0.74	*	.	.	-0.60	0.23
Val 31	.	.	B	B	.	.	.	-0.83	0.67	*	.	.	-0.60	0.21
Val 32	.	.	B	B	.	.	.	-0.24	0.76	*	.	.	-0.60	0.40
Gly 33	.	.	B	.	.	T	.	-0.46	0.11	.	.	F	0.35	0.47

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Pro 34	T	C	-0.49	0.05	.	.	F	0.45	0.97
Thr 35	T	C	-0.99	0.10	.	.	F	0.45	0.92
Asp 36	T	C	-0.72	0.14	.	.	F	0.45	0.76
Pro 37	.	.	B	B	.	.	-0.47	0.21	.	.	F	-0.15	0.80
Ile 38	.	.	B	B	.	.	-0.98	0.40	.	.	.	-0.30	0.34
Ileu 39	.	.	B	B	.	.	-1.11	0.56	*	.	.	-0.50	0.16
Ala 40	.	.	B	B	.	.	-0.80	0.59	*	.	.	-0.60	0.10
Met 41	.	.	B	B	.	.	-0.80	0.56	*	.	.	-0.60	0.24
Val 52	.	.	B	B	.	.	-0.90	0.27	.	.	.	-0.30	0.47
Gly 42	A	.	.	.	T	.	-0.32	0.07	.	.	F	0.26	0.67
Glu 44	A	.	.	.	T	.	-0.32	0.06	*	.	F	0.25	0.96
Asn 45	T	T	0.38	0.13	*	.	F	0.80	1.09
Thr 46	T	T	0.31	-0.51	.	.	F	1.70	2.15
Thr 47	A	.	.	B	.	.	0.50	-0.37	.	.	F	0.45	0.66
Met 48	.	.	B	B	.	.	0.03	0.20	*	.	.	-0.30	0.22
Arg 49	.	.	B	B	.	.	-0.27	0.49	*	.	.	-0.60	0.13
Cys 50	.	.	B	B	.	.	-0.48	0.39	*	.	.	0.00	0.32
Cys 51	.	.	B	B	.	.	-0.17	0.23	*	.	.	0.30	0.22
Ileu 52	.	.	B	.	.	C	0.14	-0.36	*	.	.	1.40	0.19
Met 53	T	C	0.96	-0.36	*	.	F	2.25	0.63
Pro 54	T	C	0.26	-0.53	*	.	F	3.00	1.89
Glu 55	A	.	.	.	T	.	0.92	-0.60	.	.	F	2.50	2.31
Glu 56	A	.	.	.	T	.	1.59	-1.29	.	.	F	2.20	2.99
Asn 57	A	A	1.00	-1.67	.	.	F	1.50	3.23
Ala 58	A	A	2.70	-1.49	.	.	F	1.20	1.68
Glu 59	A	A	1.46	-1.49	*	.	F	0.90	3.85
Asp 60	A	A	2.57	-0.94	*	.	F	0.75	0.85
Met 61	A	A	1.28	-1.24	*	.	.	0.78	1.65
Glu 62	A	A	0.58	-0.82	*	.	.	0.75	1.00
Val 63	A	A	1.17	-0.09	*	.	.	0.30	0.52
Arg 64	A	A	0.87	0.36	*	.	.	-0.30	0.91
Trp 65	A	A	0.87	0.23	*	.	.	-0.30	0.70
Phe 66	A	A	0.77	0.53	*	.	.	-0.45	1.64
Gln 67	A	A	0.47	0.67	*	.	F	-0.45	0.73
Ser 68	C	1.11	1.06	*	.	F	0.15	0.93
Gln 69	T	T	0.41	0.57	*	.	F	0.50	1.65
Phe 70	T	C	-0.16	0.29	.	.	F	0.45	0.86
Ser 71	T	C	-0.16	0.53	.	.	F	0.15	0.53
Pro 72	.	.	B	.	.	C	-1.01	0.23	.	.	.	-0.40	0.27
Ala 73	.	.	B	B	.	.	-0.96	1.17	.	.	.	-0.60	0.23
Val 74	.	.	B	B	.	.	-0.91	1.14	.	.	.	-0.60	0.27
Phe 75	.	.	B	B	.	.	-0.58	0.76	.	.	.	-0.60	0.28
Val 76	.	.	B	B	.	.	-0.60	0.76	*	.	.	-0.30	0.34
Tyr 77	.	.	B	.	.	T	-0.28	0.59	*	.	.	0.40	0.45
Trp 78	T	T	0.31	0.04	.	.	F	2.70	1.02
Gly 79	T	C	1.28	-0.74	.	.	F	2.70	2.39
Gly 80	T	C	1.67	-1.39	*	.	F	3.00	2.98
Arg 81	A	C	2.32	-1.66	*	.	F	2.30	2.15
Glu 82	A	A	3.79	-1.66	.	.	F	1.80	3.77
Arg 83	A	A	2.72	-2.09	*	.	F	1.50	6.59
Thr 84	A	A	3.11	-2.11	.	.	F	1.20	5.83
Glu 85	A	A	3.46	-2.11	.	.	F	0.90	6.73
Glu 86	A	A	3.34	-3.11	.	.	F	0.90	5.95
Gln 87	A	A	3.10	-2.33	.	.	F	0.90	7.14
Lys 88	A	A	3.10	-1.84	.	.	F	0.90	6.45
Glu 89	A	A	3.07	-1.84	.	.	F	1.24	7.31
Glu 90	A	A	3.28	-1.41	.	.	F	1.38	4.18
Tyr 91	A	.	.	.	T	.	2.87	-1.84	.	.	F	2.22	4.09
Arg 92	A	.	.	.	T	C	2.56	-1.32	*	.	F	2.56	3.41
Gly 93	T	T	1.81	-0.04	*	.	F	3.40	2.84
Arg 94	A	.	.	.	T	.	0.96	-0.06	.	.	F	3.36	1.57
Thr 95	.	.	B	B	.	.	0.66	-0.17	.	.	F	1.47	0.59
Thr 96	.	.	B	B	.	.	0.34	0.21	.	.	F	0.53	0.81
Phe 97	.	.	B	B	.	.	0.83	-0.21	.	.	.	0.98	0.82
Val 98	.	.	B	B	.	.	0.88	-0.21	.	.	.	0.58	0.95
Ser 99	.	.	B	B	.	.	0.88	-0.21	*	.	F	1.47	0.88
Lys 100	.	.	B	.	.	.	0.84	-0.80	*	.	F	2.46	2.00
Asp 101	T	T	0.86	-1.10	*	.	F	2.40	2.57
Ser 102	T	T	0.70	-1.41	*	.	F	3.06	2.67
Arg 103	T	T	0.97	-1.16	*	.	F	2.57	0.99
Gly 104	A	.	.	.	T	.	0.46	-0.66	*	.	F	3.83	0.60
Ser 105	A	.	.	B	.	.	-0.48	0.93	*	.	F	0.19	0.27
Val 106	.	.	B	B	.	.	-1.37	0.33	.	.	.	-0.30	0.13

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Ala 107	.	.	B	B	.	.	.	-1.10	1.01	.	*	.	-0.60	0.09
Leu 108	.	.	B	B	.	.	.	-1.21	1.03	*	*	.	-0.60	0.09
Ile 109	.	.	B	B	.	.	.	-1.72	1.10	*	.	.	-0.60	0.21
Ile 110	.	.	A	B	.	.	.	-1.73	1.10	*	.	.	-0.60	0.15
His 111	.	.	B	B	.	.	.	-1.47	1.09	*	.	.	-0.60	0.26
Arg 112	.	.	B	B	.	.	.	-0.88	0.90	.	.	.	-0.60	0.18
Val 113	.	.	E	B	.	.	.	-0.07	0.21	.	.	.	0.38	0.84
Thr 114	.	.	B	B	.	.	.	0.82	-0.47	.	.	.	1.47	1.15
Ala 115	.	.	.	B	.	.	C	1.37	-0.57	*	.	F	2.46	1.15
Glu 116	T	T	.	0.51	-0.54	.	.	F	1.40	1.54
Arg 117	T	T	.	0.27	-0.50	.	.	F	2.92	0.75
Asn 118	T	T	.	1.12	-0.23	*	.	F	2.43	1.16
Gly 119	T	T	.	0.77	-0.23	.	.	F	2.08	1.16
Ile 120	.	.	.	B	T	.	.	1.11	0.24	.	.	.	0.46	0.37
Tyr 121	.	.	.	B	.	.	.	0.41	1.00	.	.	.	-0.60	0.36
Gln 122	.	.	B	B	.	.	.	0.41	1.39	.	.	.	-0.60	0.32
Cys 123	.	.	B	B	.	.	.	0.41	1.35	*	.	.	-0.60	0.78
Tyr 124	.	.	B	B	.	.	.	0.43	0.67	*	.	.	-0.60	0.87
Phe 125	.	.	B	B	.	.	.	1.43	0.24	*	.	.	0.01	0.49
Glu 126	.	.	B	B	.	.	.	1.35	-0.06	*	.	F	1.22	1.81
Glu 127	.	.	B	T	.	.	.	0.69	-0.24	*	.	F	1.92	1.55
Gly 128	.	.	.	T	T	.	.	1.56	-0.43	*	.	F	2.49	0.96
Arg 129	.	.	.	T	T	.	.	1.60	-0.81	*	.	F	3.10	0.89
Sec 130	.	.	.	T	T	.	.	1.71	-1.21	*	.	P	2.79	0.99
Cys 131	A	.	.	.	T	.	.	0.82	-0.71	*	.	F	2.08	0.91
Asn 132	A	A	0.01	-0.46	*	*	.	0.92	0.32
Glu 133	A	A	0.32	0.23	*	*	.	0.02	0.20
Ala 134	A	A	-0.60	0.34	*	.	.	-0.30	0.51
Ile 135	A	A	-1.35	0.65	*	.	.	-0.60	0.26
Leu 136	A	A	-1.34	0.70	.	.	.	-0.60	0.12
His 137	A	A	-1.93	1.34	.	.	.	-0.60	0.06
Leu 138	A	A	-1.93	1.34	.	.	.	-0.60	0.12
Val 139	A	A	-1.24	0.66	.	.	.	-0.60	0.34
Val 140	E	A	-0.49	0.37	.	.	.	-0.50	0.20
Ala 141	A	A	0.32	0.37	.	.	.	-0.30	0.50
Asp 142	A	A	0.14	0.09	.	.	.	-0.08	1.09
Gln 143	A	B	0.14	-0.13	.	.	F	0.74	1.27
His 144	A	A	.	.	.	C	.	0.70	-0.05	.	.	F	1.01	1.05
Asn 145	T	C	.	1.27	-0.20	*	.	F	1.48	1.45
Phe 146	T	T	.	0.97	0.71	.	.	F	0.70	0.80
Leu 147	T	T	.	0.76	1.00	.	.	.	0.40	0.46
Sec 148	T	T	.	-0.13	0.97	.	.	.	0.41	0.45
Tyr 149	.	.	B	B	.	.	.	-0.31	1.21	.	.	.	-0.60	0.90
Ile 150	.	.	B	B	.	.	.	-0.31	1.21	.	.	.	-0.53	0.38
Pro 151	.	.	D	B	.	.	.	-0.44	0.93	.	.	.	-0.60	0.49
Ile 152	.	.	B	B	.	.	.	0.06	0.97	.	.	F	-0.45	0.46
Pro 153	.	.	B	.	T	.	.	-0.46	0.94	.	.	F	-0.05	0.95
Gln 154	.	.	.	T	T	.	.	-0.07	0.54	.	.	F	0.35	0.51
Gly 155	I	C	.	-0.39	0.50	.	*	F	0.16	0.87
Thr 156	.	.	B	.	T	.	.	-0.57	0.50	*	*	F	-0.05	0.52
Leu 157	.	.	B	B	.	.	.	-0.07	0.50	*	*	.	-0.60	0.28
Ser 158	.	.	B	B	.	.	.	-0.24	0.53	.	*	.	-0.60	0.49
Leu 159	.	.	E	B	.	.	.	-0.63	0.53	.	*	.	-0.60	0.44

Table 9

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Met 1	A	A	-1.47	0.70	.	.	.	-0.60	0.31
Ala 2	A	A	-1.38	0.96	.	.	.	-0.60	0.20
Leu 3	A	A	-1.80	0.91	.	.	.	-0.60	0.21
Met 4	A	A	-2.27	1.17	.	.	.	-0.60	0.17
Leu 5	A	A	-2.69	1.20	.	.	.	-0.60	0.15
Sec 6	A	A	-2.39	1.39	.	.	.	-0.60	0.13
Leu 7	A	A	-2.61	1.09	.	.	.	-0.60	0.17
Val 8	A	A	-2.61	1.16	*	.	.	-0.60	0.17
Leu 9	A	A	-2.97	1.25	*	.	.	-0.60	0.11
Sec 10	A	A	-1.97	0.77	*	.	.	-0.60	0.26
Leu 11	.	A	B	-2.01	0.77	*	.	.	-0.60	0.28
Leu 12	.	A	B	-1.90	0.56	*	.	.	-0.60	0.24
Lys 13	.	A	B	-0.99	0.26	*	.	P	-0.15	0.34

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Leu 14	.	A	C	-0.18	0.30	.	.	F	0.05	0.41
Gly 15	T	-0.17	0.61	*	.	F	0.65	0.66
Ser 16	T	0.64	0.24	*	.	F	0.45	0.45
Gly 17	T	0.60	0.64	*	.	F	0.15	0.95
Gln 18	.	.	B	.	.	.	T	-0.24	0.59	*	.	F	-0.05	0.71
Trp 19	.	.	B	B	.	.	.	0.32	0.96	.	.	.	-0.59	0.46
Gln 20	.	.	B	B	.	.	.	0.46	1.00	.	.	.	-0.60	0.46
Val 21	.	.	B	B	.	.	.	0.76	1.00	.	.	.	-0.60	0.41
Phe 22	.	.	B	B	.	.	.	1.14	0.60	.	.	.	-0.20	0.65
Gly 23	C	0.93	-0.31	.	.	.	1.50	0.75
Pro 24	T	0.37	-0.39	.	.	.	2.30	1.57
Asp 25	T	0.37	-0.29	.	.	F	2.40	1.34
Lys 26	T	0.62	-0.67	*	.	F	3.00	2.35
Pro 27	.	.	.	B	.	.	C	0.52	-0.60	*	.	F	2.30	1.54
Val 28	.	.	.	B	B	.	.	0.01	-0.34	*	.	.	1.20	0.76
Gln 29	.	.	.	B	B	.	.	-0.13	0.30	*	.	.	0.30	0.28
Ala 30	.	.	.	B	B	.	.	-0.13	0.73	.	.	.	-0.30	0.18
Leu 31	.	.	.	B	B	.	.	-0.17	0.30	.	.	.	-0.30	0.42
Val 32	.	.	.	B	B	.	.	-0.54	-0.34	.	.	.	0.30	0.41
Gly 33	A	.	.	B	.	.	.	-0.28	-0.33	.	.	F	0.45	0.41
Glu 34	A	A	-0.88	-0.24	.	.	F	0.45	0.50
Asp 35	A	A	-0.69	-0.14	.	.	F	0.45	0.50
Ala 36	A	A	-0.54	-0.40	.	.	.	0.30	0.79
Ala 37	A	A	-0.29	-0.36	.	.	.	0.30	0.24
Phe 38	A	A	.	B	.	.	.	-0.86	0.53	.	.	.	-0.60	0.12
Ser 39	A	A	.	B	.	.	.	-1.16	1.21	.	.	.	-0.60	0.10
Cys 40	A	A	.	B	.	.	.	-1.37	1.10	.	.	.	-0.60	0.14
Phe 41	A	A	.	B	.	.	.	-0.73	1.03	.	.	.	-0.60	0.24
Leu 42	A	A	.	B	.	.	.	-0.46	0.74	.	.	.	-0.10	0.46
Ser 43	T	0.24	0.34	.	.	F	0.45	0.98
Pro 44	T	-0.04	0.17	.	.	F	0.60	1.62
Lys 45	T	0.62	-0.11	.	.	F	1.20	2.23
Thr 46	A	T	0.73	-0.80	.	.	F	1.30	2.88
Ser 47	A	A	0.94	-0.59	.	.	F	0.90	1.98
Ala 48	A	A	1.24	-0.50	.	.	.	0.30	0.92
Glu 49	A	A	0.60	-0.50	.	.	.	0.45	1.12
Ala 50	A	A	0.67	-0.34	.	.	.	0.30	0.52
Met 51	A	A	0.26	-0.74	*	.	.	0.60	1.00
Glu 52	A	A	-0.43	-0.46	*	.	.	0.30	0.50
Val 53	A	A	0.26	0.32	*	.	.	-0.30	0.43
Arg 54	A	A	-0.07	-0.17	*	.	.	0.20	0.25
Phe 55	A	A	0.52	-0.26	*	.	.	0.30	0.48
Phe 56	A	T	0.43	0.04	*	.	.	0.25	1.13
Arg 57	A	T	0.32	0.19	*	.	.	0.10	0.50
Gly 58	T	0.68	0.57	*	.	F	0.35	0.77
Gln 59	T	-0.29	0.17	*	.	F	0.80	1.20
Phe 60	C	-0.44	0.03	*	.	F	0.05	0.45
Ser 61	C	0.22	0.67	*	.	F	-0.25	0.24
Ser 62	.	.	.	B	B	.	.	-0.70	0.74	*	.	.	-0.60	0.27
Val 63	.	.	.	B	B	.	.	-0.60	1.03	*	.	.	-0.60	0.25
Val 64	.	.	.	B	B	.	.	-0.49	1.00	*	.	.	-0.60	0.30
His 65	.	.	.	B	B	.	.	0.21	0.61	*	.	.	-0.25	0.43
Met 66	.	.	.	B	B	.	.	0.17	0.23	*	.	.	0.30	0.98
Tyr 67	.	.	.	B	.	.	T	0.51	0.01	*	.	.	1.27	1.30
Arg 68	T	1.37	0.63	*	.	F	2.06	1.22
Asp 69	T	2.32	-1.12	*	.	F	2.40	2.59
Gly 70	T	2.04	-1.41	*	.	F	3.05	4.29
Lys 71	T	2.16	-1.74	*	.	F	2.52	3.39
Asp 72	C	1.80	-0.96	.	.	F	1.98	1.76
Gln 73	C	1.69	-0.34	.	.	F	1.54	1.76
Pro 74	1.09	-0.37	.	.	F	0.80	1.52
Phe 75	.	.	.	B	.	.	.	1.22	0.24	.	.	.	-0.10	0.90
Met 76	.	.	.	B	.	.	.	1.18	0.67	.	.	.	-0.40	0.80
Gln 77	.	.	.	B	.	.	.	0.93	0.67	.	.	.	-0.40	0.90
Met 78	.	.	.	B	.	.	.	0.92	1.00	*	.	.	-0.25	1.63
Pro 79	.	.	.	B	.	.	.	0.80	0.61	*	.	.	0.00	2.85
Gln 80	T	1.62	0.43	*	.	F	0.98	1.63
Tyr 81	T	1.90	0.93	.	.	F	1.82	3.23
Gln 82	A	T	1.94	-0.10	.	.	F	2.26	3.01
Gly 83	T	1.75	-0.55	.	.	F	3.40	3.48
Arg 84	.	.	.	B	.	.	T	1.09	-0.34	.	.	F	2.35	1.93
Thr 85	.	.	.	B	.	.	.	1.13	-0.36	.	.	F	1.90	0.78
Lys 86	.	.	.	B	.	.	.	1.38	-0.76	.	.	F	2.24	1.59

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Leu 87	.	.	B	.	.	.	1.08	-1.19	*	F	2.13	1.35
Val 88	.	.	B	.	.	T	0.55	-0.80	*	F	2.03	1.36
Lys 89	.	.	B	.	.	T	-0.17	-0.60	.	F	2.30	0.44
Asp 90	.	.	B	.	.	T	0.14	-0.10	*	F	1.77	0.84
Ser 91	.	.	B	.	.	T	-0.24	-0.79	*	.	1.84	1.26
Ile 92	A	A	0.68	-1.00	*	F	1.06	0.52
Ala 93	A	A	0.66	-1.00	*	F	0.98	0.73
Glu 94	A	A	0.30	-0.31	*	F	0.45	0.30
Gly 95	A	A	-0.51	-0.33	*	F	0.45	0.73
Arg 96	A	A	-0.10	-0.31	*	F	0.45	0.60
Ile 97	A	A	-0.02	-0.21	.	F	0.75	0.57
Ser 98	A	A	0.57	-0.23	*	*	0.20	0.86
Leu 99	A	A	0.57	-0.56	*	*	0.60	0.50
Arg 100	A	A	0.02	-0.16	*	*	0.45	1.14
Leu 101	A	A	-0.40	-0.16	*	*	0.50	0.60
Glu 102	.	.	A	B	.	.	-0.27	-0.06	.	*	0.45	1.04
Asn 103	.	.	A	B	.	.	-0.88	-0.10	.	*	0.30	0.40
Ile 104	.	.	A	B	.	.	-0.07	0.59	.	*	-0.60	0.40
Thr 105	.	.	A	B	.	.	-0.77	-0.10	.	.	0.30	0.38
Val 106	.	.	A	B	.	.	-0.30	0.40	.	.	-0.60	0.24
Leu 107	.	.	A	B	.	.	-1.11	0.43	.	.	-0.60	0.34
Asp 108	.	.	A	B	.	.	-1.26	0.43	.	.	-0.60	0.19
Ala 109	.	.	A	B	.	.	-0.81	0.70	.	.	-0.60	0.41
Gly 110	T	.	-1.17	0.43	*	.	0.00	0.49
Leu 111	T	.	-0.20	0.37	*	.	0.10	0.36
Tyr 112	T	.	-0.28	0.37	*	.	0.10	0.38
Gly 113	.	.	D	.	.	T	-0.58	0.56	*	.	-0.20	0.22
Cys 114	.	.	B	.	.	T	-0.29	0.51	*	*	-0.20	0.25
Arg 115	.	.	B	B	.	.	0.26	0.21	*	*	-0.30	0.30
Ile 116	.	.	B	B	.	.	0.57	-0.14	.	F	0.45	0.52
Ser 117	.	.	B	B	.	.	0.57	-0.10	*	F	0.70	1.31
Ser 118	.	.	B	.	.	T	0.67	0.60	*	F	1.32	1.05
Gln 119	.	.	B	.	.	T	1.33	0.76	.	F	0.38	2.35
Ser 120	T	.	1.27	0.47	*	F	1.14	1.03
Tyr 121	T	.	1.57	0.69	.	F	1.60	1.52
Tyr 122	A	.	.	.	T	.	0.98	0.20	.	.	0.89	1.64
Gln 123	.	.	A	B	.	.	0.99	0.49	.	.	0.03	1.38
Lys 124	.	.	A	B	.	.	0.99	1.01	*	.	-0.28	0.93
Ala 125	.	.	A	B	.	.	0.48	0.26	*	.	0.01	1.02
Ile 126	.	.	B	B	.	.	0.72	0.19	.	*	-0.30	0.45
Trp 127	.	.	A	B	.	.	0.11	0.19	.	*	-0.30	0.42
Glu 128	A	A	-0.19	0.83	*	*	-0.60	0.21
Leu 129	A	A	-0.82	0.71	*	*	-0.60	0.59
Gln 130	.	.	A	B	.	.	-1.04	0.53	.	*	-0.60	0.57
Val 131	.	.	A	B	.	.	-0.50	0.30	*	.	-0.30	0.27
Ser 132	.	.	A	.	.	C	-0.51	0.73	.	*	-0.40	0.23
Ala 133	.	.	A	.	.	C	-1.37	0.43	.	*	-0.40	0.25
Leu 134	.	.	A	B	.	.	-0.77	0.67	*	.	-0.60	0.25
Gly 135	.	.	A	.	.	T	-1.88	0.66	.	.	-0.20	0.29
Ser 136	.	.	B	B	.	.	-1.61	0.76	.	.	-0.60	0.24
Val 137	.	.	B	B	.	.	-1.61	0.04	.	.	-0.60	0.20
Pro 138	.	.	B	B	.	.	-1.91	0.69	.	.	-0.60	0.27
Leu 139	.	.	R	B	.	.	-1.01	0.30	.	.	-0.60	0.15
Ile 140	.	.	B	B	.	.	-1.43	1.00	.	*	-0.60	0.18
Ser 141	.	.	D	B	.	.	-1.36	0.79	.	.	-0.60	0.18
Ile 142	.	.	B	B	.	.	-1.26	1.31	.	*	-0.60	0.24
Thr 143	.	.	B	B	.	.	-1.14	1.07	*	.	-0.60	0.36
Gly 144	.	.	B	B	.	.	-0.22	1.39	*	.	-0.60	0.45
Tyr 145	.	.	B	B	.	.	0.57	0.00	*	*	0.97	1.25
Val 146	.	.	B	B	.	.	0.08	-0.69	*	F	1.68	1.44
Asp 147	.	.	B	.	.	T	0.97	-0.49	*	F	2.04	1.02
Arg 148	.	.	B	.	.	T	0.47	-0.53	*	F	2.60	1.13
Asp 149	.	.	B	.	.	T	0.00	-0.39	*	F	2.34	1.25
Ile 150	.	.	B	.	.	T	-0.42	-0.84	*	.	1.78	0.62
Gln 151	.	.	A	E	.	.	0.43	0.63	*	.	0.22	0.17
Leu 152	.	.	A	E	.	.	0.12	0.43	*	.	-0.34	0.10
Leu 153	.	.	A	B	.	.	-0.28	0.81	*	.	-0.60	0.24
Cys 154	.	.	B	B	.	.	-0.62	0.51	.	*	-0.60	0.26
Gln 155	.	.	A	.	.	T	-0.02	0.54	.	F	-0.05	0.31
Ser 156	T	T	-0.72	0.77	*	F	0.35	0.40
Ser 157	T	T	-0.13	0.87	*	F	0.35	0.64
Gly 158	T	T	0.80	0.73	.	F	0.35	0.57
Trp 159	T	T	1.26	0.33	*	F	0.65	0.84

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Phe 150	T	C	0.94	0.37	*	F	0.45	0.97
Phe 151	T	C	0.66	0.47	*	F	0.30	1.41
Arg 152	T	C	1.00	0.54	*	F	0.30	1.36
Pro 153	T	C	1.06	-0.37	*	F	1.40	2.13
Thr 154	T	.	1.39	-0.24	*	F	1.20	2.13
His 155	T	.	1.74	-0.67	*	F	1.55	2.17
Lys 156	T	.	1.74	-0.24	*	F	1.20	1.39
Trp 157	T	.	1.63	-0.34	*	F	1.54	1.49
Lys 158	C	1.50	-0.33	*	F	1.60	2.55
Gly 159	C	1.91	-0.40	*	F	2.02	1.36
Pro 160	T	C	2.40	0.00	*	F	1.35	2.96
Gln 171	T	T	1.54	-0.81	.	F	3.40	1.74
Gly 172	T	C	1.55	-0.23	.	F	2.56	1.45
Gln 173	.	.	B	.	T	.	1.18	-0.27	.	F	2.02	1.26
Asp 174	.	.	B	.	.	.	2.52	-0.21	.	F	1.92	1.05
Leu 175	.	.	B	.	.	.	1.43	-0.61	*	F	2.12	1.77
Ser 176	.	.	B	.	T	.	1.54	-0.66	*	F	2.32	1.37
Thr 177	.	.	B	.	T	.	1.58	-1.06	*	F	2.66	1.60
Asp 178	T	T	1.58	-0.57	*	F	2.40	2.80
Ser 179	T	C	1.69	-0.36	*	F	2.86	3.37
Arg 180	T	T	2.50	-1.36	*	F	3.06	4.57
Thr 181	T	T	2.20	-1.73	*	F	3.06	4.57
Asn 182	T	T	2.48	-1.11	*	F	3.06	3.37
Arg 183	.	.	B	.	T	T	2.15	-1.00	*	F	2.66	2.34
Asp 184	T	T	1.62	-0.57	*	F	3.40	1.61
Met 185	.	.	B	.	T	.	0.91	-0.37	*	F	2.06	0.82
His 186	.	.	B	.	T	.	1.12	0.01	*	F	1.12	0.36
Gly 187	.	.	B	.	T	.	0.27	0.01	*	F	0.78	0.36
Leu 188	.	.	B	.	.	.	0.16	0.56	*	F	-0.26	0.27
Phe 189	A	.	B	.	.	.	-0.73	0.04	*	F	-0.30	0.28
Asp 190	A	.	B	.	.	.	-0.43	0.23	*	F	-0.30	0.25
Val 191	A	.	B	.	.	.	-1.21	0.19	*	F	-0.30	0.40
Glu 192	A	.	B	.	.	.	-2.18	0.19	*	F	-0.30	0.38
Ile 193	A	.	B	.	.	.	-1.22	0.11	*	F	0.30	0.33
Ser 194	A	.	B	.	.	.	-0.52	0.53	*	F	-0.60	0.33
Leu 195	A	A	B	.	.	.	-0.52	0.29	*	F	-0.30	0.33
Thr 196	A	A	B	.	.	.	0.53	0.29	*	F	-0.30	0.81
Val 197	A	A	B	.	.	.	-0.26	0.00	*	F	0.55	0.98
Gln 198	A	A	B	.	.	.	0.29	0.11	*	F	0.30	1.20
Glu 199	A	A	B	.	.	.	0.29	-0.14	*	F	1.20	0.82
Asn 200	T	T	0.21	-0.36	.	F	2.10	1.48
Ala 201	T	T	0.22	-0.20	.	F	2.50	0.60
Gly 202	T	T	0.41	-0.21	.	F	2.28	0.46
Ser 203	T	T	0.31	0.25	.	F	1.40	0.15
Ile 204	A	-0.49	0.34	*	F	0.40	0.21
Sox 205	A	-0.30	0.46	*	F	-0.15	0.21
Cys 206	.	.	B	.	.	.	0.38	0.03	*	F	-0.10	0.30
Ser 207	A	A	B	.	.	.	-0.07	0.14	*	F	-0.30	0.58
Met 208	A	A	B	.	.	.	0.20	-0.04	*	F	0.30	0.41
Arg 209	A	A	B	.	.	.	0.28	0.07	*	F	-0.15	1.11
His 210	A	A	B	.	.	.	0.28	0.19	.	F	-0.30	0.69
Ala 211	A	A	B	.	.	.	1.05	0.19	.	F	-0.30	0.93
His 212	A	A	B	.	.	.	1.36	-0.42	*	F	0.30	0.91
Leu 213	A	A	B	.	.	.	1.10	-0.43	*	F	0.45	1.18
Ser 214	A	A	B	.	.	.	0.99	0.29	*	F	0.30	0.87
Arg 215	A	A	B	.	.	.	0.72	-0.79	*	F	0.90	1.10
Glu 216	A	A	B	.	.	.	1.42	-0.98	*	F	0.90	1.79
Val 217	A	.	B	.	.	.	0.60	-1.79	*	F	0.50	2.52
Gln 218	A	.	B	.	.	.	1.42	-1.33	*	F	0.75	0.99
Ser 219	A	.	B	.	.	.	0.82	-0.93	*	F	0.75	0.99
Arg 220	.	.	B	B	.	.	0.37	-0.24	*	F	0.45	0.94
Val 221	.	.	B	B	.	.	0.37	-0.46	*	F	0.45	0.54
Gln 222	.	.	B	B	.	.	0.91	-0.16	*	F	0.30	0.67
Ile 223	.	.	B	B	.	.	0.31	-0.36	*	F	0.30	0.49
Gly 224	.	.	B	B	.	.	-0.19	0.43	*	F	-0.45	0.57
Asp 225	.	.	B	B	.	C	-0.20	0.57	*	F	-0.25	0.29
Thr 226	.	.	B	B	.	.	0.34	0.17	*	F	-0.10	0.71
Phe 227	.	.	B	B	.	.	-0.54	-0.09	*	F	0.45	1.11
Phe 228	.	.	B	B	.	.	0.04	0.17	*	F	-0.20	0.47
Glu 229	.	.	B	B	.	.	0.10	0.56	*	F	-0.60	0.43
Pro 230	A	.	B	.	.	.	0.07	0.59	*	F	-0.60	0.53
Ile 221	A	.	B	.	.	.	-0.43	0.70	*	F	-0.60	0.83
Ser 230	A	A	B	.	.	.	-0.22	0.60	*	F	-0.60	0.39

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Ileu	305	A	.	.	B	.	.	.	-0.57	-0.16	*	.	F	0.45	0.31
Lys	307	A	.	.	B	.	.	.	0.07	-0.31	*	.	F	0.45	0.88
Thr	308	A	.	.	B	.	.	.	1.02	-0.20	*	.	F	0.45	0.80
Val	309	A	.	.	B	.	.	.	1.38	-0.20	*	.	F	0.60	1.89
Thr	310	.	A	.	B	.	.	.	0.79	-0.85	.	.	F	0.75	1.89
His	311	.	A	.	B	.	.	.	1.39	-0.39	.	.	F	0.60	1.32
Arg	312	.	A	.	B	.	T	.	1.34	-0.44	.	.	F	1.00	3.75
Lys	313	.	A	.	B	.	.	C	1.66	-0.69	*	.	F	1.10	3.31
Ala	314	.	A	C	1.66	-1.17	*	.	F	1.10	4.21
Pro	315	.	A	C	1.76	-1.03	*	.	F	1.10	1.59
Glu	316	A	1.76	-0.60	*	.	F	0.90	1.23
Glu	317	A	A	1.34	-0.10	*	.	F	0.60	1.66
Val	318	.	.	.	B	.	.	T	1.30	-0.21	*	.	F	1.00	1.44
Pro	319	A	T	1.92	-0.64	*	.	F	1.30	1.44
His	320	A	T	2.26	-1.04	*	.	F	1.30	1.66
Ser	321	A	T	1.56	-1.04	*	.	F	1.30	0.38
Glu	322	A	A	1.34	-0.90	*	.	F	0.90	3.66
Lys	323	A	A	.	B	.	.	.	2.21	-0.84	*	.	F	0.90	2.60
Arg	324	A	A	.	B	.	.	.	2.47	-1.24	*	.	F	0.90	3.81
Pro	325	A	A	.	B	.	.	.	2.20	-1.75	*	.	F	0.50	4.43
Thr	326	A	A	.	B	.	.	.	1.64	-1.34	*	.	F	0.90	2.95
Arg	327	A	.	.	B	.	.	.	0.79	-0.70	*	.	F	0.90	1.12
Lys	328	.	.	.	B	B	.	.	0.16	-0.06	*	.	F	0.45	0.06
Ser	329	.	.	.	B	B	.	.	-0.25	-0.34	*	.	F	0.45	0.67
Val	330	.	.	.	B	B	.	.	0.42	-0.44	*	.	F	0.30	0.16
Val	331	.	.	.	B	B	.	.	0.46	-0.04	*	.	F	0.30	0.40
Ala	332	.	.	.	B	B	.	.	-0.36	0.24	*	.	F	-0.30	0.40
Ser	333	.	.	.	B	.	.	T	-0.40	0.74	.	.	F	-0.05	0.46
Gln	334	A	T	-0.69	0.50	.	.	F	0.10	1.05
Ser	335	A	T	-0.16	0.36	.	.	F	0.40	1.08
Pro	336	A	T	0.72	0.29	.	.	F	0.25	0.80
Gln	337	A	1.28	-0.10	*	.	F	0.50	0.82
Ala	338	C	1.33	0.00	*	.	F	0.10	0.94
Gly	339	C	1.94	0.27	*	.	F	0.45	1.50
Lys	340	T	1.34	0.50	*	.	F	0.15	1.02
His	341	T	1.19	0.10	*	.	F	0.45	1.75
Tyr	342	.	.	.	B	.	.	T	1.19	0.24	*	*	F	0.25	1.32
Trp	343	.	.	.	B	.	.	.	1.43	-0.19	*	.	F	0.65	1.10
Glu	344	.	.	.	B	.	.	.	1.42	0.29	*	.	F	0.24	0.80
Val	345	.	.	.	B	.	.	T	1.30	0.17	*	.	F	0.70	0.51
Asp	346	T	1.39	-0.09	.	.	F	2.27	0.66
Gly	347	T	1.68	-0.60	*	*	F	2.93	0.61
Gly	348	T	2.08	-0.60	*	*	F	3.40	1.64
His	349	C	1.79	-1.24	*	*	F	2.66	1.92
Asn	350	T	2.76	-0.33	*	*	F	2.23	2.04
Lys	351	T	2.80	-0.76	*	*	F	2.38	4.05
Arg	352	T	1.90	-0.54	*	*	F	1.89	2.21
Trp	353	T	1.39	-0.82	.	*	F	1.55	1.26
Arg	354	.	.	.	B	B	.	.	0.76	-0.37	*	*	F	0.30	0.50
Val	355	.	.	.	B	B	.	.	0.87	0.20	*	*	F	-0.20	0.14
Gly	356	.	.	.	B	B	.	.	0.32	0.20	*	*	F	-0.30	0.26
Val	357	.	.	.	B	B	.	.	0.73	-0.71	.	*	F	0.60	0.22
Cys	358	.	.	.	B	.	.	T	0.14	-0.71	*	.	F	1.00	0.48
Arg	359	.	.	.	B	.	.	T	0.03	-0.71	*	.	F	1.00	0.37
Asp	360	.	.	.	D	.	.	T	1.00	-1.14	.	.	F	1.15	0.83
Asp	361	A	T	1.46	-1.70	.	.	F	1.30	3.04
Val	362	A	2.30	-2.26	.	.	F	1.10	3.04
Asp	363	A	T	3.02	-2.26	*	*	F	1.30	3.64
Arg	364	A	T	2.67	-3.36	*	*	F	1.30	3.70
Arg	365	A	T	1.81	-1.60	*	.	F	1.30	7.87
Lys	366	.	.	.	B	.	.	T	1.50	-1.60	.	.	F	1.30	3.54
Glu	367	.	.	.	B	B	.	.	1.54	-1.11	.	*	F	0.90	2.51
Tyr	368	.	.	.	B	B	.	.	1.24	-0.43	.	.	F	0.15	1.10
Val	369	.	.	.	B	B	.	.	0.92	-0.04	.	.	F	0.55	0.74
Thr	370	.	.	.	B	B	.	.	0.81	0.19	.	.	F	0.20	0.66
Ileu	371	.	.	.	B	B	.	.	0.73	0.39	.	.	F	0.45	0.70
Ser	372	.	.	.	B	.	.	T	0.39	0.12	.	.	F	1.40	1.28
Pro	373	T	0.39	-0.09	.	.	F	0.50	0.88
Asp	374	T	0.96	0.19	.	.	F	1.80	1.67
His	375	T	0.41	0.41	.	.	F	1.10	1.31
Gly	376	T	0.41	0.67	*	*	F	0.30	0.63
Tyr	377	.	.	.	B	B	.	.	0.82	0.93	*	*	F	-0.35	0.31
Trp	378	.	.	.	B	B	.	.	0.22	0.93	*	*	F	-0.60	0.15

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Val 379	B	B		0.22	1.11	*	*	-0.60	0.37
Leu 380	B	B		-0.09	1.09	*	*	-0.60	0.38
Arg 381	B	B		0.26	0.76	*	*	-0.60	0.36
Leu 382	E	S		0.47	-0.16	*	*	0.30	0.84
Asn 383	B	B	C	-0.06	-0.30	*	*	0.80	1.39
Gly 384				0.56	-0.30	*	*	0.85	0.50
Glu 385			C	0.67	0.46	*	*	0.10	1.11
His 386	B	B		0.24	0.56	*	*	-0.60	0.60
Leu 387	B	B		0.23	0.54	*	*	-0.60	0.87
Tyr 388	B	B		0.24	0.90	*	*	-0.60	0.42
Phe 389	B	B		0.38	1.30	*	*	-0.60	0.49
Thr 390	B	B		0.49	1.23	*	*	-0.60	0.92
Leu 391	B	B		-0.28	0.54	*	*	-0.45	1.15
Asn 392			T	-0.26	0.57	*	*	0.15	1.15
Pro 393			T	-0.21	0.87	*	*	0.20	0.56
Arg 394			T	-0.47	0.37	*	*	0.50	0.94
Phe 395	B	B	T	-0.86	0.33	*	*	0.10	0.42
Ile 396	B	B		-0.26	0.71	*	*	-0.60	0.23
Sex 397	B	B		-0.14	0.71	*	*	-0.60	0.19
Val 398	B	B		-0.24	0.71	*	*	-0.60	0.42
Phe 399	B	B		-0.57	0.41	*	*	-0.60	0.86
Pro 400			T	-0.08	0.16	*	*	0.72	1.00
Arg 401			T	0.50	0.20	*	*	1.16	1.07
Thr 402			C	0.84	0.04	*	*	1.29	1.46
Pro 403			C	0.81	-0.74	*	*	1.63	4.47
Pro 404			T	1.17	-0.49	*	*	2.80	1.60
Thr 405			T	0.52	-0.06	*	*	2.52	1.10
Iys 406	B	B	T	-0.29	0.10	*	*	1.09	0.53
Ile 407	B	B		-0.79	0.46	*	*	-0.04	0.29
Gly 408	B	B		-0.56	0.71	*	*	-0.12	0.17
Val 409	B	B		-0.61	0.23	*	*	-0.30	0.14
Phe 410	B	B		-0.30	0.89	*	*	-0.70	0.31
Leu 411	B	B		-1.01	0.20	*	*	-0.08	0.55
Asp 412	B	B	T	-0.47	0.44	*	*	0.24	0.40
Tyr 413	B	B	T	-0.83	0.23	*	*	0.76	0.45
Glu 414			T	-0.47	-0.07	*	*	1.98	0.80
Cys 415			T	-0.07	-0.07	*	*	2.20	0.33
Gly 416	B	B	T	0.04	0.31	*	*	0.98	0.29
Trp 417	B	B		-0.66	0.24	*	*	0.34	0.14
Ile 418	B	B		-0.41	1.15	*	*	-0.16	0.23
Ser 419	B	B		-1.30	0.86	*	*	-0.38	0.37
Phe 420	B	B		-0.63	1.21	*	*	-0.60	0.18
Phe 421	B	B		-0.29	1.13	*	*	-0.60	0.42
Asn 422	S	B		0.02	0.44	*	*	-0.47	0.52
Ile 423	B	B	C	0.61	0.46	*	*	0.01	1.04
Asn 424	H	B	C	0.10	0.06	*	*	0.59	1.61
Asp 425			T	-0.09	-0.04	*	*	1.77	0.83
Gln 426			T	0.37	0.24	*	*	1.30	0.83
Ser 427			T	0.06	0.31	*	*	1.17	0.80
Leu 428	S	B	T	0.13	0.40	*	*	0.49	0.70
Ile 429	D	B		-0.10	1.09	*	*	-0.34	0.33
Tyr 430	B	B		-0.84	1.17	*	*	-0.47	0.36
Thr 431	B	B		-0.73	1.36	*	*	-0.60	0.23
Leu 432	B	B		-1.13	0.57	*	*	-0.60	0.65
Trp 433	B	B		-0.32	0.77	*	*	-0.60	0.36
Cys 434	A	B	B	0.22	0.01	*	*	-0.20	0.42
Arg 435	A	B	B	-0.34	-0.04	*	*	0.30	0.53
Phe 436	A	B	B	-0.84	-0.09	*	*	0.30	0.29
Glu 437	A	B	B	0.08	0.16	*	*	-0.30	0.45
Gly 438	A	B	T	0.18	-0.43	*	*	0.70	0.45
Leu 439	A	B	T	0.60	0.01	*	*	0.10	0.81
Leu 440	A	B	C	-0.40	-0.01	*	*	0.65	0.73
Arg 441	A	B	C	0.30	0.67	*	*	-0.40	0.62
Pro 442	H	B		0.06	0.24	*	*	-0.15	1.09
Tyr 443	B	B		0.19	0.31	*	*	-0.15	2.07
Ile 444	B	B		0.70	0.06	*	*	-0.15	1.63
Glu 445	B	B		1.27	0.43	*	*	-0.45	1.40
Tyr 446	B	B	T	1.16	0.77	*	*	-0.05	1.22
Pro 447	B	B	T	1.37	0.41	*	*	0.10	1.25
Ser 448			T	1.61	-0.27	*	*	1.40	1.25
Tyr 449			T	2.30	0.13	*	*	0.80	1.59
Asn 450			T	2.15	-0.23	*	*	1.50	1.73
Glu 451			T	2.09	-0.23	*	*	2.00	2.76

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Gln 452	T	T	.	2.08	-0.13	.	.	F	2.30	2.54
Asn 453	T	T	.	2.50	-0.46	.	.	F	2.60	2.44
Gly 454	T	C	2.74	-0.86	.	*	F	3.00	3.75
Thr 455	T	C	2.79	-0.86	.	.	F	2.70	2.66
Pro 456	T	C	2.79	-1.26	.	*	F	2.40	3.31
Arg 457	T	T	2.73	-1.26	.	*	F	2.30	5.00
Asp 458	T	T	2.40	-1.39	.	*	F	2.00	6.95
Lys 459	.	.	.	B	.	.	.	2.36	-1.34	.	.	.	0.95	5.75
Gln 460	.	.	.	B	.	.	.	2.28	-1.34	.	.	.	0.95	3.75
Gln 461	.	.	.	B	.	.	.	2.10	-0.91	.	.	.	0.95	2.87

WO 02/02587

PCT/US01/20917

TABLE 10

cDNA Plasmid:V	Library Code
HESNC81	H0012 H0013 H0056 H0059 H0063 H0083 H0098 H0144 H0156 H0163 H0170 H0177 H0181 H0321 H0327 H0333 H0345 H0392 H0412 H0427 H0436 H0457 H0494 H0520 H0521 H0539 H0542 H0550 H0551 H0556 H0586 H0616 H0619 H0646 H0656 H0658 H0660 H0662 H0663 H0670 H0672 H0684 L1290 S0015 S0026 S0037 S0132 S0206 S0278 S0358 S0360 S0374 S0452 S3014
HDPPA04	H0004 H0494 H0521 H0522 H0591 H0641 L1290 S0452 T0049
HTTDB46	H0036 H0040 S0360
HCECR39	H0052 H0090 H0486 H0556 H0580 L1290 S0046 S0270
HCE2X64	H0009 H0052 H0144 H0194 H0569 L1290 S0001 S0049 S0222 S0388 S6024 S6028 T0096 T0010
HEMFH17	H0052 H0090 H0486 H0580 L1290 S0046 S0270 S0386
HSIDS22	H0002 H0013 H0020 H0030 H0036 H0040 H0046 H0051 H0052 H0059 H0156 H0316 H0412 H0423 H0521 H0529 H0545 H0547 H0555 H0556 H0575 H0590 H0617 H0622 H0631 H0632 H0641 H0644 H0656 H0657 H0659 H0660 H0662 H0665 H0666 H0690 H0708 H0716 L1290 S0003 S0045 S0126 S0194 S0214 S0218 S0242 S0276 S0278 S0356 S0358 S0360 S0374 S0376 S0380 S0408 S0422 S0434 S0476 S3014 T0002

TABLE 11

SEQ ID NO: X	Cytologic Band or Chromosome:	OMIM ID:
2	Chromosome 1	
5	Chromosome 6	
6	Chromosome 1	

TABLE 12

Library Code	Library Description	Disease
H0002	Human Adult Heart	
H0004	Human Adult Spleen	
H0009	Human Fetal Brain	
H0012	Human Fetal Kidney	
H0013	Human 8 Week Whole Embryo	

WO 02/02587

PCT/US01/20917

H0020	Human Hippocampus	
H0030	Human Placenta	
H0036	Human Adult Small Intestine	
H0040	Human Testes Tumor	disease
H0046	Human Endometrial Tumor	disease
H0051	Human Hippocampus	
H0052	Human Cerebellum	
H0056	Human Umbilical Vein, Endo. retrace	
H0059	Human Uterine Cancer	disease
H0063	Human Thymus	
H0083	HUMAN JURKAT MEMBRANE BOUND POLYSOMES	
H0090	Human T-Cell Lymphoma	disease
H0098	Human Adult Liver, subtracted	
H0144	Nine Week Old Early Stage Human	
H0156	Human Adrenal Gland Tumor	disease
H0163	Human Synovium	
H0170	12 Week Old Early Stage Human	
H0177	CAMA1Ee Cell Line	
H0181	Human Primary Breast Cancer	disease
H0194	Human Cerebellum, subtracted	
H0316	HUMAN STOMACH	
H0321	HUMAN SCHWANOMA	disease
H0327	human corpus colosum	
H0333	Hemangiopericytoma	disease
H0345	SKIN	
H0392	H. Meningioma, M1	
H0412	Human umbilical vein endothelial cells, IL-4 induced	
H0423	T-Cell PHA 24 hrs	
H0427	Human Adipose	
H0436	Resting T-Cell Library,II	
H0457	Human Eosinophils	
H0486	Hodgkin's Lymphoma II	disease
H0494	Keratinocyte	
H0520	NTERA2 + retinoic acid, 14 days	
H0521	Primary Dendritic Cells, lib 1	
H0522	Primary Dendritic cells,frac 2	
H0529	Myeloid Progenitor Cell Line	
H0539	Pancreas Islet Cell Tumor	disease
H0542	T Cell helper I	
H0545	Human endometrial stromal cells-treated with progesterone	
H0547	NTERA2 teratocarcinoma cell line+retinoic acid (14 days)	
H0550	H. Epididymus, cauda	

WO 02/02587

PCT/US01/20917

H0551	Human Thymus Stromal Cells	
H0555	Rejected Kidney, lib 4	disease
H0556	Activated T-cell(12h)/Thiouridine-re-excision	
H0569	Human Fetal Brain, normalized CO	
H0575	Human Adult Pulmonary, re-excision	
H0580	Dendritic cells, pooled	
H0586	Healing groin wound, 6.5 hours post incision	disease
H0590	Human adult small intestine, re-excision	
H0591	Human T-cell lymphoma, re-excision	disease
H0616	Human Testes, Reexcision	
H0617	Human Primary Breast Cancer Reexcision	disease
H0619	Fetal Heart	
H0622	Human Pancreas Tumor, Reexcision	disease
H0631	Saas2, Dexamethosone Treated	
H0632	Hepatocellular Tumor, re-excision	
H0641	LPS activated derived dendritic cells	
H0644	Human Placenta (re-excision)	
H0646	Lung, Cancer (4005313 A3): Invasive Poorly Differentiated Lung Adenocarcinoma,	
H0656	B-cells (unstimulated)	
H0657	B-cells (stimulated)	
H0658	Ovary, Cancer (9809C332): Poorly differentiated adenocarcinoma	disease
H0659	Ovary, Cancer (15395A1F): Grade II Papillary Carcinoma	disease
H0660	Ovary, Cancer: (15799A1F) Poorly differentiated carcinoma	disease
H0662	Breast, Normal: (4005522B2)	
H0663	Breast, Cancer: (4005522 A2)	disease
H0665	Stromal cells 3.88	
H0666	Ovary, Cancer: (4004332 A2)	disease
H0670	Ovary, Cancer(4004650 A3): Well-Differentiated Micropapillary Serous Carcinoma	
H0672	Ovary, Cancer: (4004576 A8)	
H0684	Ovarian cancer, Serous Papillary Adenocarcinoma	
H0690	Ovarian Cancer, # 9702G001	
H0708	Human Skeletal Muscle	
H0716	Adipose tissue (diabetic type II)#41689	
L1290	Soares placenta 8to9weeks 2NbHP8to9W	
S0001	Brain frontal cortex	
S0003	Human Osteoclastoma	disease
S0015	Kidney medulla	
S0026	Stromal cell TF274	
S0037	Smooth muscle, IL1b induced	
S0045	Endothelial cells-control	

WO 02/02587

PCT/US01/20917

S0046	Endothelial-induced	
S0049	Human Brain, Striatum	
S0126	Osteoblasts	
S0132	Epithelial-TNF α and INF induced	
S0194	Synovial hypoxia	
S0206	Smooth Muscle- HASTE normalized	
S0214	Human Osteoclastoma, re-excision	disease
S0218	Apoptotic T-cell, re-excision	
S0222	H. Frontal cortex, epileptic, re-excision	disease
S0242	Synovial Fibroblasts (II/TNF), subt	
S0270	PTMEX	
S0276	Synovial hypoxia-RSF subtracted	
S0278	H Macrophage (GM-CSF treated), re-excision	
S0356	Colon Carcinoma	disease
S0358	Colon Normal III	
S0360	Colon Tumor II	disease
S0374	Normal colon	
S0376	Colon Tumor	disease
S0380	Pancreas Tumor PCA4 Tu	disease
S0386	Human Whole Brain, re-excision	
S0388	Human Hypothalamus, schizophrenia, re-excision	disease
S0408	Colon, normal	
S0422	Mo7e Cell Line GM-CSF treated (1ng/ml)	
S0434	Stomach Normal	disease
S0452	Thymus	
S0476	Epithelial-TNF α and INF induced	
S3014	Smooth muscle, serum induced, re-exc	
S6024	Alzheimers, spongy change	disease
S6028	Human Manic Depression Tissue	disease
T0002	Activated T-cells	
T0006	Human Pineal Gland	
T0010	Human Infant Brain	
T0049	Aorta endothelial cells + TNF- α	

[961] Having generally described the invention, the same will be more readily understood by reference to the following examples, which are provided by way of illustration and are not intended as limiting.

EXAMPLES

Example 1: Isolation of a Selected cDNA Clone From the Deposited Sample

[962] Each cDNA clone in a cited ATCC deposit is contained in a plasmid vector. Table 1 identifies the vectors used to construct the cDNA library from which each clone was isolated. In many cases, the vector used to construct the library is a phage vector from which a plasmid has been excised. The table immediately below correlates the related plasmid for each phage vector used in constructing the cDNA library. For example, where a particular clone is identified in Table 1 as being isolated in the vector "Lambda Zap," the corresponding deposited clone is in "pBluescript."

<u>Vector Used to Construct Library</u>	<u>Corresponding Deposited Plasmid</u>
Lambda Zap	pBluescript (pBS)
Uni-Zap XR	pBluescript (pBS)
Zap Express	pBK
lalfmid BA	plafmid BA
pSport1	pSport1
pCMVSPORT 2.0	pCMVSPORT 2.0
pCMVSPORT 3.0	pCMVSPORT 3.0
pCR [®] 2.1	pCR [®] 2.1

[963] Vectors Lambda Zap (U.S. Patent Nos. 5,128,256 and 5,286,636), Uni-Zap XR (U.S. Patent Nos. 5,128,256 and 5,286,636), Zap Express (U.S. Patent Nos. 5,128,256 and 5,286,636), pBluescript (pBS) (Short et al., *Nucleic Acids Res.*, 16:7583-7600 (1988)), Altung-Mees et al., *Nucleic Acids Res.*, 17:9494 (1989) and pBK (Altung-Mees et al., *Strategies*, 5:58-61 (1992)) are commercially available from Stratagene Cloning Systems, Inc., 11011 N. Torrey Pines Road, La Jolla, CA, 92037. pBS contains an ampicillin resistance gene and pBK contains a neomycin resistance gene. Both can be transformed into *E. coli* strain XL-1 Blue, also available from Stratagene. pBS comes in 4 forms SK+, SK-, KS+ and KS-. The S and K refers to the orientation of the polylinker to the T7 and T3 primer sequences which flank the polylinker region ("S" is for SacI and "K" is for KpnI which are the first sites on each respective end of the linker). "+" or "-" refer to the orientation of the fl origin of

WO 02/02587

PCT/US01/20917

replication ("ori"), such that in one orientation, single stranded rescue initiated from the fl ori generates sense strand DNA and in the other, antisense.

[964] Vectors pSport1, pCMVSPORT 2.0 and pCMVSPORT 3.0, were obtained from Life Technologies, Inc., P. O. Box 6009, Gaithersburg, MD 20897. All Sport vectors contain an ampicillin resistance gene and may be transformed into *E. coli* strain DH10B, also available from Life Technologies. (See, for instance, Gruber, C. E., et al., *Focus* 15:59 (1993)). Vector Iafmid BA (Beato Soares, Columbia University, NY) contains an ampicillin resistance gene and can be transformed into *E. coli* strain XL-1 Blue. Vector pCR^{2.1}, which is available from Invitrogen, 1600 Faraday Avenue, Carlsbad, CA 92008, contains an ampicillin resistance gene and may be transformed into *E. coli* strain DH10B, available from Life Technologies. (See, for instance, Clark, *Nuc. Acids Res.*, 16:9677-9686 (1988) and Mead et al., *Bio/Technology*, 9 (1991)). Preferably, a polynucleotide of the present invention does not comprise the phage vector sequences identified for the particular clone in Table 1, as well as the corresponding plasmid vector sequences designated above.

[965] The deposited material in the sample assigned the ATCC Deposit Number cited in Table 1 for any given cDNA clone also may contain one or more additional plasmids, each comprising a cDNA clone different from that given clone. Thus, deposits sharing the same ATCC Deposit Number contain at least a plasmid for each cDNA Plasmid:V identified in Table 1. Typically, each ATCC deposit sample cited in Table 1 comprises a mixture of approximately equal amounts (by weight) of about 50 plasmid DNAs, each containing a different cDNA clone; but such a deposit sample may include plasmids for more or less than 50 cDNA clones, up to about 500 cDNA clones.

[966] Two approaches can be used to isolate a particular clone from the deposited sample of plasmid DNAs cited for that clone in Table 1. First, a plasmid is directly isolated by screening the clones using a polynucleotide probe corresponding to SEQ ID NO:X.

[967] Particularly, a specific polynucleotide with 30-40 nucleotides is synthesized using an Applied Biosystems DNA synthesizer according to the sequence reported. The oligonucleotide is labeled, for instance, with ³²P-γ-ATP using T4 polynucleotide kinase and purified according to routine methods. (E.g., Maniatis et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring, NY (1982)). The plasmid mixture is transformed into a suitable host, as indicated above (such as XL-1 Blue (Stratagene)) using techniques known to those of skill in the art, such as those provided by

WO 02/02587

PCT/US01/20917

the vector supplier or in related publications or patents cited above. The transformants are plated on 1.5% agar plates (containing the appropriate selection agent, e.g., ampicillin) to a density of about 150 transformants (colonies) per plate. These plates are screened using Nylon membranes according to routine methods for bacterial colony screening (e.g., Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd Edit., (1989), Cold Spring Harbor Laboratory Press, pages 1.93 to 1.104), or other techniques known to those of skill in the art.

[968] Alternatively, two primers of 17-20 nucleotides derived from both ends of the SEQ ID NO:X (i.e., within the region of SEQ ID NO:X bounded by the 5' NT and the 3' NT of the clone defined in Table 1) are synthesized and used to amplify the desired cDNA using the deposited cDNA plasmid as a template. The polymerase chain reaction is carried out under routine conditions, for instance, in 25 μ l of reaction mixture with 0.5 μ g of the above cDNA template. A convenient reaction mixture is 1.5-5 mM MgCl₂, 0.01% (w/v) gelatin, 20 μ M each of dATP, dCTP, dGTP, dTTP, 25 pmol of each primer and 0.25 Unit of Taq polymerase. Thirty five cycles of PCR (denaturation at 94°C for 1 min; annealing at 55°C for 1 min; elongation at 72°C for 1 min) are performed with a Perkin-Elmer Cetus automated thermal cycler. The amplified product is analyzed by agarose gel electrophoresis and the DNA band with expected molecular weight is excised and purified. The PCR product is verified to be the selected sequence by subcloning and sequencing the DNA product.

[969] Several methods are available for the identification of the 5' or 3' non-coding portions of a gene which may not be present in the deposited clone. These methods include but are not limited to, filter probing, clone enrichment using specific probes, and protocols similar or identical to 5' and 3' "RACE" protocols which are well known in the art. For instance, a method similar to 5' RACE is available for generating the missing 5' end of a desired full-length transcript. (Fromont-Racine et al., *Nucleic Acids Res.*, 21(7):1683-1684 (1993)).

[970] Briefly, a specific RNA oligonucleotide is ligated to the 5' ends of a population of RNA presumably containing full-length gene RNA transcripts. A primer set containing a primer specific to the ligated RNA oligonucleotide and a primer specific to a known sequence of the gene of interest is used to PCR amplify the 5' portion of the desired full-length gene. This amplified product may then be sequenced and used to generate the full length gene.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[971] This above method starts with total RNA isolated from the desired source, although poly-A+ RNA can be used. The RNA preparation can then be treated with phosphatase if necessary to eliminate 5' phosphate groups on degraded or damaged RNA which may interfere with the later RNA ligase step. The phosphatase should then be inactivated and the RNA treated with tobacco acid pyrophosphatase in order to remove the cap structure present at the 5' ends of messenger RNAs. This reaction leaves a 5' phosphate group at the 5' end of the cap cleaved RNA which can then be ligated to an RNA oligonucleotide using T4 RNA ligase.

[972] This modified RNA preparation is used as a template for first strand cDNA synthesis using a gene specific oligonucleotide. The first strand synthesis reaction is used as a template for PCR amplification of the desired 5' end using a primer specific to the ligated RNA oligonucleotide and a primer specific to the known sequence of the gene of interest. The resultant product is then sequenced and analyzed to confirm that the 5' end sequence belongs to the desired gene.

Example 2: Isolation of Genomic Clones Corresponding to a Polynucleotide

[973] A human genomic Pl library (Genomic Systems, Inc.) is screened by PCR using primers selected for the cDNA sequence corresponding to SEQ ID NO.X., according to the method described in Example 1. (See also, Sambrook.)

Example 3: Tissue Distribution of Polypeptide

[974] Tissue distribution of mRNA expression of polynucleotides of the present invention is determined using protocols for Northern blot analysis, described by, among others, Sambrook et al. For example, a cDNA probe produced by the method described in Example 1 is labeled with P³² using the rediprime™ DNA labeling system (Amersham Life Science), according to manufacturer's instructions. After labeling, the probe is purified using CHROMA SPIN-100™ column (Clontech Laboratories, Inc.), according to manufacturer's protocol number PT1200-1. The purified labeled probe is then used to examine various human tissues for mRNA expression.

[975] Multiple Tissue Northern (MTN) blots containing various human tissues (H) or human immune system tissues (IM) (Clontech) are examined with the labeled probe using ExpressHyb™ hybridization solution (Clontech) according to manufacturer's protocol

WO 02/02587

PCT/US01/20917

number PT1190-1. Following hybridization and washing, the blots are mounted and exposed to film at -70°C overnight, and the films developed according to standard procedures.

Example 4: Chromosomal Mapping of the Polynucleotides

[976] An oligonucleotide primer set is designed according to the sequence at the 5' end of SEQ ID NO:X. This primer preferably spans about 100 nucleotides. This primer set is then used in a polymerase chain reaction under the following set of conditions: 30 seconds, 95°C; 1 minute, 56°C; 1 minute, 70°C. This cycle is repeated 32 times followed by one 5 minute cycle at 70°C. Human, mouse, and hamster DNA is used as template in addition to a somatic cell hybrid panel containing individual chromosomes or chromosome fragments (Bios, Inc). The reactions is analyzed on either 8% polyacrylamide gels or 3.5 % agarose gels. Chromosome mapping is determined by the presence of an approximately 100 bp PCR fragment in the particular somatic cell hybrid.

Example 5: Bacterial Expression of a Polypeptide

[977] A polynucleotide encoding a polypeptide of the present invention is amplified using PCR oligonucleotide primers corresponding to the 5' and 3' ends of the DNA sequence, as outlined in Example 1, to synthesize insertion fragments. The primers used to amplify the cDNA insert should preferably contain restriction sites, such as BamHI and XbaI and initiation/stop codons, if necessary, to clone the amplified product into the expression vector. For example, BamHI and XbaI correspond to the restriction enzyme sites on the bacterial expression vector pQE-9. (Qiagen, Inc., Chatsworth, CA). This plasmid vector encodes antibiotic resistance (Amp^r), a bacterial origin of replication (ori), an IPTG-regulatable promoter/operator (P/O), a ribosome binding site (RBS), a 6-histidine tag (6-His), and restriction enzyme cloning sites.

[978] The pQE-9 vector is digested with BamHI and XbaI and the amplified fragment is ligated into the pQE-9 vector maintaining the reading frame initiated at the bacterial RBS. The ligation mixture is then used to transform the E. coli strain M15/rep4 (Qiagen, Inc.) which contains multiple copies of the plasmid pREP4, which expresses the lacI repressor and also confers kanamycin resistance (Kan^r). Transformants are identified by their ability to

WO 02/02587

PCT/US01/20917

grow on LB plates and ampicillin/kanamycin resistant colonics are selected. Plasmid DNA is isolated and confirmed by restriction analysis.

[979] Clones containing the desired constructs are grown overnight (O/N) in liquid culture in LB media supplemented with both Amp (100 ug/ml) and Kan (25 ug/ml). The O/N culture is used to inoculate a large culture at a ratio of 1:100 to 1:250. The cells are grown to an optical density 600 (O.D.⁶⁰⁰) of between 0.4 and 0.6. IPTG (Isopropyl-B-D-thiogalactopyranoside) is then added to a final concentration of 1 mM. IPTG induces by inactivating the lacI repressor, clearing the P/O leading to increased gene expression.

[980] Cells are grown for an extra 3 to 4 hours. Cells are then harvested by centrifugation (20 mins at 6000Xg). The cell pellet is solubilized in the chaotropic agent 6 Molar Guanidine HCl by stirring for 3-4 hours at 4°C. The cell debris is removed by centrifugation, and the supernatant containing the polypeptide is loaded onto a nickel-nitrilotri-acetic acid ("Ni-NTA") affinity resin column (available from QIAGEN, Inc., *supra*). Proteins with a 6 x His tag bind to the Ni-NTA resin with high affinity and can be purified in a simple one-step procedure (for details see: The QIAexpressionist (1995) QIAGEN, Inc., *supra*).

[981] Briefly, the supernatant is loaded onto the column in 6 M guanidine-HCl, pH 8, the column is first washed with 10 volumes of 6 M guanidine-HCl, pH 8, then washed with 10 volumes of 6 M guanidine-HCl pH 6, and finally the polypeptide is eluted with 6 M guanidine-HCl, pH 5.

[982] The purified protein is then renatured by dialyzing it against phosphate-buffered saline (PBS) or 50 mM Na-acetate, pH 6 buffer plus 200 mM NaCl. Alternatively, the protein can be successfully refolded while immobilized on the Ni-NTA column. The recommended conditions are as follows: renature using a linear 6M-1M urea gradient in 500 mM NaCl, 20% glycerol, 20 mM Tris/HCl pH 7.4, containing protease inhibitors. The renaturation should be performed over a period of 1.5 hours or more. After renaturation the proteins are eluted by the addition of 250 mM imidazole. Imidazole is removed by a final dialyzing step against PBS or 50 mM sodium acetate pH 6 buffer plus 200 mM NaCl. The purified protein is stored at 4°C or frozen at -80°C.

[983] In addition to the above expression vector, the present invention further includes an expression vector comprising phage operator and promoter elements operatively linked to a polynucleotide of the present invention, called pHE4a. (ATCC Accession Number 209645,

WO 02/02587

PCT/US01/20917

deposited on February 25, 1998.) This vector contains: 1) a neomycinophosphotransferase gene as a selection marker, 2) an *E. coli* origin of replication, 3) a T5 phage promoter sequence, 4) two lac operator sequences, 5) a Shine-Dalgarno sequence, and 6) the lactose operon repressor gene (*lacIq*). The origin of replication (*oriC*) is derived from pUC19 (LTI, Gaithersburg, MD). The promoter sequence and operator sequences are made synthetically.

[984] DNA can be inserted into the pHEa by restricting the vector with *NdeI* and *XbaI*, *BamHI*, *XhoI*, or *Asp718*, running the restricted product on a gel, and isolating the larger fragment (the stuffer fragment should be about 310 base pairs). The DNA insert is generated according to the PCR protocol described in Example 1, using PCR primers having restriction sites for *NdeI* (5' primer) and *XbaI*, *BamHI*, *XhoI*, or *Asp718* (3' primer). The PCR insert is gel purified and restricted with compatible enzymes. The insert and vector are ligated according to standard protocols.

[985] The engineered vector could easily be substituted in the above protocol to express protein in a bacterial system.

Example 6: Purification of a Polypeptide from an Inclusion Body

[986] The following alternative method can be used to purify a polypeptide expressed in *E. coli* when it is present in the form of inclusion bodies. Unless otherwise specified, all of the following steps are conducted at 4-10°C.

[987] Upon completion of the production phase of the *E. coli* fermentation, the cell culture is cooled to 4-10°C and the cells harvested by continuous centrifugation at 15,000 rpm (Heraeus Sepatech). On the basis of the expected yield of protein per unit weight of cell paste and the amount of purified protein required, an appropriate amount of cell paste, by weight, is suspended in a buffer solution containing 100 mM Tris, 50 mM EDTA, pH 7.4. The cells are dispersed to a homogeneous suspension using a high shear mixer.

[988] The cells are then lysed by passing the solution through a microfluidizer (Microfluidics, Corp. or APV Gaulin, Inc.) twice at 4000-6000 psi. The homogenate is then mixed with NaCl solution to a final concentration of 0.5 M NaCl, followed by centrifugation at 7000 xg for 15 min. The resultant pellet is washed again using 0.5M NaCl, 100 mM Tris, 50 mM EDTA, pH 7.4.

[989] The resulting washed inclusion bodies are solubilized with 1.5 M guanidine hydrochloride (GuHCl) for 2-4 hours. After 7000 xg centrifugation for 15 min., the pellet is

WO 02/02587

PCT/US01/20917

discarded and the polypeptide containing supernatant is incubated at 4°C overnight to allow further GuHCl extraction.

[990] Following high speed centrifugation (30,000 xg) to remove insoluble particles, the GuHCl solubilized protein is refolded by quickly mixing the GuHCl extract with 20 volumes of buffer containing 50 mM sodium, pH 4.5, 150 mM NaCl, 2 mM EDTA by vigorous stirring. The refolded diluted protein solution is kept at 4°C without mixing for 12 hours prior to further purification steps.

[991] To clarify the refolded polypeptide solution, a previously prepared tangential filtration unit equipped with 0.16 µm membrane filter with appropriate surface area (e.g., Filtron), equilibrated with 40 mM sodium acetate, pH 6.0 is employed. The filtered sample is loaded onto a cation exchange resin (e.g., Poros HS-50, Perceptive Biosystems). The column is washed with 40 mM sodium acetate, pH 6.0 and eluted with 250 mM, 500 mM, 1000 mM, and 1500 mM NaCl in the same buffer, in a stepwise manner. The absorbance at 280 nm of the effluent is continuously monitored. Fractions are collected and further analyzed by SDS-PAGE.

[992] Fractions containing the polypeptide are then pooled and mixed with 4 volumes of water. The diluted sample is then loaded onto a previously prepared set of tandem columns of strong anion (Poros HQ-50, Perceptive Biosystems) and weak anion (Poros CM-20, Perceptive Biosystems) exchange resins. The columns are equilibrated with 40 mM sodium acetate, pH 6.0. Both columns are washed with 40 mM sodium acetate, pH 6.0, 200 mM NaCl. The CM-20 column is then eluted using a 10 column volume linear gradient ranging from 0.2 M NaCl, 50 mM sodium acetate, pH 6.0 to 1.0 M NaCl, 50 mM sodium acetate, pH 6.5. Fractions are collected under constant A₂₈₀ monitoring of the effluent. Fractions containing the polypeptide (determined, for instance, by 16% SDS-PAGE) are then pooled.

[993] The resultant polypeptide should exhibit greater than 95% purity after the above refolding and purification steps. No major contaminant bands should be observed from Commaassie blue stained 16% SDS-PAGE gel when 5 µg of purified protein is loaded. The purified protein can also be tested for endotoxin/LPS contamination, and typically the LPS content is less than 0.1 ng/ml according to LAL assays.

Example 7: Cloning and Expression of a Polypeptide in a Baculovirus Expression System

[994] In this example, the plasmid shuttle vector pA2 is used to insert a polynucleotide into a baculovirus to express a polypeptide. This expression vector contains the strong polyhedrin promoter of the *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus (AcMNPV) followed by convenient restriction sites such as BamHI, Xba I and Asp718. The polyadenylation site of the simian virus 40 ("SV40") is used for efficient polyadenylation. For easy selection of recombinant virus, the plasmid contains the beta-galactosidase gene from *E. coli* under control of a weak *Drosophila* promoter in the same orientation, followed by the polyadenylation signal of the polyhedrin gene. The inserted genes are flanked on both sides by viral sequences for cell-mediated homologous recombination with wild-type viral DNA to generate a viable virus that express the cloned polynucleotide.

[995] Many other baculovirus vectors can be used in place of the vector above, such as pAc373, pVL941, and pAcM1, as one skilled in the art would readily appreciate, as long as the construct provides appropriately located signals for transcription, translation, secretion and the like, including a signal peptide and an in-frame AUG as required. Such vectors are described, for instance, in Luckow et al., *Virology* 170:31-39 (1989).

[996] Specifically, the cDNA sequence contained in the deposited clone is amplified using the PCR protocol described in Example 1 using primers with appropriate restriction sites and initiation/stop codons. If the naturally occurring signal sequence is used to produce the secreted protein, the pA2 vector does not need a second signal peptide. Alternatively, the vector can be modified (pA2 GP) to include a baculovirus leader sequence, using the standard methods described in Summers et al., "A Manual of Methods for Baculovirus Vectors and Insect Cell Culture Procedures," Texas Agricultural Experimental Station Bulletin NO: 1555 (1987).

[997] The amplified fragment is isolated from a 1% agarose gel using a commercially available kit ("GeneClean," BIO 101 Inc., La Jolla, Ca.). The fragment then is digested with appropriate restriction enzymes and again purified on a 1% agarose gel.

[998] The plasmid is digested with the corresponding restriction enzymes and optionally, can be dephosphorylated using calf intestinal phosphatase, using routine procedures known in the art. The DNA is then isolated from a 1% agarose gel using a commercially available kit ("GeneClean" BIO 101 Inc., La Jolla, Ca.).

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[999] The fragment and the dephosphorylated plasmid are ligated together with T4 DNA ligase. *E. coli* HB101 or other suitable *E. coli* hosts such as XL-1 Blue (Stratagene Cloning Systems, La Jolla, CA) cells are transformed with the ligation mixture and spread on culture plates. Bacteria containing the plasmid are identified by digesting DNA from individual colonies and analyzing the digestion product by gel electrophoresis. The sequence of the cloned fragment is confirmed by DNA sequencing.

[1000] Five µg of a plasmid containing the polynucleotide is co-transfected with 1.0 µg of a commercially available linearized baculovirus DNA ("BaculoGold™ baculovirus DNA", Pharmingen, San Diego, CA), using the lipofection method described by Felgner et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:7413-7417 (1987). One µg of BaculoGold™ virus DNA and 5 µg of the plasmid are mixed in a sterile well of a microtiter plate containing 50 µl of serum-free Grace's medium (Life Technologies Inc., Gaithersburg, MD). Afterwards, 10 µl Lipofectin plus 90 µl Grace's medium are added, mixed and incubated for 15 minutes at room temperature. Then the transfection mixture is added drop-wise to Sf9 insect cells (ATCC CRL 1711) seeded in a 35 mm tissue culture plate with 1 ml Grace's medium without serum. The plate is then incubated for 5 hours at 27° C. The transfection solution is then removed from the plate and 1 ml of Grace's insect medium supplemented with 10% fetal calf serum is added. Cultivation is then continued at 27° C for four days.

[1001] After four days the supernatant is collected and a plaque assay is performed, as described by Summers and Smith, *supra*. An agarose gel with "Blue Gal" (Life Technologies Inc., Gaithersburg) is used to allow easy identification and isolation of gal-expressing clones, which produce blue-stained plaques. (A detailed description of a "plaque assay" of this type can also be found in the user's guide for insect cell culture and baculovirology distributed by Life Technologies Inc., Gaithersburg, page 9-10.) After appropriate incubation, blue stained plaques are picked with the tip of a micropipettor (e.g., Eppendorf). The agar containing the recombinant viruses is then resuspended in a microcentrifuge tube containing 200 µl of Grace's medium and the suspension containing the recombinant baculovirus is used to infect Sf9 cells seeded in 35 mm dishes. Four days later the supernatants of these culture dishes are harvested and then they are stored at 4° C.

[1002] To verify the expression of the polypeptide, Sf9 cells are grown in Grace's medium supplemented with 10% heat-inactivated FBS. The cells are infected with the recombinant baculovirus containing the polynucleotide at a multiplicity of infection ("MOI") of about 2.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

If radiolabeled proteins are desired, 6 hours later the medium is removed and is replaced with SF900 II medium minus methionine and cysteine (available from Life Technologies Inc., Rockville, MD). After 42 hours, 5 μCi of ^{35}S -methionine and 5 μCi ^{35}S -cysteine (available from Amersham) are added. The cells are further incubated for 16 hours and then are harvested by centrifugation. The proteins in the supernatant as well as the intracellular proteins are analyzed by SDS-PAGE followed by autoradiography (if radiolabeled).

[1003] Microsequencing of the amino acid sequence of the amino terminus of purified protein may be used to determine the amino terminal sequence of the produced protein.

Example 3: Expression of a Polypeptide in Mammalian Cells

[1004] The polypeptide of the present invention can be expressed in a mammalian cell. A typical mammalian expression vector contains a promoter element, which mediates the initiation of transcription of mRNA, a protein coding sequence, and signals required for the termination of transcription and polyadenylation of the transcript. Additional elements include enhancers, Kozak sequences and intervening sequences flanked by donor and acceptor sites for RNA splicing. Highly efficient transcription is achieved with the early and late promoters from SV40, the long terminal repeats (LTRs) from Retroviruses, e.g., RSV, HTLV1, HIV1 and the early promoter of the cytomegalovirus (CMV). However, cellular elements can also be used (e.g., the human actin promoter).

[1005] Suitable expression vectors for use in practicing the present invention include, for example, vectors such as pSVL and pMSG (Pharmacia, Uppsala, Sweden), pRSVcat (ATCC 37152), pSV2dhfr (ATCC 37146), pBC12MT (ATCC 67109), pCMVSPORT 2.0, and pCMVSPORT 3.0. Mammalian host cells that could be used include, human HeLa, 293, H9 and Jurkat cells, mouse NIH3T3 and C127 cells, Cos 1, Cos 7 and CV1, quail QC1-3 cells, mouse L cells and Chinese hamster ovary (CHO) cells.

[1006] Alternatively, the polypeptide can be expressed in stable cell lines containing the polynucleotide integrated into a chromosome. The co-transfection with a selectable marker such as dhfr, gpt, neomycin, hygromycin allows the identification and isolation of the transfected cells.

[1007] The transfected gene can also be amplified to express large amounts of the encoded protein. The DHFR (dihydrofolate reductase) marker is useful in developing cell lines that carry several hundred or even several thousand copies of the gene of interest. (See, e.g., Alt et

WO 02/02587

PCT/US01/20917

al., *J. Biol. Chem.*, 253:1357-1370 (1978); Hamlin et al., *Biochem. et Biophys. Acta*, 1097:107-143 (1990); Page et al., *Biotechnology*, 9:64-68 (1991)). Another useful selection marker is the enzyme glutamine synthase (GS) (Murphy et al., *Biochem J.*, 227:277-279 (1991); Bebbington et al., *BioTechnology*, 10:169-175 (1992)). Using these markers, the mammalian cells are grown in selective medium and the cells with the highest resistance are selected. These cell lines contain the amplified gene(s) integrated into a chromosome. Chinese hamster ovary (CHO) and NSO cells are often used for the production of proteins.

[1008] Derivatives of the plasmid pSV2-dhfr (ATCC Accession No.: 37146), the expression vectors pC4 (ATCC Accession No.: 209646) and pC6 (ATCC Accession No.:209647) contain the strong promoter (LTR) of the Rous Sarcoma Virus (Cullen et al., *Molecular and Cellular Biology*, 438-447 (March, 1985)) plus a fragment of the CMV-enhancer (Boshart et al., *Cell*, 41:521-530 (1985)). Multiple cloning sites, e.g., with the restriction enzyme cleavage sites BamHI, XbaI and Asp718, facilitate the cloning of the gene of interest. The vectors also contain the 3' intron, the polyadenylation and termination signal of the rat preproinsulin gene, and the mouse DHFR gene under control of the SV40 early promoter.

[1009] Specifically, the plasmid pC6, for example, is digested with appropriate restriction enzymes and then dephosphorylated using calf intestinal phosphates by procedures known in the art. The vector is then isolated from a 1% agarose gel.

[1010] A polynucleotide of the present invention is amplified according to the protocol outlined in Example 1 using primers with appropriate restriction sites and initiation/stop codons, if necessary. The vector can be modified to include a heterologous signal sequence if necessary for secretion. (See, e.g., WO 96/34891.)

[1011] The amplified fragment is isolated from a 1% agarose gel using a commercially available kit ("GeneClean," BIO 101 Inc., La Jolla, Ca.). The fragment then is digested with appropriate restriction enzymes and again purified on a 1% agarose gel.

[1012] The amplified fragment is then digested with the same restriction enzyme and purified on a 1% agarose gel. The isolated fragment and the dephosphorylated vector are then ligated with T4 DNA ligase. *E. coli* HB101 or XL-1 Blue cells are then transformed and bacteria are identified that contain the fragment inserted into plasmid pC6 using, for instance, restriction enzyme analysis.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[1013] Chinese hamster ovary cells lacking an active DHFR gene is used for transfection. Five μg of the expression plasmid pC6 is cotransfected with 0.5 μg of the plasmid pSVneo using lipofectin (Felgner et al., *supra*). The plasmid pSV2-neo contains a dominant selectable marker, the *neo* gene from Tn5 encoding an enzyme that confers resistance to a group of antibiotics including G418. The cells are seeded in alpha minus MEM supplemented with 1 mg/ml G418. After 2 days, the cells are trypsinized and seeded in hybridoma cloning plates (Greiner, Germany) in alpha minus MEM supplemented with 10, 25, or 50 ng/ml of methotrexate plus 1 mg/ml G418. After about 10-14 days single clones are trypsinized and then seeded in 6-well petri dishes or 10 ml flasks using different concentrations of methotrexate (50 nM, 100 nM, 200 nM, 400 nM, 800 nM). Clones growing at the highest concentrations of methotrexate are then transferred to new 6-well plates containing even higher concentrations of methotrexate (1 μM , 2 μM , 5 μM , 10 μM , 20 μM). The same procedure is repeated until clones are obtained which grow at a concentration of 100 - 200 μM . Expression of the desired gene product is analyzed, for instance, by SDS-PAGE and Western blot or by reversed phase HPLC analysis.

Example 9: Protein Fusions

[1014] The polypeptides of the present invention are preferably fused to other proteins. These fusion proteins can be used for a variety of applications. For example, fusion of the present polypeptides to His-tag, HA-tag, protein A, IgG domains, and maltose binding protein facilitates purification. (See Example 5; see also EP A 394,827; Trautnecker, et al., *Nature*, 331:84-86 (1988)) The polypeptides can also be fused to heterologous polypeptide sequences to facilitate secretion and intracellular trafficking (e.g., KDEL). Moreover, fusion to IgG-1, IgG-3, and albumin increases the half-life time in vivo. Nuclear localization signals fused to the polypeptides of the present invention can target the protein to a specific subcellular localization, while covalent heterodimer or homodimers can increase or decrease the activity of a fusion protein. Fusion proteins can also create chimeric molecules having more than one function. Finally, fusion proteins can increase solubility and/or stability of the fused protein compared to the non-fused protein. All of the types of fusion proteins described above can be made by modifying the following protocol, which outlines the fusion of a polypeptide to an IgG molecule, or the protocol described in Example 5.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[1015] Briefly, the human Fc portion of the IgG molecule can be PCR amplified, using primers that span the 5' and 3' ends of the sequence described below. These primers also should have convenient restriction enzyme sites that will facilitate cloning into an expression vector, preferably a mammalian expression vector, and initiation/stop codons, if necessary.

[1016] For example, if pC4 (Accession No.: 209646) is used, the human Fc portion can be ligated into the BamHI cloning site. Note that the 3' BamHI site should be destroyed. Next, the vector containing the human Fc portion is re-restricted with BamHI, linearizing the vector, and a polynucleotide of the present invention, isolated by the PCR protocol described in Example 1, is ligated into this BamHI site. Note that the polynucleotide is cloned without a stop codon, otherwise a fusion protein will not be produced.

[1017] If the naturally occurring signal sequence is used to produce the secreted protein, pC4 does not need a second signal peptide. Alternatively, if the naturally occurring signal sequence is not used, the vector can be modified to include a heterologous signal sequence. (See, e.g., WO 96/34891.)

Human IgG Fc region:

```
GGGATCCGGAGCCCAATCTTCYGACAAAACTCACAGATGCCACCGTGCCCAACACTGAATTCC
AGGGTGCACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCCAAGGACACCCATGATCTCCCGGACATC
CTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTAAGCCACGAAAGCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTAC
GTGGAGCGGTGGAGGTGCATAATGCCAAGCAAAAGCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGT
ACCGTGTGGTCAAGTCCCTCACCCTCCAGCAGGACTGGCTGAAATGGCAAGGAGTACAAGTGC
AAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAACCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCC
CCGAGAACCACAGGTGTACACCCCTGCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACAGGTACGCC
TGACCTCCCTGGTCAAAGGCTTCATCCAAAGGACATCGCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCG
CCGAGAACAACTACAAGACCACGCTCCCGTGGTGGACTCCGACGGCTCCCTTCCTCTACAGC
AAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAAGTCTTCTCATGCTCCGTGAATGATGA
GGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAAGACCTCTCCCTGTCTCCGGTAAATGAGTGGGACGGC
CGCGACTCTAGAGGAT (SEQ ID NO:1)
```

Example 10: Formulating a Polypeptide

[1018] The invention also provides methods of treatment and/or prevention of diseases or disorders (such as, for example, any one or more of the diseases or disorders disclosed herein) by administration to a subject of an effective amount of a Therapeutic. By Therapeutic is meant polynucleotides or polypeptides of the invention (including fragments

WO 02/02587

PCT/US01/20917

and variants), agonists or antagonists thereof, and/or antibodies thereto, in combination with a pharmaceutically acceptable carrier type (e.g., a sterile carrier).

[1019] The polypeptide composition will be formulated and dosed in a fashion consistent with good medical practice, taking into account the clinical condition of the individual patient (especially the side effects of treatment with the secreted polypeptide alone), the site of delivery, the method of administration, the scheduling of administration, and other factors known to practitioners. The "effective amount" for purposes herein is thus determined by such considerations.

[1020] As a general proposition, the total pharmaceutically effective amount of polypeptide administered parenterally per dose will be in the range of about 1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ to 10 $\text{mg}/\text{kg}/\text{day}$ of patient body weight, although, as noted above, this will be subject to therapeutic discretion. More preferably, this dose is at least 0.01 $\text{mg}/\text{kg}/\text{day}$, and most preferably for humans between about 0.01 and 1 $\text{mg}/\text{kg}/\text{day}$ for the hormone. If given continuously, the polypeptide is typically administered at a dose rate of about 1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{hour}$ to about 50 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{hour}$, either by 1-4 injections per day or by continuous subcutaneous infusions, for example, using a mini-pump. An intravenous bag solution may also be employed. The length of treatment needed to observe changes and the interval following treatment for responses to occur appears to vary depending on the desired effect.

[1021] Pharmaceutical compositions containing the polypeptide of the invention are administered orally, rectally, parenterally, intracisternally, intravaginally, intraperitoneally, topically (as by powders, ointments, gels, drops or transdermal patch), buccally, or as an oral or nasal spray. "Pharmaceutically acceptable carrier" refers to a non-toxic solid, semisolid or liquid filler, diluent, encapsulating material or formulation auxiliary of any type. The term "parenteral" as used herein refers to modes of administration which include intravenous

WO 02/02587

PCT/US01/20917

277 (1981), and Langer, *Chem. Tech.*, 12:98-105 (1982)), ethylene vinyl acetate (R. Langer et al.) or poly-D-(-)-3-hydroxybutyric acid (EP 133,988). Sustained-release compositions also include liposomally entrapped polypeptides. Liposomes containing the secreted polypeptide are prepared by methods known per se: DE 3,218,121; Epstein et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 82:3688-3692 (1985); Hwang et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 77:4030-4034 (1980); EP 52,322; EP 36,676; EP 88,046; EP 143,949; EP 142,641; Japanese Pat. Appl. 83-118008; U.S. Pat. Nos. 4,485,045 and 4,544,545; and EP 102,324. Ordinarily, the liposomes are of the small (about 200-800 Angstroms) unilamellar type in which the lipid content is greater than about 30 mol. percent cholesterol, the selected proportion being adjusted for the optimal secreted polypeptide therapy.

[1023] For parenteral administration, in one embodiment, the polypeptide is formulated generally by mixing it at the desired degree of purity, in a unit dosage injectable form (solution, suspension, or emulsion), with a pharmaceutically acceptable carrier, i.e., one that is non-toxic to recipients at the dosages and concentrations employed and is compatible with other ingredients of the formulation. For example, the formulation preferably does not include oxidizing agents and other compounds that are known to be deleterious to polypeptides.

[1024] Generally, the formulations are prepared by contacting the polypeptide uniformly and intimately with liquid carriers or finely divided solid carriers or both. Then, if necessary, the product is shaped into the desired formulation. Preferably the carrier is a parenteral carrier, more preferably a solution that is isotonic with the blood of the recipient. Examples of such carrier vehicles include water, saline, Ringer's solution, and dextrose solution. Non-aqueous vehicles such as fixed oils and ethyl oleate are also useful herein, as well as liposomes.

[1025] The carrier suitably contains minor amounts of additives such as substances that enhance isotonicity and chemical stability. Such materials are non-toxic to recipients at the dosages and concentrations employed, and include buffers such as phosphate, citrate, succinate, acetic acid, and other organic acids or their salts; antioxidants such as ascorbic acid; low molecular weight (less than about ten residues) polypeptides, e.g., polyarginine or tripeptides; proteins, such as serum albumin, gelatin, or immunoglobulins; hydrophilic polymers such as polyvinylpyrrolidone; amino acids, such as glycine, glutamic acid, aspartic acid, or arginine; monosaccharides, disaccharides, and other carbohydrates including

WO 02/02587

PCT/US01/20917

cellulose or its derivatives, glucose, manose, or dextrans; chelating agents such as EDTA; sugar alcohols such as mannitol or sorbitol; counterions such as sodium; and/or nonionic surfactants such as polysorbates, poloxamers, or PEG.

[1026] The polypeptide is typically formulated in such vehicles at a concentration of about 0.1 mg/ml to 100 mg/ml, preferably 1-10 mg/ml, at a pH of about 3 to 8. It will be understood that the use of certain of the foregoing excipients, carriers, or stabilizers will result in the formation of polypeptide salts.

[1027] Any polypeptide to be used for therapeutic administration can be sterile. Sterility is readily accomplished by filtration through sterile filtration membranes (e.g., 0.2 micron membranes). Therapeutic polypeptide compositions generally are placed into a container having a sterile access port, for example, an intravenous solution bag or vial having a stopper pierceable by a hypodermic injection needle.

[1028] Polypeptides ordinarily will be stored in unit or multi-dose containers, for example, sealed ampoules or vials, as an aqueous solution or as a lyophilized formulation for reconstitution. As an example of a lyophilized formulation, 10-ml vials are filled with 5 ml of sterile-filtered 1% (w/v) aqueous polypeptide solution, and the resulting mixture is lyophilized. The infusion solution is prepared by reconstituting the lyophilized polypeptide using bacteriostatic Water-for-Injection.

[1029] The invention also provides a pharmaceutical pack or kit comprising one or more containers filled with one or more of the ingredients of the pharmaceutical compositions of the invention. Associated with such container(s) can be a notice in the form prescribed by a governmental agency regulating the manufacture, use or sale of pharmaceuticals or biological products, which notice reflects approval by the agency of manufacture, use or sale for human administration. In addition, the polypeptides of the present invention may be employed in conjunction with other therapeutic compounds.

[1030] The Therapeutics of the invention may be administered alone or in combination with adjuvants. Adjuvants that may be administered with the Therapeutics of the invention include, but are not limited to, alum, alum plus deoxycholate (ImmunoAg), MIP-PE (Biocine Corp.), QS21 (Genentech, Inc.), BCG (e.g., THERACYS®), MPL and nonviable preparations of *Corynebacterium parvum*. In a specific embodiment, Therapeutics of the invention are administered in combination with alum. In another specific embodiment, Therapeutics of the invention are administered in combination with QS-21. Further adjuvants that may be

WO 02/02587

PCT/US01/20917

administered with the Therapeutics of the invention include, but are not limited to, Monophosphoryl lipid immunomodulator, AdjuVax 100a, QS-21, QS-18, CRL1005, Aluminum salts, MF-59, and Virosomal adjuvant technology. Vaccines that may be administered with the Therapeutics of the invention include, but are not limited to, vaccines directed toward protection against MMR (measles, mumps, rubella), polio, varicella, tetanus/diphtheria, hepatitis A, hepatitis B, haemophilus influenzae B, whooping cough, pneumonia, influenza, Lyme's Disease, rotavirus, cholera, yellow fever, Japanese encephalitis, poliomyelitis, rabies, typhoid fever, and pertussis. Combinations may be administered either concomitantly, e.g., as an admixture, separately but simultaneously or concurrently; or sequentially. This includes presentations in which the combined agents are administered together as a therapeutic mixture, and also procedures in which the combined agents are administered separately but simultaneously, e.g., as through separate intravenous lines into the same individual. Administration "in combination" further includes the separate administration of one of the compounds or agents given first, followed by the second.

[1031] The Therapeutics of the invention may be administered alone or in combination with other therapeutic agents. Therapeutic agents that may be administered in combination with the Therapeutics of the invention, include but not limited to, chemotherapeutic agents, antibiotics, steroidal and non-steroidal anti-inflammatories, conventional immunotherapeutic agents, and/or therapeutic treatments described below. Combinations may be administered either concomitantly, e.g., as an admixture, separately but simultaneously or concurrently; or sequentially. This includes presentations in which the combined agents are administered together as a therapeutic mixture, and also procedures in which the combined agents are administered separately but simultaneously, e.g., as through separate intravenous lines into the same individual. Administration "in combination" further includes the separate administration of one of the compounds or agents given first, followed by the second.

[1032] In one embodiment, the Therapeutics of the invention are administered in combination with an anticoagulant. Anticoagulants that may be administered with the compositions of the invention include, but are not limited to, heparin, low molecular weight heparin, warfarin sodium (e.g., COUMADIN®), dicumarol, 4-hydroxycoumarin, anisindione (e.g., MIRADON™), acenocoumarol (e.g., nicoumalone, SINTHROME™), indan-1,3-dione, phenprocoumon (e.g., MARCUMAR™), ethyl biscoumacetate (e.g., TROMEXAN™), and aspirin. In a specific embodiment, compositions of the invention are administered in

WO 02/02587

PCT/US01/20917

combination with heparin and/or warfarin. In another specific embodiment, compositions of the invention are administered in combination with warfarin. In another specific embodiment, compositions of the invention are administered in combination with warfarin and aspirin. In another specific embodiment, compositions of the invention are administered in combination with heparin. In another specific embodiment, compositions of the invention are administered in combination with heparin and aspirin.

[1033] In another embodiment, the Therapeutics of the invention are administered in combination with thrombolytic drugs. Thrombolytic drugs that may be administered with the compositions of the invention include, but are not limited to, plasminogen, lys-plasminogen, alpha2-antiplasmin, streptokinase (e.g., KABIKINASE™), anistreplase (e.g., EMINASE™), tissue plasminogen activator (t-PA, altevase, ACTIVASE™), urokinase (e.g., ABBOKINASE™), sauruplase, (Prourokinase, single chain urokinase), and aminocaproic acid (e.g., AMICAR™). In a specific embodiment, compositions of the invention are administered in combination with tissue plasminogen activator and aspirin.

[1034] In another embodiment, the Therapeutics of the invention are administered in combination with antiplatelet drugs. Antiplatelet drugs that may be administered with the compositions of the invention include, but are not limited to, aspirin, dipyridamole (e.g., PERSANTINE™), and ticlopidine (e.g., TICLID™).

[1035] In specific embodiments, the use of anti-coagulants, thrombolytic and/or antiplatelet drugs in combination with Therapeutics of the invention is contemplated for the prevention, diagnosis, and/or treatment of thrombosis, arterial thrombosis, venous thrombosis, thromboembolism, pulmonary embolism, atherosclerosis, myocardial infarction, transient ischemic attack, unstable angina. In specific embodiments, the use of anticoagulants, thrombolytic drugs and/or antiplatelet drugs in combination with Therapeutics of the invention is contemplated for the prevention of occlusion of saphenous grafts, for reducing the risk of periprocedural thrombosis as might accompany angioplasty procedures, for reducing the risk of stroke in patients with atrial fibrillation including nonrheumatic atrial fibrillation, for reducing the risk of embolism associated with mechanical heart valves and or mitral valves disease. Other uses for the therapeutics of the invention, alone or in combination with antiplatelet, anticoagulant, and/or thrombolytic drugs, include, but are not limited to, the prevention of occlusions in extracorporeal devices (e.g., intravascular canulas, vascular access shunts in hemodialysis patients, hemodialysis machines, and

WO 02/02587

PCT/US01/20917

cardiopulmonary bypass machines).

[1036] In certain embodiments, Therapeutics of the invention are administered in combination with antiretroviral agents, nucleoside/nucleotide reverse transcriptase inhibitors (NRTIs), non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs), and/or protease inhibitors (PIs). NRTIs that may be administered in combination with the Therapeutics of the invention, include, but are not limited to, RETROVIR™ (zidovudine/AZT), VIDEX™ (didanosine/ddI), HIVID™ (zalcitabine/ddC), ZERIT™ (stavudine/d4T), EPIVIR™ (lamivudine/3TC), and COMBIVIR™ (zidovudine/lamivudine). NNRTIs that may be administered in combination with the Therapeutics of the invention, include, but are not limited to, VIRAMUNE™ (nevirapine), RESCRIPTOR™ (delavirdine), and SUSTIVA™ (efavirenz). Protease inhibitors that may be administered in combination with the Therapeutics of the invention, include, but are not limited to, CRIVAN™ (indinavir), NORVIR™ (ritonavir), INVIRASE™ (saquinavir), and VIRACEPT™ (nelfinavir). In a specific embodiment, antiretroviral agents, nucleoside reverse transcriptase inhibitors, non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors, and/or protease inhibitors may be used in any combination with Therapeutics of the invention to treat AIDS and/or to prevent or treat HIV infection.

[1037] Additional NRTIs include LODENOSINE™ (F-ddA; an acid-stable adenosine NRTI; Triangle/Abbott); COVIRACIL™ (emtricitabine/FTC; structurally related to lamivudine (3TC) but with 3- to 10-fold greater activity *in vitro*; Triangle/Abbott); dOTC (BCIL-10652, also structurally related to lamivudine but retains activity against a substantial proportion of lamivudine-resistant isolates; Biochem Pharma); Adefovir (refused approval for anti-HIV therapy by FDA; Gilead Sciences); PREVEON® (Adefovir Dipivoxil, the active prodrug of adefovir; its active form is PMEA-pp); TENOFOVIR™ (bis-POC PMPA, a PMPA prodrug; Gilead); DAPD/DXG (active metabolite of DAPD; Triangle/Abbott); D-D4FC (related to 3TC, with activity against AZI/3TC-resistant virus); GW420867X (Glaxo Wellcome); ZIAGEN™ (abacavir/159U89; Glaxo Wellcome Inc.); CS-87 (3'-azido-2',3'-dideoxyuridine; WO 99/66936); and S-acyl-2-thioethyl (SATE)-bearing prodrug forms of β -L-FD4C and β -L-FddC (WO 98/17281).

[1038] Additional NNRTIs include COACTINON™ (Emivirine/MKC-442, potent NNRTI of the HEPT class; Triangle/Abbott); CAPRAVIRINE™ (AG-1549/S-1153, a next generation

WO 02/02587

PCT/US01/20917

NNRTI with activity against viruses containing the K103N mutation; Agouron); PNU-142721 (has 20- to 50-fold greater activity than its predecessor delavirdine and is active against K103N mutants; Pharmacia & Upjohn); DPC-961 and DPC-963 (second-generation derivatives of efavirenz, designed to be active against viruses with the K103N mutation; DuPont); GW-420867X (has 25-fold greater activity than HBV097 and is active against K103N mutants; Glaxo Wellcome); CALANOLIDE A (naturally occurring agent from the latex tree; active against viruses containing either or both the Y181C and K103N mutations); and Propolis (WO 99/49830).

[1039] Additional protease inhibitors include LOPINAVIR™ (ABT378/r; Abbott Laboratories); BMS-232632 (an azapeptide; Bristol-Myers Squibb); TIPRANAVIR™ (PNU-140690, a non-peptic dihydropyrene; Pharmacia & Upjohn); PD-178390 (a nonpeptidic dihydropyrene; Parke-Davis); BMS 232632 (an azapeptide; Bristol-Myers Squibb); L-756,423 (an indinavir analog; Merck); DMP-450 (a cyclic urea compound; Avid & DuPont); AG-1776 (a peptidomimetic with *in vitro* activity against protease inhibitor-resistant viruses; Agouron); VX-175/GW-433908 (phosphate prodrug of amprenavir; Vertex & Glaxo Wellcome); CGP61755 (Ciba); and AGENERASE™ (amprenavir; Glaxo Wellcome Inc.).

[1040] Additional antiretroviral agents include fusion inhibitors/gp41 binders. Fusion inhibitors/gp41 binders include T-20 (a peptide from residues 643-678 of the HIV gp41 transmembrane protein ectodomain which binds to gp41 in its resting state and prevents transformation to the fusogenic state; Trimeris) and T-1249 (a second-generation fusion inhibitor; Trimeris).

[1041] Additional antiretroviral agents include fusion inhibitors/chemokine receptor antagonists. Fusion inhibitors/chemokine receptor antagonists include CXCR4 antagonists such as AMD 3100 (a bicyclam), SDF-1 and its analogs, and ALX40-4C (a cationic peptide), T22 (an 18 amino acid peptide; Trimeris) and the T22 analogs T134 and T140; CCR5 antagonists such as RANTES (9-68), AOP-RANTES, NNY-RANTES, and TAK-779; and CCR5/CXCR4 antagonists such as NSC 651016 (a distamycin analog). Also included are CCR2B, CCR3, and CCR6 antagonists. Chemokine receptor agonists such as RANTES, SDF-1, MIP-1 α , MIP-1 β , etc., may also inhibit fusion.

[1042] Additional antiretroviral agents include integrase inhibitors. Integrase inhibitors include dicaffeoylquinic (DFQA) acids; L-chloric acid (a dicaffeoyltartaric (DCTA) acid);

WO 02/02587

PCT/US01/20917

quinazolin (QLC) and related anthraquinones; ZINTEVIR™ (AR 177, an oligonucleotide that probably acts at cell surface rather than being a true integrase inhibitor; Arondex); and naphthols such as those disclosed in WO 98/50347.

[1043] Additional antiretroviral agents include hydroxyurea-like compounds such as BCX-34 (a purine nucleoside phosphorylase inhibitor; Biocryst); ribonucleotide reductase inhibitors such as DIDOX™ (Molecules for Health); inosine monophosphate dehydrogenase (IMPDH) inhibitors such as VX-497 (Vertex); and mycopholic acids such as CellCept (mycophenolate mofetil; Roche).

[1044] Additional antiretroviral agents include inhibitors of viral integrase, inhibitors of viral genome nuclear translocation such as arylene bis(methylketone) compounds; inhibitors of HIV entry such as AOP-RANTES, NNY-RANTES, RANTES-IgG fusion protein, soluble complexes of RANTES and glycosaminoglycans (GAG), and AMD-3100; nucleocapsid zinc finger inhibitors such as dithiane compounds; targets of HIV Tat and Rcv; and pharmacoenhancers such as ABT-378.

[1045] Other antiretroviral therapies and adjunct therapies include cytokines and lymphokines such as MIP-1 α , MIP-1 β , SDF-1 α , IL-2, PROLEUKIN™ (aldesleukin/L2-7001; Chiron), IL-4, IL-10, IL-12, and IL-13; interferons such as IFN- α 2a; antagonists of TNFs, NF κ B, GM-CSF, M-CSF, and IL-10; agents that modulate immune activation such as cyclosporin and prednisone; vaccines such as Remune™ (HIV Immunogen), APL 400-003 (Apollon), recombinant gp120 and fragments, bivalent (B/E) recombinant envelope glycoprotein, rgp120CM235, MN rgp120, SF-2 rgp120, gp120/soluble CD4 complex, Delta JR-FL protein, branched synthetic peptide derived from discontinuous gp120 C3/C4 domain, fusion-competent immunogens, and Gag, Pol, Nef, and Tat vaccines; gene-based therapies such as genetic suppressor elements (GSEs; WO 98/54366), and intrakines (genetically modified CC chemokines targeted to the ER to block surface expression of newly synthesized CCR5 (Yang *et al.*, *PNAS* 94:11567-72 (1997); Chen *et al.*, *Nat. Med.* 3:1110-16 (1997)); antibodies such as the anti-CXCR4 antibody 12G5, the anti-CCR5 antibodies 2D7, 5C7, PA8, PA9, PA10, PA11, PA12, and PA14, the anti-CD4 antibodies Q4120 and RPA-T4, the anti-CCR3 antibody 7B11, the anti-gp120 antibodies 17b, 48d, 447-52D, 257-D, 268-D and 50.1, anti-Tat antibodies, anti-TNF- α antibodies, and monoclonal antibody 33A; aryl hydrocarbon (AH) receptor agonists and antagonists such as TCDD, 3,3',4,4',5-

WO 02/02587

PCT/US01/20917

pentachlorobiphenyl, 3,3',4,4'-tetrachlorobiphenyl, and α -naphthoflavone (WO 98/30213); and antioxidants such as γ -L-glutamyl-L-cysteine ethyl ester (γ -GCE; WO 99/56764).

[1046] In a further embodiment, the Therapeutics of the invention are administered in combination with an antiviral agent. Antiviral agents that may be administered with the Therapeutics of the invention include, but are not limited to, acyclovir, ribavirin, amantadine, and remantidine.

[1047] In other embodiments, Therapeutics of the invention may be administered in combination with anti-opportunistic infection agents. Anti-opportunistic agents that may be administered in combination with the Therapeutics of the invention, include, but are not limited to, TRIMETHOPRIM-SULFAMETHOXAZOLE™, DAPSONE™, PENTAMIDINE™, ATOVAQUONE™, ISONIAZID™, RIFAMPIN™, PYRAZINAMIDE™, ETHAMBUTOL™, RIFABUTIN™, CLARITHROMYCIN™, AZITHROMYCIN™, GANCICLOVIR™, FOSCARNET™, CIDOFOVIR™, FLUCONAZOLE™, ITRACONAZOLE™, KETOCONAZOLE™, ACYCLOVIR™, FAMCICLOVIR™, PYRIMETHAMINE™, LEUCOVORIN™, NEUPOGEN™ (filgrastim/G-CSF), and LEUKINE™ (sargramostim/GM-CSF). In a specific embodiment, Therapeutics of the invention are used in any combination with TRIMETHOPRIM-SULFAMETHOXAZOLE™, DAPSONE™, PENTAMIDINE™, and/or ATOVAQUONE™ to prophylactically treat or prevent an opportunistic *Pneumocystis carinii* pneumonia infection. In another specific embodiment, Therapeutics of the invention are used in any combination with ISONIAZID™, RIFAMPIN™, PYRAZINAMIDE™, and/or ETHAMBUTOL™ to prophylactically treat or prevent an opportunistic *Mycobacterium avium* complex infection. In another specific embodiment, Therapeutics of the invention are used in any combination with RIFABUTIN™, CLARITHROMYCIN™, and/or AZITHROMYCIN™ to prophylactically treat or prevent an opportunistic *Mycobacterium tuberculosis* infection. In another specific embodiment, Therapeutics of the invention are used in any combination with GANCICLOVIR™, FOSCARNET™, and/or CIDOFOVIR™ to prophylactically treat or prevent an opportunistic cytomegalovirus infection. In another specific embodiment, Therapeutics of the invention are used in any combination with FLUCONAZOLE™, ITRACONAZOLE™, and/or KETOCONAZOLE™ to prophylactically treat or prevent an opportunistic fungal infection. In another specific embodiment, Therapeutics of the invention are used in any combination

WO 02/02587

PCT/US01/20917

with ACYCLOVIR™ and/or FANCICOLVIR™ to prophylactically treat or prevent an opportunistic herpes simplex virus type I and/or type II infection. In another specific embodiment, Therapeutics of the invention are used in any combination with PYRIMETHAMINE™ and/or LEUCOVORIN™ to prophylactically treat or prevent an opportunistic *Toxoplasma gondii* infection. In another specific embodiment, Therapeutics of the invention are used in any combination with LEUCOVORIN™ and/or NEUPOGEN™ to prophylactically treat or prevent an opportunistic bacterial infection.

[1048] In a further embodiment, the Therapeutics of the invention are administered in combination with an antibiotic agent. Antibiotic agents that may be administered with the Therapeutics of the invention include, but are not limited to, amoxicillin, beta-lactamases, aminoglycosides, beta-lactam (glycopeptide), beta-lactamases, Clindamycin, chloramphenicol, cephalosporins, ciprofloxacin, erythromycin, fluoroquinolones, macrolides, metronidazole, penicillins, quinolones, rapamycin, rifampin, streptomycin, sulfonamide, tetracyclines, trimethoprim, trimethoprim-sulfamethoxazole, and vancomycin.

[1049] In other embodiments, the Therapeutics of the invention are administered in combination with immunostimulants. Immunostimulants that may be administered in combination with the Therapeutics of the invention include, but are not limited to, levamisole (e.g., ERGAMISOL™), isoprinosine (e.g. INOSIPLEX™), interferons (e.g. interferon alpha), and interleukins (e.g., IL-2).

[1050] In other embodiments, Therapeutics of the invention are administered in combination with immunosuppressive agents. Immunosuppressive agents that may be administered in combination with the Therapeutics of the invention include, but are not limited to, steroids, cyclosporine, cyclosporine analogs, cyclophosphamide, methylprednisone, prednisone, azathioprine, FK-506, 15-deoxyspergualin, and other immunosuppressive agents that act by suppressing the function of responding T cells. Other immunosuppressive agents that may be administered in combination with the Therapeutics of the invention include, but are not limited to, prednisolone, methotrexate, thalidomide, methoxsalen, rapamycin, leflunomide, mizoribine (BREDININ™), brequinar, deoxyspergualin, and azaspirane (SKF 105685), ORITHOCLONE OKT® 3 (muromonab-CD3), SANDIMMUNE™, NEORAL™, SANGDYA™ (cyclosporine), PROGRAF® (FK506, tacrolimus), CELLCEPT® (mycophenolate mofetil, of which the active metabolite is mycophenolic acid), IMURAN™ (azathioprine), glucocorticosteroids, adrenocortical steroids

WO 02/02587

PCT/US01/20917

such as DELTASONE™ (prednisone) and HYDELTRASOL™ (prednisolone), POLEX™ and MEXATE™ (methotrexate), OXSORALEN-ULTRA™ (methoxsalen) and RAPAMUNE™ (sirolimus). In a specific embodiment, immunosuppressants may be used to prevent rejection of organ or bone marrow transplantation.

[1051] In an additional embodiment, Therapeutics of the invention are administered alone or in combination with one or more intravenous immune globulin preparations. Intravenous immune globulin preparations that may be administered with the Therapeutics of the invention include, but not limited to, GAMMAR™, IVEEGAM™, SANDOGLOBULIN™, GAMMAGARD S/D™, ATGAM™ (antithymocyte globulin), and GAMMUNE™. In a specific embodiment, Therapeutics of the invention are administered in combination with intravenous immune globulin preparations in transplantation therapy (e.g., bone marrow transplant).

[1052] In certain embodiments, the Therapeutics of the invention are administered alone or in combination with an anti-inflammatory agent. Anti-inflammatory agents that may be administered with the Therapeutics of the invention include, but are not limited to, corticosteroids (e.g. betamethasone, budesonide, cortisone, dexamethasone, hydrocortisone, methylprednisolone, prednisolone, prednisone, and triamcinolone), nonsteroidal anti-inflammatory drugs (e.g., diclofenac, diflunisal, etodolac, fenoprofen, floctafenine, flurbiprofen, ibuprofen, indomethacin, ketoprofen, meclofenamate, mefenamic acid, meloxicam, nabumetone, naproxen, oxaprozin, phenylbutazone, piroxicam, sulindac, tenoxicam, tiaprofenic acid, and tolmetin.), as well as antihistamines, aminoarylcarboxylic acid derivatives, arylacetic acid derivatives, arylbutyric acid derivatives, arylcarboxylic acids, arylpropionic acid derivatives, pyrazoles, pyrazolones, salicylic acid derivatives, thiazinecarboxamides, *o*-acetamidocaproic acid, S-adenosylmethionine, 3-amino-4-hydroxybutyric acid, amixetrine, bendazac, benzydamine, bucolome, difenpiramide, ditazol, emorfazone, guaiazulene, nabumetone, nimesulide, orgetein, oxaceprol, paranyline, perisoxal, pifoxime, proquazone, proxazole, and tenidap.

[1053] In an additional embodiment, the compositions of the invention are administered alone or in combination with an anti-angiogenic agent. Anti-angiogenic agents that may be administered with the compositions of the invention include, but are not limited to, Angiostatin (Entremed, Rockville, MD), Troponin-1 (Boston Life Sciences, Boston, MA), anti-Invasive Factor, retinoic acid and derivatives thereof, paclitaxel (Taxol), Suremin, Tissue

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Inhibitor of Metalloproteinase-1, Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-2, VEI, Plasminogen Activator Inhibitor-1, Plasminogen Activator Inhibitor-2, and various forms of the lighter "d group" transition metals.

[1054] Lighter "d group" transition metals include, for example, vanadium, molybdenum, tungsten, titanium, niobium, and tantalum species. Such transition metal species may form transition metal complexes. Suitable complexes of the above-mentioned transition metal species include oxo transition metal complexes.

[1055] Representative examples of vanadium complexes include oxo vanadium complexes such as vanadate and vanadyl complexes. Suitable vanadate complexes include metavanadate and orthovanadate complexes such as, for example, ammonium metavanadate, sodium metavanadate, and sodium orthovanadate. Suitable vanadyl complexes include, for example, vanadyl acetylacetonate and vanadyl sulfate including vanadyl sulfate hydrates such as vanadyl sulfate mono- and trihydrates.

[1056] Representative examples of tungsten and molybdenum complexes also include oxo complexes. Suitable oxo tungsten complexes include tungstate and tungsten oxide complexes. Suitable tungstate complexes include ammonium tungstate, calcium tungstate, sodium tungstate dihydrate, and tungstic acid. Suitable tungsten oxides include tungsten (IV) oxide and tungsten (VI) oxide. Suitable oxo molybdenum complexes include molybdate, molybdenum oxide, and molybdenyl complexes. Suitable molybdate complexes include ammonium molybdate and its hydrates, sodium molybdate and its hydrates, and potassium molybdate and its hydrates. Suitable molybdenum oxides include molybdenum (VI) oxide, molybdenum (VI) oxide, and molybdic acid. Suitable molybdenyl complexes include, for example, molybdenyl acetylacetonate. Other suitable tungsten and molybdenum complexes include hydroxo derivatives derived from, for example, glycerol, tartaric acid, and sugars.

[1057] A wide variety of other anti-angiogenic factors may also be utilized within the context of the present invention. Representative examples include, but are not limited to, platelet factor 4; protamine sulphate; sulphated chitin derivatives (prepared from queen crab shells), (Murata et al., *Cancer Res.* 51:22-26, (1991)); Sulphated Polysaccharide Peptidoglycan Complex (SP- PG) (the function of this compound may be enhanced by the presence of steroids such as estrogen, and tamoxifen citrate); Staurosporine; modulators of matrix metabolism, including for example, proline analogs, cishydroxyproline, d,L-3,4-dehydroproline, Thiaproline, alpha,alpha-dipyridyl, aminopropionitrile fumarate; 4-propyl-5-

WO 02/02587

PCT/US01/20917

(4-pyridinyl)-2(3H)-oxazolone, Methotrexate, Mitoxantrone, Heparin, Interferons; 2 Macroglobulin-serum; ChIMP-3 (Pavloff et al., *J. Bio. Chem.* 267:17321-17326, (1992)); Chymostatin (Tomkinson et al., *Biochem J.* 286:475-480, (1992)); Cyclodextrin Tetradesulfate; Eponenycin, Camptothecin; Fungigillin (Ingber et al., *Nature* 348:555-557, (1990)); Gold Sodium Thiomalate ("GST"; Matsubara and Ziff, *J. Clin. Invest.* 79:1440-1446, (1987)); anticollagenase-serum; alpha2-antiplasmin (Holmes et al., *J. Biol. Chem.* 262(4):1659-1664, (1987)); Bisantrene (National Cancer Institute); Lobenzarit disodium (N-(2)-carboxyphenyl-4-chloroanthranilic acid disodium or "CCA"; (Takeuchi et al., *Agents Actions* 36:312-316, (1992)); and metalloproteinase inhibitors such as BB94.

[1058] Additional anti-angiogenic factors that may also be utilized within the context of the present invention include Thalidomide, (Celgene, Warren, NJ); Angiostatic steroid; AGM-1470 (H. Brem and J. Folkman *J. Pediatr. Surg.* 28:445-51 (1993)); an integrin alpha v beta 3 antagonist (C. Storgard et al., *J. Clin. Invest.* 103:47-54 (1999)); carboxynaminimidazole; Carboxyamidotriazole (CAI) (National Cancer Institute, Bethesda, MD); Combretastatin A-4 (CA4P) (OXIGENE, Boston, MA); Squalamine (Magainin Pharmaceuticals, Plymouth Meeting, PA); TNP-470, (Tap Pharmaceuticals, Deerfield, IL); ZD-0101 AstraZeneca (London, UK); APRA (CT2584); Bencfin, Byrostatin-I (SC339555); CGP-41251 (PKC 412); CM101; Dextrazoxane (ICRF187); DMXAA; Endostatin; Flavopridol; Genestein; GTE; ImmThar; Iressa (ZD1839); Octreotide (Somatostatin); Panretin; Penicillamine; Photopoint; PI-88; Prinomastat (AG-3340) Purlytin; Suradista (FCE26644); Tamoxifen (Nolvadex); Tazarotene; Tetrathiomolybdate; Xeloda (Capecitabine); and 5-Fluorouracil.

[1059] Anti-angiogenic agents that may be administered in combination with the compounds of the invention may work through a variety of mechanisms including, but not limited to, inhibiting proteolysis of the extracellular matrix, blocking the function of endothelial cell-extracellular matrix adhesion molecules, by antagonizing the function of angiogenesis inducers such as growth factors, and inhibiting integrin receptors expressed on proliferating endothelial cells. Examples of anti-angiogenic inhibitors that interfere with extracellular matrix proteolysis and which may be administered in combination with the compositions of the invention include, but are not limited to, AG-3340 (Agouron, La Jolla, CA), BAY-12-9566 (Bayer, West Haven, CT), BMS-275291 (Bristol Myers Squibb, Princeton, NJ), CGS-27032A (Novartis, East Hanover, NJ), Marimastat (British Biotech,

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Oxford, UK), and Metastat (Aeterna, St-Foy, Quebec). Examples of anti-angiogenic inhibitors that act by blocking the function of endothelial cell-extracellular matrix adhesion molecules and which may be administered in combination with the compositions of the invention include, but are not limited to, EMD-121974 (Merck KegaA Darmstadt, Germany) and Vitaxin (Xsys, La Jolla, CA/Medimmune, Gaithersburg, MD). Examples of anti-angiogenic agents that act by directly antagonizing or inhibiting angiogenesis inducers and which may be administered in combination with the compositions of the invention include, but are not limited to, Angiozyme (Ribozyme, Boulder, CO), Anti-VEGF antibody (Genentech, S. San Francisco, CA), PTK-787/ZK-225846 (Novartis, Basel, Switzerland), SU-101 (Sugen, S. San Francisco, CA), SU-5416 (Sugen/ Pharmacia Upjohn, Bridgewater, NJ), and SU-6668 (Sugen). Other anti-angiogenic agents act to indirectly inhibit angiogenesis. Examples of indirect inhibitors of angiogenesis which may be administered in combination with the compositions of the invention include, but are not limited to, IM-862 (Cytran, Kirkland, WA), Interferon-alpha, IL-12 (Roche, Nutley, NJ), and Pentosan polysulfate (Georgetown University, Washington, DC).

[1060] In particular embodiments, the use of compositions of the invention in combination with anti-angiogenic agents is contemplated for the treatment, prevention, and/or amelioration of an autoimmune disease, such as for example, an autoimmune disease described herein.

[1061] In a particular embodiment, the use of compositions of the invention in combination with anti-angiogenic agents is contemplated for the treatment, prevention, and/or amelioration of arthritis. In a more particular embodiment, the use of compositions of the invention in combination with anti-angiogenic agents is contemplated for the treatment, prevention, and/or amelioration of rheumatoid arthritis.

[1062] In another embodiment, the polynucleotides encoding a polypeptide of the present invention are administered in combination with an angiogenic protein, or polynucleotides encoding an angiogenic protein. Examples of angiogenic proteins that may be administered with the compositions of the invention include, but are not limited to, acidic and basic fibroblast growth factors, VEGF-1, VEGF-2, VEGF-3, epidermal growth factor alpha and beta, platelet-derived endothelial cell growth factor, platelet-derived growth factor, tumor necrosis factor alpha, hepatocyte growth factor, insulin-like growth factor, colony stimulating

factor, macrophage colony stimulating factor, granulocyte/macrophage colony stimulating factor, and nitric oxide synthase.

[1063] In additional embodiments, compositions of the invention are administered in combination with a chemotherapeutic agent. Chemotherapeutic agents that may be administered with the Therapeutics of the invention include, but are not limited to alkylating agents such as nitrogen mustards (for example, Mechlorethamine, cyclophosphamide, Cyclophosphamide Ifosfamide, Melphalan (L-sarcosine), and Chlorambucil), ethylenimines and methylmelamines (for example, Hexamethylmelamine and Thiotepa), alkyl sulfonates (for example, Busulfan), nitrosoureas (for example, Carmustine (BCNU), Lomustine (CCNU), Semustine (methyl-CCNU), and Streptozocin (streptozotocin)), triazines (for example, Dacarbazine (DTIC; dimethyltriazeneimidazolecarboxamide)), folic acid analogs (for example, Methotrexate (amethopterin)), pyrimidine analogs (for example, Fluorouracil (5-fluorouracil); 5-FU), Floxuridine (fluorodeoxyuridine; FudR), and Cytarabine (cytosine arabinoside)), purine analogs and related inhibitors (for example, Mercaptopurine (6-mercaptopurine; 6-MP), Thioguanine (6-thioguanine; TG), and Pentostatin (2'-deoxycoformycin)), vinca alkaloids (for example, Vinblastine (VLB, vinblastine sulfate) and Vincristine (vincristine sulfate)), epipodophyllotoxins (for example, Etoposide and Teniposide), antibiotics (for example, Dactinomycin (actinomycin D), Daunorubicin (daunomycin; rubidomycin), Doxorubicin, Bleomycin, Plicamycin (mithramycin), and Mitomycin (mitomycin C), enzymes (for example, L-Asparaginase), biological response modifiers (for example, Interferon-alpha and interferon-alpha-2b), platinum coordination compounds (for example, Cisplatin (cis-DDP) and Carboplatin), anthracenedione (Mitoxantrone), substituted ureas (for example, Hydroxyurea), methylhydrazine derivatives (for example, Procarbazine (N-methylhydrazine; MH), adrenocorticosteroids (for example, Prednisone), progestins (for example, Hydroxyprogesterone caproate, Medroxyprogesterone, Medroxyprogesterone acetate, and Megestrol acetate), estrogens (for example, Diethylstilbestrol (DES), Diethylstilbestrol diphosphate, Estradiol, and Ethinyl estradiol), antiestrogens (for example, Tamoxifen), androgens (Testosterone propionate, and Fluoxymesterone), antiandrogens (for example, Flutamide), gonadotropin-releasing hormone analogs (for example, Leuprolide), other hormones and hormone analogs (for example, methyltestosterone, estramustine, estramustine phosphate sodium, chlorotrianisene, and testolactone), and others (for example, dicarbazine, glutamic acid, and mitotane).

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[1064] In one embodiment, the compositions of the invention are administered in combination with one or more of the following drugs: infliximab (also known as Remicade™ Centocor, Inc.), Trocade (Roche, RO-32-3555), Leflunomide (also known as Arava™ from Hoechst Marion Roussel), Kineret™ (an IL-1 Receptor antagonist also known as Anakinra from Amgen, Inc.)

[1065] In a specific embodiment, compositions of the invention are administered in combination with CHOP (cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone) or combination of one or more of the components of CHOP. In one embodiment, the compositions of the invention are administered in combination with anti-CD20 antibodies, human monoclonal anti-CD20 antibodies. In another embodiment, the compositions of the invention are administered in combination with anti-CD20 antibodies and CHOP, or anti-CD20 antibodies and any combination of one or more of the components of CHOP, particularly cyclophosphamide and/or prednisone. In a specific embodiment, compositions of the invention are administered in combination with Rituximab. In a further embodiment, compositions of the invention are administered with Rituximab and CHOP, or Rituximab and any combination of one or more of the components of CHOP, particularly cyclophosphamide and/or prednisone. In a specific embodiment, compositions of the invention are administered in combination with tositumomab. In a further embodiment, compositions of the invention are administered with tositumomab and CHOP, or tositumomab and any combination of one or more of the components of CHOP, particularly cyclophosphamide and/or prednisone. The anti-CD20 antibodies may optionally be associated with radioisotopes, toxins or cytotoxic prodrugs.

[1066] In another specific embodiment, the compositions of the invention are administered in combination Zevalin™. In a further embodiment, compositions of the invention are administered with Zevalin™ and CHOP, or Zevalin™ and any combination of one or more of the components of CHOP, particularly cyclophosphamide and/or prednisone. Zevalin™ may be associated with one or more radioisotopes. Particularly preferred isotopes are ⁹⁰Y and ¹¹¹In.

[1067] In an additional embodiment, the Therapeutics of the invention are administered in combination with cytokines. Cytokines that may be administered with the Therapeutics of the invention include, but are not limited to, IL2, IL3, IL4, IL5, IL6, IL7, IL10, IL12, IL13, IL15, anti-CD40, CD40L, IFN-gamma and TNF-alpha. In another embodiment,

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Therapeutics of the invention may be administered with any interleukin, including, but not limited to, IL-1alpha, IL-1beta, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-14, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, IL-19, IL-20, and IL-21.

[1068] In one embodiment, the Therapeutics of the invention are administered in combination with members of the TNF family. TNF, TNF-related or TNF-like molecules that may be administered with the Therapeutics of the invention include, but are not limited to, soluble forms of TNF-alpha, lymphotoxin-alpha (LT-alpha, also known as TNF-beta), LT-beta (found in complex heterotrimer LT-alpha2-beta), OPGL, FasL, CD27L, CD30L, CD40L, 4-1BBL, DeR3, OX40L, TNF-gamma (International Publication No. WO 96/14328), AIM-1 (International Publication No. WO 97/33899), endokine-alpha (International Publication No. WO 98/07880), OPG, and neutrokin-alpha (International Publication No. WO 98/18921), OX40, and nerve growth factor (NGF), and soluble forms of Fas, CD30, CD27, CD40 and 4-1BB, TR2 (International Publication No. WO 96/34095), DR3 (International Publication No. WO 97/33904), DR4 (International Publication No. WO 98/32856), TR5 (International Publication No. WO 98/30693), TRANK, TR9 (International Publication No. WO 98/56892), TR10 (International Publication No. WO 98/54202), 312C2 (International Publication No. WO 98/06842), and TR12, and soluble forms CD154, CD70, and CD153.

[1069] In an additional embodiment, the Therapeutics of the invention are administered in combination with angiogenic proteins. Angiogenic proteins that may be administered with the Therapeutics of the invention include, but are not limited to, Glioma Derived Growth Factor (GDGF), as disclosed in European Patent Number EP-399816; Platelet Derived Growth Factor-A (PDGF-A), as disclosed in European Patent Number EP-682110; Platelet Derived Growth Factor-B (PDGF-B), as disclosed in European Patent Number EP-282317; Placental Growth Factor (PlGF), as disclosed in International Publication Number WO 92/06194; Placental Growth Factor-2 (PlGF-2), as disclosed in Hauser et al., Growth Factors, 4:259-268 (1993); Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), as disclosed in International Publication Number WO 90/13649; Vascular Endothelial Growth Factor-A (VEGF-A), as disclosed in European Patent Number EP-506477; Vascular Endothelial Growth Factor-2 (VEGF-2), as disclosed in International Publication Number WO 96/39515; Vascular Endothelial Growth Factor B (VEGF-3); Vascular Endothelial Growth Factor B-186 (VEGF-B186), as disclosed in International Publication Number WO 96/26736; Vascular Endothelial

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Growth Factor-D (VEGF-D), as disclosed in International Publication Number WO 98/02543; Vascular Endothelial Growth Factor-D (VEGF-D), as disclosed in International Publication Number WO 98/07832; and Vascular Endothelial Growth Factor-E (VEGF-E), as disclosed in German Patent Number DE19639601. The above mentioned references are herein incorporated by reference in their entireties.

[1070] In an additional embodiment, the Therapeutics of the invention are administered in combination with Fibroblast Growth Factors. Fibroblast Growth Factors that may be administered with the Therapeutics of the invention include, but are not limited to, FGF-1, FGF-2, FGF-3, FGF-4, FGF-5, FGF-6, FGF-7, FGF-8, FGF-9, FGF-10, FGF-11, FGF-12, FGF-13, FGF-14, and FGF-15.

[1071] In an additional embodiment, the Therapeutics of the invention are administered in combination with hematopoietic growth factors. Hematopoietic growth factors that may be administered with the Therapeutics of the invention include, but are not limited to, granulocyte macrophage colony stimulating factor (GM-CSF) (sargramostim, LEUKINE™, PROKINE™), granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) (filgrastim, NEUPOGEN™), macrophage colony stimulating factor (M-CSF, CSF-1) erythropoietin (epoetin alfa, EPOGEN™, PROCRIPT™), stem cell factor (SCF, c-kit ligand, steel factor), megakaryocyte colony stimulating factor, PLXY321 (a GMCSF/L-3 fusion protein), interleukins, especially any one or more of IL-1 through IL-12, interferon-gamma, or thrombopoietin.

[1072] In certain embodiments, Therapeutics of the present invention are administered in combination with adrenergic blockers, such as, for example, acebutolol, atenolol, betaxolol, bisoprolol, carteolol, labetalol, metoprolol, nadolol, oxprenolol, penbutolol, pindolol, propranolol, sotalol, and timolol.

[1073] In another embodiment, the Therapeutics of the invention are administered in combination with an antiarrhythmic drug (e.g., adenosine, amiodarone, bretylium, digitalis, digoxin, digitoxin, diltiazem, disopyramide, esmolol, flecainide, lidocaine, mexiletine, moricizine, phenytoin, procainamide, N-acetyl procainamide, propafenone, propranolol, quinidine, sotalol, tocainide, and verapamil).

[1074] In another embodiment, the Therapeutics of the invention are administered in combination with diuretic agents, such as carbonic anhydrase-inhibiting agents (e.g., acetazolamide, dichlorphenamide, and methazolamide), osmotic diuretics (e.g., glycerin, isosorbide, mannitol, and urea), diuretics that inhibit Na⁺-K⁺-2Cl⁻ symport (e.g., furosemide,

WO 02/02587

PCT/US01/20917

bumetanide, azosemide, piretanide, triпамide, ethacrynic acid, muzolimine, and torsemide), thiazide and thiazide-like diuretics (e.g., bendroflumethiazide, benzthiazide, chlorothiazide, hydrochlorothiazide, hydroflumethiazide, methyclothiazide, polythiazide, trichormothiazide, chlorthalidone, indapamide, metolazone, and quinethazone), potassium sparing diuretics (e.g., amiloride and triamterene), and mineralcorticoid receptor antagonists (e.g., spironolactone, canrenone, and potassium canrenoate).

[1075] In one embodiment, the Therapeutics of the invention are administered in combination with treatments for endocrine and/or hormone imbalance disorders. Treatments for endocrine and/or hormone imbalance disorders include, but are not limited to, ^{127}I , radioactive isotopes of iodine such as ^{131}I and ^{123}I ; recombinant growth hormone, such as HUMATROPE™ (recombinant somatotropin); growth hormone analogs such as PROTROPIN™ (somatrem); dopamine agonists such as PARLODEL™ (bromocriptine); somatostatin analogs such as SANDOSTATIN™ (octreotide); gonadotropin preparations such as PREGNYL™, A.P.L.™ and PROFASI™ (chorionic gonadotropin (CG)), PERGONAL™ (menotropins), and METRODIN™ (urofollitropin (uFSH)); synthetic human gonadotropin releasing hormone preparations such as FACTREL™ and LUTREPULSE™ (gonadorelin hydrochloride); synthetic gonadotropin agonists such as LUPRON™ (leuprolide acetate), SUPPRELIN™ (histrelin acetate), SYNAREL™ (nafarelin acetate), and ZOLADEX™ (goserelin acetate); synthetic preparations of thyrotropin-releasing hormone such as RELEFACT TRH™ and TIRYPINONE™ (protirelin); recombinant human TSH such as THYROGEN™; synthetic preparations of the sodium salts of the natural isomers of thyroid hormones such as L-T₄™, SYNTHROID™ and LEVOTHIROID™ (levothyroxine sodium), L-T₃™, CYTOMEL™ and TRIOSTAT™ (lithiothyroine sodium), and THYROLAR™ (liotrix); antithyroid compounds such as 6-*n*-propylthiouracil (propylthiouracil), 1-methyl-2-mercaptoimidazole and TAPAZOLE™ (methimazole), NEO-MERCAZOLE™ (carbimazole); beta-adrenergic receptor antagonists such as propranolol and esmolol; Ca²⁺ channel blockers; dexamethasone and iodinated radiological contrast agents such as TELEPAQUB™ (iopanoic acid) and ORAGRAFIN™ (sodium ipodate).

[1076] Additional treatments for endocrine and/or hormone imbalance disorders include, but are not limited to, estrogens or conjugated estrogens such as ESTRACE™ (estradiol), ESTINYL™ (ethinyl estradiol), PREMARIN™, ESTRATAB™, ORTHO-EST™, OGEN™

WO 02/02587

PCT/US01/20917

and estropipate (estrone), ESTROVIS™ (quinestrol), ESTRADERM™ (estradiol), DELESTROGEN™ and VALERGEN™ (estradiol valerate), DEPO-ESTRADIOL CYPIONATE™ and ESTROJECT LA™ (estradiol cypionate); antiestrogens such as NOLVADEX™ (tamoxifen), SEROPHENE™ and CLOMID™ (clomiphene); progestins such as DURALUTIN™ (hydroxyprogesterone caproate), MPA™ and DEPO-PROVERA™ (medroxyprogesterone acetate), PROVERA™ and CYCRIN™ (MPA), MEGACE™ (megestrol acetate), NORLUTIN™ (norethindrone), and NORLUTATE™ and AYGESTIN™ (norethindrone acetate); progesterone implants such as NORPLANT SYSTEM™ (subdermal implants of norgestrel); antiprogestins such as RU 486™ (mifepristone); hormonal contraceptives such as ENOVID™ (norethynodrel plus mestranol), PROGESTASERT™ (intrauterine device that releases progesterone), LOESTRIN™, BREVICON™, MODICON™, GENORA™, NELONA™, NORINYL™, OVACON-35™ and OVACON-50™ (ethinyl estradiol/norethindrone), LEVLEN™, NORDETTE™, TRI-LEVLEN™ and TRIPHASIL-21™ (ethinyl estradiol/levonorgestrel) LO/OVRAL™ and OVRAL™ (ethinyl estradiol/norgestrel), DEMULEN™ (ethinyl estradiol/ethynodiol diacetate), NORINYL™, ORTHO-NOVUM™, NORETHIN™, GENORA™, and NELOVA™ (norethindrone/mestranol), DESOGEN™ and ORTHO-CEPT™ (ethinyl estradiol/desogestrel), ORTHO-CYCLEN™ and ORTHO-TRICYCLEN™ (ethinyl estradiol/norgestimate), MICRONOR™ and NOR-QD™ (norethindrone), and OVRETIE™ (norgestrel).

[1077] Additional treatments for endocrine and/or hormone imbalance disorders include, but are not limited to, testosterone esters such as methenolone acetate and testosterone undecanoate; parenteral and oral androgens such as TESTOJECT-50™ (testosterone), TESTEX™ (testosterone propionate), DELATESTRYL™ (testosterone enanthate), DEPO-TESTOSTERONE™ (testosterone cypionate), DANOCRINE™ (danazol), HALOTESTIN™ (fluoxymesterone), ORETON METHYL™, TESTRED™ and VIRILON™ (methyltestosterone), and OXANDRIN™ (oxandrolone); testosterone transdermal systems such as TESTODERM™; androgen receptor antagonist and 5-alpha-reductase inhibitors such as ANDROCUR™ (cyproterone acetate), EULEXIN™ (flutamide), and PROSCAR™ (finasteride); adrenocorticotropic hormone preparations such as CORTROSYN™

WO 02/02587

PCT/US01/20917

(cosyntropin); adrenocortical steroids and their synthetic analogs such as ACLOVATE™ (acloemetasone dipropionate), CYCLOCORT™ (aminonide), BECLOVENT™ and VANCERIL™ (beclomethasone dipropionate), CELESTONE™ (betamethasone), BENISON™ and UTICORT™ (betamethasone benzoate), DIPROSONE™ (betamethasone dipropionate), CELESTONE PHOSPHATE™ (betamethasone sodium phosphate), CELESTONE SOLUSPAN™ (betamethasone sodium phosphate and acetate), BETA-VAL™ and VALISON™ (betamethasone valerate), TEMOVATE™ (clobetasol propionate), CLODERM™ (clocortolone pivalate), CORTEF™ and HYDROCORTONE™ (cortisol (hydrocortisone)), HYDROCORTONE ACETATE™ (cortisol (hydrocortisone) acetate), LOCOID™ (cortisol (hydrocortisone) butyrate), HYDROCORTONE PHOSPHATE™ (cortisol (hydrocortisone) sodium phosphate), A-HYDROCORT™ and SOLU CORTEF™ (cortisol (hydrocortisone) sodium succinate), WESTCORT™ (cortisol (hydrocortisone) valerate), CORTISONE ACETATE™ (cortisone acetate), DESOWEN™ and TRIDESILON™ (desonide), TOPICORT™ (desoximetasone), DECADRON™ (dexamethasone), DECADRON LA™ (dexamethasone acetate), DECADRON PHOSPHATE™ and HEXADROL PHOSPHATE™ (dexamethasone sodium phosphate), FLORONE™ and MAXIFLOR™ (diflorasone diacetate), FLORINEF ACETATE™ (fludrocortisone acetate), AEROBID™ and NASALIDE™ (flunisolide), FLUONID™ and SYNALAR™ (flucinolone acetonide), LIDEX™ (fluocinonide), FLUOR-OP™ and FML™ (flurmethalone), CORDRAN™ (flurandrenolide), HALOG™ (halcinonide), HMS LIZUFILM™ (medrysone), MEDROL™ (methylprednisolone), DEPO-MEDROL™ and MBDROL ACETATE™ (methylprednisone acetate), A-METHAPRED™ and SOLUMEDROL™ (methylprednisolone sodium succinate), ELOCON™ (mometasone furoate), HALDRONE™ (paramethasone acetate), DELTA-CORTEF™ (prednisolone), ECONOPRED™ (prednisolone acetate), HYDELTRASOL™ (prednisolone sodium phosphate), HYDELIRA-T.B.A.™ (prednisolone tebutate), DELTASONE™ (prednisone), ARISTOCORT™ and KENACORT™ (triamcinolone), KENALOG™ (triamcinolone acetonide), ARISTOCORT™ and KENACORT DIACETATE™ (triamcinolone diacetate), and ARISTOSPAN™ (triamcinolone hexacetonide); inhibitors of biosynthesis and action of

WO 02/02587

PCT/US01/20917

adrenocortical steroids such as CYTADREN™ (aminoglutethimide), NIZORAL™ (ketoconazole), MODRASTANE™ (trilostane), and METOPIRONE™ (metoprolol);

[1078] Additional treatments for endocrine and/or hormone imbalance disorders include, but are not limited to bovine, porcine or human insulin or mixtures thereof; insulin analogs; recombinant human insulin such as HUMULIN™ and NOVOLIN™; oral hypoglycemic agents such as ORAMIDE™ and ORINASE™ (tolbutamide), DIABINESE™ (chlorpropamide), TOLAMIDE™ and TOLINASE™ (tolazamide), DYMELOR™ (acetohexamide), glibenclamide, MICRONASE™, DIBETA™ and GLYNASE™ (glyburide), GLUCOTROL™ (glipizide), and DIAMICRON™ (gliclazide), GLUCOPHAGE™ (metformin), PRECOSE™ (acarbose), AMARYL™ (glimepiride), and ciglitazone; thiazolidinediones (TZDs) such as rosiglitazone, AVANDIA™ (rosiglitazone maleate) ACTOS™ (pioglitazone), and troglitazone; alpha-glucosidase inhibitors; bovine or porcine glucagon; somatostatins such as SANDOSTATIN™ (octreotide); and diazoxides such as PROGLYCEM™ (diazoxide). In still other embodiments, Therapeutics of the invention are administered in combination with one or more of the following: a biguanide antidiabetic agent, a glitazone antidiabetic agent, and a sulfonylurea antidiabetic agent.

[1079] In one embodiment, the Therapeutics of the invention are administered in combination with treatments for uterine motility disorders. Treatments for uterine motility disorders include, but are not limited to, estrogen drugs such as conjugated estrogens (e.g., PREMARIN® and ESTRATAB®), estradiols (e.g., CLIMARA® and ALORA®), estropipate, and chlorotrianisone; progestin drugs (e.g., AMEN® (medroxyprogesterone), MICRONOR® (norethidrone acetate), PROMETRIUM® progesterone, and megestrol acetate); and estrogen/progesterone combination therapies such as, for example, conjugated estrogens/medroxyprogesterone (e.g., PREMPRO™ and PREMPIASE®) and norethidrone acetate/ethinyl estradiol (e.g., FEMHRT™).

[1080] In an additional embodiment, the Therapeutics of the invention are administered in combination with drugs effective in treating iron deficiency and hypochromic anemias, including but not limited to, ferrous sulfate (iron sulfate, FEOSOL™), ferrous fumarate (e.g., FBOSTAT™), ferrous gluconate (e.g., FERGON™), polysaccharide-iron complex (e.g., NIFEREX™), iron dextran injection (e.g., INFED™), cupric sulfate, pyridoxine, riboflavin, Vitamin B₁₂, cyanocobalamin injection (e.g., REDISOL™, RUBRAMIN PC™),

WO 02/02587

PCT/US01/20917

hydroxocobalamin, folic acid (e.g., FOLVITETM), leucovorin (folic acid, 5-CHOH4PteGlu, citovorom factor) or WELLCOVORIN (Calcium salt of leucovorin), transferrin or ferritin.

[1081] In certain embodiments, the Therapeutics of the invention are administered in combination with agents used to treat psychiatric disorders. Psychiatric drugs that may be administered with the Therapeutics of the invention include, but are not limited to, antipsychotic agents (e.g., chlorpromazine, chlorprothixene, clozapine, fluphenazine, haloperidol, loxapine, mesoridazine, molindone, olanzapine, perphenazine, pimozide, quetiapine, risperidone, thioridazine, thiothixene, trifluoperazine, and triflupromazine), antimanic agents (e.g., carbamazepine, divalproex sodium, lithium carbonate, and lithium citrate), antidepressants (e.g., amitriptyline, amoxapine, bupropion, citalopram, clomipramine, desipramine, doxepin, fluvoxamine, fluoxetine, imipramine, isocarboxazid, maprotiline, mirtazapine, nefazodone, nortriptyline, paroxetine, phenelzine, protriptyline, sertraline, tranlycypromine, trazodone, trimipramine, and venlafaxine), anti-anxiety agents (e.g., alprazolam, buspirone, chlordiazepoxide, clonazepam, diazepam, halazepam, lorazepam, oxazepam, and prazepam), and stimulants (e.g., d-amphetamine, methylphenidate, and pemoline).

[1082] In other embodiments, the Therapeutics of the invention are administered in combination with agents used to treat neurological disorders. Neurological agents that may be administered with the Therapeutics of the invention include, but are not limited to, antiepileptic agents (e.g., carbamazepine, clonazepam, ethosuximide, phenobarbital, phenytoin, primidone, valproic acid, divalproex sodium, felbamate, gabapentin, lamotrigine, levetiracetam, oxcarbazepine, tiagabine, topiramate, zonisamide, diazepam, lorazepam, and clonazepam), antiparkinsonian agents (e.g., levodopa/carbidopa, selegiline, amantadine, bromocriptine, pergolide, ropinirole, pramipexole, benzotropine, biperiden, ethopropazine, procyclidine, trihexyphenidyl, tolcapone), and ALS therapeutics (e.g. riluzole).

[1083] In another embodiment, Therapeutics of the invention are administered in combination with vasodilating agents and/or calcium channel blocking agents. Vasodilating agents that may be administered with the Therapeutics of the invention include, but are not limited to, Angiotensin Converting Enzyme (ACE) inhibitors (e.g., papaverine, isoxsuprine, benazepril, captopril, cilazapril, enalapril, enalaprilat, fosinopril, lisinopril, moexipril, perindopril, quinapril, ramipril, spirapril,trandolapril, and tyldiprin), and nitrates (e.g., isosorbide dinitrate, isosorbide mononitrate, and nitroglycerin). Examples of calcium channel

WO 02/02587

PCT/US01/20917

blocking agents that may be administered in combination with the Therapeutics of the invention include, but are not limited to amlodipine, bepridil, diltiazem, felodipine, flunarizine, isradipine, nicardipine, nifedipine, nimodipine, and verapamil.

[1084] In certain embodiments, the Therapeutics of the invention are administered in combination with treatments for gastrointestinal disorders. Treatments for gastrointestinal disorders that may be administered with the Therapeutic of the invention include, but are not limited to, H₂ histamine receptor antagonists (e.g., TAGAMETTM (cimetidine), ZANTACTM (ranitidine), PEPCIDTM (famotidine), and AXIDTM (nizatidine)); inhibitors of H⁺, K⁺ ATPase (e.g., PREVACIDTM (lansoprazole) and PRILOSECTM (omeprazole)); Bismuth compounds (e.g., PEPTO-BISMOLTM (bismuth subsalicylate) and DE-NOLTM (bismuth subcitrate)); various antacids; sucralfate; prostaglandin analogs (e.g. CYTOTECTM (misoprostol)); muscarinic cholinergic antagonists; laxatives (e.g., surfactant laxatives, stimulant laxatives, saline and osmotic laxatives); antidiarrheal agents (e.g., LOMOTILTM (diphenoxylate), MOTOFENTM (diphenoxin), and IMODIUMTM (loperamide hydrochloride)), synthetic analogs of somatostatin such as SANDOSTATINTM (octreotide), antiemetic agents (e.g., ZOFRANTM (ondansetron), KYTRILTM (granisetron hydrochloride), tropisetron, dolasetron, metoclopramide, chlorpromazine, perphenazine, prochlorperazine, promethazine, thietilperazine, trifluorpromazine, domperidone, haloperidol, droperidol, trimethobenzamide, dexamethasone, methylprednisolone, dronabinol, and nabilone); D₂ antagonists (e.g., metoclopramide, trimethobenzamide and chlorpromazine); bile salts; chenodeoxycholic acid; ursodeoxycholic acid; and pancreatic enzyme preparations such as pancreatin and pancrelipase.

[1085] In additional embodiments, the Therapeutics of the invention are administered in combination with other therapeutic or prophylactic regimens, such as, for example, radiation therapy.

Example 11: Method of Treating Decreased Levels of the Polypeptide

[1086] It will be appreciated that conditions caused by a decrease in the standard or normal expression level of a polypeptide in an individual can be treated by administering the polypeptide of the present invention, preferably in the secreted and/or soluble form. Thus, the invention also provides a method of treatment of an individual in need of an increased

WO 02/02587

PCT/US01/20917

level of the polypeptide comprising administering to such an individual a pharmaceutical composition comprising an amount of the polypeptide to increase the activity level of the polypeptide in such an individual.

[1087] For example, a patient with decreased levels of a polypeptide receives a daily dose 0.1-100 ug/kg of the polypeptide for six consecutive days. Preferably, the polypeptide is in the secreted form. The exact details of the dosing scheme, based on administration and formulation, are provided in Example 10.

Example 12: Method of Treating Increased Levels of the Polypeptide

[1088] Antisense technology is used to inhibit production of a polypeptide of the present invention. This technology is one example of a method of decreasing levels of a polypeptide, preferably a secreted form, due to a variety of etiologies, such as cancer.

[1089] For example, a patient diagnosed with abnormally increased levels of a polypeptide is administered intravenously antisense polynucleotides at 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 and 3.0 mg/kg day for 21 days. This treatment is repeated after a 7-day rest period if the treatment was well tolerated. The antisense polynucleotides of the present invention can be formulated using techniques and formulations described herein (e.g., see Example 10) or otherwise known in the art.

Example 13: Method of Treatment Using Gene Therapy - Ex Vivo

[1090] One method of gene therapy transplants fibroblasts, which are capable of expressing a polypeptide, onto a patient. Generally, fibroblasts are obtained from a subject by skin biopsy. The resulting tissue is placed in tissue-culture medium and separated into small pieces. Small chunks of the tissue are placed on a wet surface of a tissue culture flask, approximately ten pieces are placed in each flask. The flask is turned upside down, closed tight and left at room temperature over night. After 24 hours at room temperature, the flask is inverted and the chunks of tissue remain fixed to the bottom of the flask and fresh media (e.g., Ham's F12 media, with 10% FBS, penicillin and streptomycin) is added. The flasks are then incubated at 37°C for approximately one week.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[1091] At this time, fresh media is added and subsequently changed every several days. After an additional two weeks in culture, a monolayer of fibroblasts emerge. The monolayer is trypsinized and scaled into larger flasks.

[1092] pMV-7 (Kirschmeier, P.T. et al., DNA, 7:219-25 (1988)), flanked by the long terminal repeats of the Moloney murine sarcoma virus, is digested with EcoRI and HindIII and subsequently treated with calf intestinal phosphatase. The linear vector is fractionated on agarose gel and purified, using glass beads.

[1093] The cDNA encoding a polypeptide of the present invention can be amplified using PCR primers which correspond to the 5' and 3' end sequences respectively as set forth in Example 1 using primers and having appropriate restriction sites and initiation/stop codons, if necessary. Preferably, the 5' primer contains an EcoRI site and the 3' primer includes a HindIII site. Equal quantities of the Moloney murine sarcoma virus linear backbone and the amplified EcoRI and HindIII fragment are added together, in the presence of T4 DNA ligase. The resulting mixture is maintained under conditions appropriate for ligation of the two fragments. The ligation mixture is then used to transform bacteria HB101, which are then plated onto agar containing kanamycin for the purpose of confirming that the vector has the gene of interest properly inserted.

[1094] The amphotropic pA317 or CP+am12 packaging cells are grown in tissue culture to confluent density in Dulbecco's Modified Eagles Medium (DMEM) with 10% calf serum (CS), penicillin and streptomycin. The MSV vector containing the gene is then added to the media and the packaging cells transduced with the vector. The packaging cells now produce infectious viral particles containing the gene (the packaging cells are now referred to as producer cells).

[1095] Fresh media is added to the transduced producer cells, and subsequently, the media is harvested from a 10 cm plate of confluent producer cells. The spent media, containing the infectious viral particles, is filtered through a millipore filter to remove detached producer cells and this media is then used to infect fibroblast cells. Media is removed from a sub-confluent plate of fibroblasts and quickly replaced with the media from the producer cells. This media is removed and replaced with fresh media. If the titer of virus is high, then virtually all fibroblasts will be infected and no selection is required. If the titer is very low, then it is necessary to use a retroviral vector that has a selectable marker, such as neo or his.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Once the fibroblasts have been efficiently infected, the fibroblasts are analyzed to determine whether protein is produced.

[1096] The engineered fibroblasts are then transplanted onto the host, either alone or after having been grown to confluence on cytodex 3 microcarrier beads.

Example 14: Gene Therapy Using Endogenous B7-like Genes

[1097] Another method of gene therapy according to the present invention involves operably associating the endogenous B7-like gene sequence with a promoter via homologous recombination as described, for example, in U.S. Patent NO: 5,641,670, issued June 24, 1997; International Publication NO: WO 96/29411, published September 26, 1996; International Publication NO: WO 94/12650, published August 4, 1994; Koller et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86:8932-8935 (1989); and Zijlstra et al., *Nature*, 342:435-438 (1989). This method involves the activation of a gene which is present in the target cells, but which is not expressed in the cells, or is expressed at a lower level than desired.

[1098] Polynucleotide constructs are made which contain a promoter and targeting sequences, which are homologous to the 5' non-coding sequence of the endogenous B7-like gene, flanking the promoter. The targeting sequence will be sufficiently near the 5' end of the B7-like gene so the promoter will be operably linked to the endogenous sequence upon homologous recombination. The promoter and the targeting sequences can be amplified using PCR. Preferably, the amplified promoter contains distinct restriction enzyme sites on the 5' and 3' ends. Preferably, the 3' end of the first targeting sequence contains the same restriction enzyme site as the 5' end of the amplified promoter and the 5' end of the second targeting sequence contains the same restriction site as the 3' end of the amplified promoter.

[1099] The amplified promoter and the amplified targeting sequences are digested with the appropriate restriction enzymes and subsequently treated with calf intestinal phosphatase. The digested promoter and digested targeting sequences are added together in the presence of T4 DNA ligase. The resulting mixture is maintained under conditions appropriate for ligation of the two fragments. The construct is size fractionated on an agarose gel then purified by phenol extraction and ethanol precipitation.

[1100] In this Example, the polynucleotide constructs are administered as naked polynucleotides via electroporation. However, the polynucleotide constructs may also be

WO 02/02587

PCT/US01/20917

administered with transfection-facilitating agents, such as liposomes, viral sequences, viral particles, precipitating agents, etc. Such methods of delivery are known in the art.

[1101] Once the cells are transfected, homologous recombination will take place which results in the promoter being operably linked to the endogenous B7-like gene sequence. This results in the expression of B7-like polypeptides in the cell. Expression may be detected by immunological staining, or any other method known in the art.

[1102] Fibroblasts are obtained from a subject by skin biopsy. The resulting tissue is placed in DMEM + 10% fetal calf serum. Exponentially growing or early stationary phase fibroblasts are trypsinized and rinsed from the plastic surface with nutrient medium. An aliquot of the cell suspension is removed for counting, and the remaining cells are subjected to centrifugation. The supernatant is aspirated and the pellet is resuspended in 5 ml of electroporation buffer (20 mM HEPES pH 7.3, 137 mM NaCl, 5 mM KCl, 0.7 mM Na₂HPO₄, 6 mM dextrose). The cells are recentrifuged, the supernatant aspirated, and the cells resuspended in electroporation buffer containing 1 mg/ml acetylated bovine serum albumin. The final cell suspension contains approximately 3×10^6 cells/ml. Electroporation should be performed immediately following resuspension.

[1103] Plasmid DNA is prepared according to standard techniques. For example, to construct a plasmid for targeting to the B7-like locus, plasmid pUC18 (MBI Fermentas, Amherst, NY) is digested with HindIII. The CMV promoter is amplified by PCR with an XbaI site on the 5' end and a BamHI site on the 3' end. Two B7-like non-coding gene sequences are amplified via PCR: one B7-like non-coding sequence (B7-like fragment 1) is amplified with a HindIII site at the 5' end and an Xba site at the 3' end; the other B7-like non-coding sequence (B7-like fragment 2) is amplified with a BamHI site at the 5' end and a HindIII site at the 3' end. The CMV promoter and B7-like fragments are digested with the appropriate enzymes (CMV promoter - XbaI and BamHI; B7-like fragment 1 - XbaI; B7-like fragment 2 - BamHI) and ligated together. The resulting ligation product is digested with HindIII, and ligated with the HindIII-digested pUC18 plasmid.

[1104] Plasmid DNA is added to a sterile cuvette with a 0.4 cm electrode gap (Bio-Rad). The final DNA concentration is generally at least 120 µg/ml. 0.5 ml of the cell suspension (containing approximately 1.5×10^6 cells) is then added to the cuvette, and the cell suspension and DNA solutions are gently mixed. Electroporation is performed with a Gene-Pulser apparatus (Bio-Rad). Capacitance and voltage are set at 960 µF and 250-300 V,

WO 02/02587

PCT/US01/20917

respectively. As voltage increases, cell survival decreases, but the percentage of surviving cells that stably incorporate the introduced DNA into their genome increases dramatically.

Given these parameters, a pulse time of approximately 14-20 mSec should be observed.

[1105] Electroporated cells are maintained at room temperature for approximately 5 min, and the contents of the cuvette are then gently removed with a sterile transfer pipette. The cells are added directly to 10 ml of prewarmed nutrient media (DMEM with 15% calf serum) in a 10 cm dish and incubated at 37 degree C. The following day, the media is aspirated and replaced with 10 ml of fresh media and incubated for a further 16-24 hours.

[1106] The engineered fibroblasts are then injected into the host, either alone or after having been grown to confluence on cytodex 3 microcarrier beads. The fibroblasts now produce the protein product. The fibroblasts can then be introduced into a patient as described above.

Example 15: Method of Treatment Using Gene Therapy - In Vivo

[1107] Another aspect of the present invention is using *in vivo* gene therapy methods to treat disorders, diseases and conditions. The gene therapy method relates to the introduction of naked nucleic acid (DNA, RNA, and antisense DNA or RNA) B7-like sequences into an animal to increase or decrease the expression of the B7-like polypeptide. The B7-like polynucleotide may be operatively linked to a promoter or any other genetic elements necessary for the expression of the B7-like polypeptide by the target tissue. Such gene therapy and delivery techniques and methods are known in the art, see, for example, WO90/11092, WO98/11779; U.S. Patent NO: 5693622, 5705151, 5580859; Tabata et al., *Cardiovasc. Res.* 35(3):470-479 (1997), Chao J et al., *Pharmacol. Res.*, 35(6):517-522 (1997), Wolff, *Neuromuscul. Disord.* 7(5):314-318 (1997), Schwartz et al., *Gene Ther.*, 3(5):405-411 (1996), Tsurumi Y. et al., *Circulation*, 94(12):3281-3290 (1996) (incorporated herein by reference).

[1108] The B7-like polynucleotide constructs may be delivered by any method that delivers injectable materials to the cells of an animal, such as, injection into the interstitial space of tissues (heart, muscle, skin, lung, liver, intestine and the like). The B7-like polynucleotide constructs can be delivered in a pharmaceutically acceptable liquid or aqueous carrier.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[1109] The term "naked" polynucleotide, DNA or RNA, refers to sequences that are free from any delivery vehicle that acts to assist, promote, or facilitate entry into the cell, including viral sequences, viral particles, liposome formulations, lipofectin or precipitating agents and the like. However, the B7-like polynucleotides may also be delivered in liposome formulations (such as those taught in Felgner et al., *Ann. NY Acad. Sci.*, 772:126-139 (1995) and Abdallah et al., *Biol. Cell*, 85(1):1-7 (1995)) which can be prepared by methods well known to those skilled in the art.

[1110] The B7-like polynucleotide vector constructs used in the gene therapy method are preferably constructs that will not integrate into the host genome nor will they contain sequences that allow for replication. Any strong promoter known to those skilled in the art can be used for driving the expression of DNA. Unlike other gene therapies techniques, one major advantage of introducing naked nucleic acid sequences into target cells is the transitory nature of the polynucleotide synthesis in the cells. Studies have shown that non-replicating DNA sequences can be introduced into cells to provide production of the desired polypeptide for periods of up to six months.

[1111] The polynucleotide constructs can be delivered to the interstitial space of tissues within the an animal, including of muscle, skin, brain, lung, liver, spleen, bone marrow, thymus, heart, lymph, blood, bone, cartilage, pancreas, kidney, gall bladder, stomach, intestine, testis, ovary, uterus, rectum, nervous system, eye, gland, and connective tissue. Interstitial space of the tissues comprises the intercellular fluid, mucopolysaccharide matrix among the reticular fibers of organ tissues, elastic fibers in the walls of vessels or chambers, collagen fibers of fibrous tissues, or that same matrix within connective tissue ensheathing muscle cells or in the lacunae of bone. It is similarly the space occupied by the plasma of the circulation and the lymph fluid of the lymphatic channels. Delivery to the interstitial space of muscle tissue is preferred for the reasons discussed below. They may be conveniently delivered by injection into the tissues comprising these cells. They are preferably delivered to and expressed in persistent, non-dividing cells which are differentiated, although delivery and expression may be achieved in non-differentiated or less completely differentiated cells, such as, for example, stem cells of blood or skin fibroblasts. *In vivo* muscle cells are particularly competent in their ability to take up and express polynucleotides.

[1112] For the naked B7-like polynucleotide injection, an effective dosage amount of DNA or RNA will be in the range of from about 0.05 g/kg body weight to about 50 mg/kg

WO 02/02587

PCT/US01/20917

body weight. Preferably the dosage will be from about 0.005 mg/kg to about 20 mg/kg and more preferably from about 0.05 mg/kg to about 5 mg/kg. Of course, as the artisan of ordinary skill will appreciate, this dosage will vary according to the tissue site of injection. The appropriate and effective dosage of nucleic acid sequence can readily be determined by those of ordinary skill in the art and may depend on the condition being treated and the route of administration. The preferred route of administration is by the parenteral route of injection into the interstitial space of tissues. However, other parenteral routes may also be used, such as, inhalation of an aerosol formulation particularly for delivery to lungs or bronchial tissues, throat or mucous membranes of the nose. In addition, naked B7-like polynucleotide constructs can be delivered to arteries during angioplasty by the catheter used in the procedure.

[1113] The dose response effects of injected B7-like polynucleotide in muscle *in vivo* is determined as follows. Suitable B7-like template DNA for production of mRNA coding for B7-like polypeptide is prepared in accordance with a standard recombinant DNA methodology. The template DNA, which may be either circular or linear, is either used as naked DNA or complexed with liposomes. The quadriceps muscles of mice are then injected with various amounts of the template DNA.

[1114] Five to six week old female and male Balb/C mice are anesthetized by intraperitoneal injection with 0.3 ml of 2.5% Avertin. A 1.5 cm incision is made on the anterior thigh, and the quadriceps muscle is directly visualized. The B7-like template DNA is injected in 0.1 ml of carrier in a 1 cc syringe through a 27 gauge needle over one minute, approximately 0.5 cm from the distal insertion site of the muscle into the knee and about 0.2 cm deep. A suture is placed over the injection site for future localization, and the skin is closed with stainless steel clips.

[1115] After an appropriate incubation time (e.g., 7 days) muscle extracts are prepared by excising the entire quadriceps. Every fifth 15 um cross-section of the individual quadriceps muscles is histochemically stained for B7-like protein expression. A time course for B7-like protein expression may be done in a similar fashion except that quadriceps from different mice are harvested at different times. Persistence of B7-like DNA in muscle following injection may be determined by Southern blot analysis after preparing total cellular DNA and HIRT supernatants from injected and control mice. The results of the above experimentation in mice can be used to extrapolate proper dosages and other treatment parameters in humans.

and other animals using B7-like naked DNA.

Example 16: Production of an Antibody

a) Hybridoma Technology

[1116] The antibodies of the present invention can be prepared by a variety of methods. (See, Current Protocols, Chapter 2.) As one example of such methods, cells expressing B7-like polypeptide(s) are administered to an animal to induce the production of sera containing polyclonal antibodies. In a preferred method, a preparation of B7-like polypeptide(s) is prepared and purified to render it substantially free of natural contaminants. Such a preparation is then introduced into an animal in order to produce polyclonal antisera of greater specific activity.

[1117] Monoclonal antibodies specific for B7-like polypeptide(s) are prepared using hybridoma technology. (Kohler et al., Nature 256:495 (1975); Kohler et al., Eur. J. Immunol. 6:511 (1976); Kohler et al., Eur. J. Immunol. 6:292 (1976); Hammerling et al., in: Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas, Elsevier, N.Y., pp. 563-681 (1981)). In general, an animal (preferably a mouse) is immunized with B7-like polypeptide(s) or, more preferably, with a secreted B7-like polypeptide-expressing cell. Such polypeptide-expressing cells are cultured in any suitable tissue culture medium, preferably in Earle's modified Eagle's medium supplemented with 10% fetal bovine serum (inactivated at about 56°C), and supplemented with about 10 g/l of nonessential amino acids, about 1,000 U/ml of penicillin, and about 100 µg/ml of streptomycin.

[1118] The splenocytes of such mice are extracted and fused with a suitable myeloma cell line. Any suitable myeloma cell line may be employed in accordance with the present invention; however, it is preferable to employ the parent myeloma cell line (SP2O), available from the ATCC. After fusion, the resulting hybridoma cells are selectively maintained in HAT medium, and then cloned by limiting dilution as described by Wands et al. (Gastroenterology 80:225-232 (1981)). The hybridoma cells obtained through such a selection are then assayed to identify clones which secrete antibodies capable of binding the B7-like polypeptide(s).

[1119] Alternatively, additional antibodies capable of binding to B7-like polypeptide(s) can be produced in a two-step procedure using anti-idiotypic antibodies. Such a method

WO 02/02587

PCT/US01/20917

makes use of the fact that antibodies are themselves antigens, and therefore, it is possible to obtain an antibody which binds to a second antibody. In accordance with this method, protein specific antibodies are used to immunize an animal, preferably a mouse. The splenocytes of such an animal are then used to produce hybridoma cells, and the hybridoma cells are screened to identify clones which produce an antibody whose ability to bind to the B7-like protein-specific antibody can be blocked by B7-like polypeptide(s). Such antibodies comprise anti-idiotypic antibodies to the B7-like protein-specific antibody and are used to immunize an animal to induce formation of further B7-like protein-specific antibodies.

[1120] For in vivo use of antibodies in humans, an antibody is "humanized". Such antibodies can be produced using genetic constructs derived from hybridoma cells producing the monoclonal antibodies described above. Methods for producing chimeric and humanized antibodies are known in the art and are discussed herein. (See, for review, Morrison, *Science* 229:1202 (1985); Oi et al., *BioTechniques* 4:214 (1986); Cabilly et al., U.S. Patent No. 4,816,567; Taniguchi et al., EP 171496; Morrison et al., EP 173494; Neuberger et al., WO 8601533; Robinson et al., WO 8702671; Bonlianne et al., *Nature* 312:643 (1984); Neuberger et al., *Nature* 314:268 (1985)).

b) Isolation Of Antibody Fragments Directed Against B7-like Polypeptide(s) From A Library Of scFvs

[1121] Naturally occurring V-genes isolated from human PBLs are constructed into a library of antibody fragments which contain reactivities against B7-like polypeptide(s) to which the donor may or may not have been exposed (see e.g., U.S. Patent 5,885,793 incorporated herein by reference in its entirety).

Rescue of the Library

[1122] A library of scFvs is constructed from the RNA of human PBLs as described in PCT publication WO 92/01047. To rescue phage displaying antibody fragments, approximately 10⁹ E. coli harboring the phagemid are used to inoculate 50 ml of 2xTY containing 1% glucose and 100 µg/ml of ampicillin (2xTY-AMP-GLU) and grown to an O.D. of 0.8 with shaking. Five ml of this culture is used to inoculate 50 ml of 2xTY-AMP-GLU, 2 x 10⁸ TU of delta gene 3 helper (M13 delta gene III, see PCT publication WO 92/01047) are added and the culture incubated at 37°C for 45 minutes without shaking and

WO 02/02587

PCT/US01/20917

then at 37°C for 45 minutes with shaking. The culture is centrifuged at 4000 r.p.m. for 10 min, and the pellet resuspended in 2 liters of 2xTY containing 100 µg/ml ampicillin and 50 µg/ml kanamycin and grown overnight. Phage are prepared as described in PCT publication WO 92/01047.

[1123] M13 delta gene III is prepared as follows: M13 delta gene III helper phage does not encode gene III protein, hence the phage(tail) displaying antibody fragments have a greater avidity of binding to antigen. Infectious M13 delta gene III particles are made by growing the helper phage in cells harboring a pUC19 derivative supplying the wild type gene III protein during phage morphogenesis. The culture is incubated for 1 hour at 37° C without shaking and then for a further hour at 37°C with shaking. Cells are spun down (IEC-Centra 8,400 r.p.m. for 10 min), resuspended in 300 ml 2xTY broth containing 100 µg ampicillin/ml and 25 µg kanamycin/ml (2xTY-AMP-KAN) and grown overnight, shaking at 37°C. Phage particles are purified and concentrated from the culture medium by two PEG-precipitations (Sambrook et al., 1990), resuspended in 2 ml PBS and passed through a 0.45 µm filter (Minisart NML; Sartorius) to give a final concentration of approximately 10¹³ transducing units/ml (ampicillin-resistant clones).

Panning of the Library.

[1124] Immunotubes (Nunc) are coated overnight in PBS with 4 ml of either 100 µg/ml or 10 µg/ml of a polypeptide of the present invention. Tubes are blocked with 2% Marvel-PBS for 2 hours at 37°C and then washed 3 times in PBS. Approximately 10¹³ TU of phage is applied to the tube and incubated for 30 minutes at room temperature tumbling on an over and under turntable and then left to stand for another 1.5 hours. Tubes are washed 10 times with PBS 0.1% Tween-20 and 10 times with PBS. Phage are eluted by adding 1 ml of 100 mM triethylamine and rotating 15 minutes on an under and over turntable after which the solution is immediately neutralized with 0.5 ml of 1.0M Tris-HCl, pH 7.4. Phage are then used to infect 10 ml of mid-log E. coli TG1 by incubating eluted phage with bacteria for 30 minutes at 37°C. The E. coli are then plated on TYE plates containing 1% glucose and 100 µg/ml ampicillin. The resulting bacterial library is then rescued with delta gene 3 helper phage as described above to prepare phage for a subsequent round of selection. This process is then repeated for a total of 4 rounds of affinity purification with tube-washing increased to 20 times with PBS, 0.1% Tween-20 and 20 times with PBS for rounds 3 and 4.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Characterization of Binders.

[1125] Eluted phage from the 3rd and 4th rounds of selection are used to infect *E. coli* HB 2151 and soluble scFv is produced (Marks, et al., 1991) from single colonies for assay. ELISAs are performed with microtitre plates coated with either 10 µg/ml of the polypeptide of the present invention in 50 mM bicarbonate pH 9.6. Clones positive in ELISA are further characterized by PCR fingerprinting (see, e.g., PCT publication WO 92/01047) and then by sequencing. These ELISA positive clones may also be further characterized by techniques known in the art, such as, for example, epitope mapping, binding affinity, receptor signal transduction, ability to block or competitively inhibit antibody/antigen binding, and competitive agonistic or antagonistic activity.

Example 17: B7-like Knock-Out Animals

[1126] Endogenous B7-like gene expression can also be reduced by inactivating or "knocking out" the B7-like gene and/or its promoter using targeted homologous recombination. (E.g., see Smithies et al., *Nature* 317:230-234 (1985); Thomas & Capecchi, *Cell* 51:503-512 (1987); Thompson et al., *Cell* 5:313-321 (1989); each of which is incorporated by reference herein in its entirety). For example, a mutant, non-functional polynucleotide of the invention (or a completely unrelated DNA sequence) flanked by DNA homologous to the endogenous polynucleotide sequence (either the coding regions or regulatory regions of the gene) can be used, with or without a selectable marker and/or a negative selectable marker, to transfect cells that express polypeptides of the invention *in vivo*. In another embodiment, techniques known in the art are used to generate knockouts in cells that contain, but do not express the gene of interest. Insertion of the DNA construct, via targeted homologous recombination, results in inactivation of the targeted gene. Such approaches are particularly suited in research and agricultural fields where modifications to embryonic stem cells can be used to generate animal offspring with an inactive targeted gene (e.g., see Thomas & Capecchi 1987 and Thompson 1989, *supra*). However this approach can be routinely adapted for use in humans provided the recombinant DNA constructs are directly administered or targeted to the required site *in vivo* using appropriate viral vectors that will be apparent to those of skill in the art.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

[1127] In further embodiments of the invention, cells that are genetically engineered to express the polypeptides of the invention, or alternatively, that are genetically engineered not to express the polypeptides of the invention (e.g., knockouts) are administered to a patient in vivo. Such cells may be obtained from the patient (i.e., animal, including human) or an MHC compatible donor and can include, but are not limited to fibroblasts, bone marrow cells, blood cells (e.g., lymphocytes), adipocytes, muscle cells, endothelial cells etc. The cells are genetically engineered in vitro using recombinant DNA techniques to introduce the coding sequence of polypeptides of the invention into the cells, or alternatively, to disrupt the coding sequence and/or endogenous regulatory sequence associated with the polypeptides of the invention, e.g., by transduction (using viral vectors, and preferably vectors that integrate the transgene into the cell genome) or transfection procedures, including, but not limited to, the use of plasmids, cosmids, YACs, naked DNA, electroporation, liposomes, etc. The coding sequence of the polypeptides of the invention can be placed under the control of a strong constitutive or inducible promoter or promoter/enhancer to achieve expression, and preferably secretion, of the B7-like polypeptides. The engineered cells which express and preferably secrete the polypeptides of the invention can be introduced into the patient systemically, e.g., in the circulation, or intraperitoneally.

[1128] Alternatively, the cells can be incorporated into a matrix and implanted in the body, e.g., genetically engineered fibroblasts can be implanted as part of a skin graft; genetically engineered endothelial cells can be implanted as part of a lymphatic or vascular graft. (See, for example, Anderson et al. U.S. Patent No. 5,399,349; and Mulligan & Wilson, U.S. Patent No. 5,460,959 each of which is incorporated by reference herein in its entirety).

[1129] When the cells to be administered are non-autologous or non-MHC compatible cells, they can be administered using well known techniques which prevent the development of a host immune response against the introduced cells. For example, the cells may be introduced in an encapsulated form which, while allowing for an exchange of components with the immediate extracellular environment, does not allow the introduced cells to be recognized by the host immune system.

[1130] Knock-out animals of the invention have uses which include, but are not limited to, animal model systems useful in elaborating the biological function of B7-like polypeptides, studying conditions and/or disorders associated with aberrant B7-like expression, and in screening for compounds effective in ameliorating such conditions and/or disorders.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Example 18: B7-like Counter-Receptor Expression

[1131] To detect the expression of counter-receptor(s) of B7-like molecules, expression of activated markers on T cells are analyzed with FITC-conjugated mAb specific to CD25, CD40L, 4-1BB and OX40. Single or double stained cells are analyzed using the Becton-Dickinson FACScan (Mountain View, CA).

Example 19: T Cell Proliferation and Cytokine Assays

[1132] Methods for measuring T cell growth and cytokine production were described previously (Dong, H., *et al.*, *Nat Med.*, 5:1365-9 (1999)). Briefly, flat-bottomed 96-well plates are first coated at 4°C overnight with 50 µl/well of anti-CD3 mAb at 40 or 200 ng/ml and subsequently coated with B7-H3Ig or control Ig at 37°C for 4 hrs. T cells at indicated concentrations are cultured for 72 hrs and ³H-TdR at 1 µCi/well is added for the last 18 hrs., and the ³H-TdR incorporation is counted on a Microbeta Trilix liquid scintillation counter (Wallac, Turku, Finland). Supernatants are collected 48 hrs after T cell culturing, and are assayed for IL-2, IL-10, and IFN-γ using appropriate sandwich ELISA as described by Dong et al. utilizing mAb purchased from Pharmingen.

Example 20: T Cell Proliferation, Costimulation, and Prestimulation Proliferation Assays*Proliferation assay for Resting PBLs.*

[1133] A CD3-induced proliferation assay is performed on PBMCs and is measured by the uptake of ³H-thymidine. The assay is performed as follows. Ninety-six well plates are coated with 100 microliters per well of mAb to CD3 (HIT3a, Pharmingen) or isotype-matched control mAb (B33.1) overnight at 4°C (1 microgram/ml in .05M bicarbonate buffer, pH 9.5), then washed three times with PBS. PBMC are isolated by Ficoll/Hypaque (F/I) gradient centrifugation from human peripheral blood and added to quadruplicate wells (5 x 10⁶/well) of mAb coated plates in RPMI containing 10% FCS and Penicillin and Streptomycin (P/S) in the presence of varying concentrations of B7-like protein (total volume 200 microliters). Relevant protein buffer and medium alone are controls. After 48 hr. culture at 37 °C, plates are spun for 2 min. at 1000 rpm and 100 microliters of supernatant is removed and stored -20°C for measurement of IL-2 (or other cytokines) if effect on proliferation is observed. Wells are supplemented with 100 microliters of medium containing 0.5

WO 02/02587

PCT/US01/20917

microcuries of ^3H -thymidine and cultured at 37°C for 18-24 hr. Wells are harvested and incorporation of ^3H -thymidine used as a measure of proliferation. Anti-CD3 alone is the positive control for proliferation. IL-2 (100 U/ml) is also used as a control which enhances proliferation. Control antibody which does not induce proliferation of T cells is used as the negative controls for the effects of B7-like proteins.

[1134] Alternatively, a proliferation assay on resting PBL (peripheral blood lymphocytes) is measured by the up-take of ^3H -thymidine. The assay is performed as follows. PBMC are isolated by F/H gradient centrifugation from human peripheral blood, and are cultured overnight in 10% FCS/RPMI. This overnight incubation period allows the adherent cells to attach to the plastic, which results in a lower background in the assay as there are fewer cells that can act as antigen presenting cells or that might be producing growth factors. The following day the non-adherent cells are collected, washed and used in the proliferation assay. The assay is performed in a 96 well plate using 2×10^4 cells/well in a final volume of 200 microliters. A supernatant expressing the B7-like polypeptide of interest is tested at a 30% final dilution, therefore 60 microliters are added to 140 microliters of medium containing the cells. Control supernatants are used at the same final dilution and express the following proteins: vector only (negative control), IL-2, IFN γ , TNF α , IL-10 and TR2. In addition to the control supernatants recombinant human IL-2 at a final concentration of 100 ng/ml is also used. After 24 hours of culture, each well is pulsed with 1 microcurie of ^3H -thymidine. Cells are then harvested 20 hours following pulsing and incorporation of ^3H -thymidine is used as a measure of proliferation. Results are expressed as an average of triplicate samples plus or minus standard error.

Costimulation assay.

[1135] A costimulation assay on resting PBL (peripheral blood lymphocytes) is performed in the presence of immobilized antibodies to CD3 and CD28. The use of antibodies specific for the invariant regions of CD3 mimic the induction of T cell activation that would occur through stimulation of the T cell receptor by an antigen. Cross-linking of the TCR (first signal) in the absence of a costimulatory signal (second signal) causes very low induction of proliferation and will eventually result in a state of "anergy", which is characterized by the absence of growth and inability to produce cytokines. The addition of a costimulatory signal such as an antibody to CD28, which mimics the action of the costimulatory molecule B7-1

WO 02/02587

PCT/US01/20917

expressed on activated APCs, results in enhancement of T cell responses including cell survival and production of IL-2. Therefore this type of assay allows to detect both positive and negative effects caused by addition of supernatants expressing the proteins of interest on T cell proliferation.

[1136] The assay is performed as follows. Ninety-six well plates are coated with 100 ng/ml anti-CD3 and 5 micrograms per milliliter anti-CD28 in a final volume of 100 microliters and incubated overnight at 4 °C. Plates are washed twice with PBS before use. PBMC are isolated by F/H gradient centrifugation from human peripheral blood, and are cultured overnight in 10% FCS/RPMI. This overnight incubation period allows the adherent cells to attach to the plastic, which results in a lower background in the assay as there are fewer cells that can act as antigen presenting cells or that might be producing growth factors. The following day the non-adherent cells are collected, washed and used in the proliferation assay. The assay is performed in a 96 well plate using 2×10^4 cells/well in a final volume of 200 microliters. A supernatant expressing the B7-like polypeptide of interest is tested at a 30% final dilution, therefore 60 microliters are added to 140 microliters of medium containing the cells. Control supernatants are used at the same final dilution and express the following proteins: vector only (negative control), IL-2, IFN-gamma, TNF-alpha, IL-10 and TR2. In addition to the control supernatants recombinant human IL-2 at a final concentration of 10 ng/ml is also used. After 24 hours of culture, each well is pulsed with 1 microcurie of ^3H -thymidine. Cells are then harvested 20 hours following pulsing and incorporation of ^3H -thymidine is used as a measure of proliferation. Results are expressed as an average of triplicate samples plus or minus standard error.

Proliferation assay for preactivated-resting T cells.

[1137] A proliferation assay on preactivated-resting T cells is performed on cells that are previously activated with the lectin phytohemagglutinin (PHA). Lectins are polymeric plant proteins that can bind to residues on T cell surface glycoproteins including the TCR and act as polyclonal activators. PBLs treated with PHA and then cultured in the presence of low doses of IL-2 resemble effector T cells. These cells are generally more sensitive to further activation induced by growth factors such as IL-2. This is due to the expression of high affinity IL-2 receptors that allows this population to respond to amounts of IL-2 that are 100 fold lower than what would have an effect on a naive T cell. Therefore the use of this type of

WO 02/02587

PCT/US01/20917

cells might enable to detect the effect of very low doses of an unknown growth factor, that would not be sufficient to induce proliferation on resting (naive) T cells.

[1138] The assay is performed as follows. PBMC are isolated by F/H gradient centrifugation from human peripheral blood, and are cultured in the presence of 2 micrograms per milliliter PHA for three days. The cells are then washed and cultured in the presence of 5 ng/ml of human recombinant IL-2 for 3 days. The cells are washed and rested in starvation medium (1% FCS/RPMI) for 16 hours prior to the beginning of the proliferation assay. An aliquot of the cells is analyzed by FACS to determine the percentage of T cells (CD3 positive cells), usually it ranges between 93-97% depending on the donor. The assay is performed in a 96 well plate using 2×10^4 cells/well in a final volume of 200 microliters. A supernatant expressing the B7-like polypeptide of interest is tested at a 30% final dilution, therefore 60 microliters are added to 140 microliters of medium containing the cells. Control supernatants are used at the same final dilution and express the following proteins: vector only (negative control), IL-2, IFN-gamma, TNF-alpha, IL-10 and TR2. In addition to the control supernatants recombinant human IL-2 at a final concentration of 10 ng/ml is also used. After 24 hours of culture, each well is pulsed with 1 microcurie of ^3H -thymidine. Cells are then harvested 20 hours following pulsing and incorporation of ^3H -thymidine is used as a measure of proliferation. Results are expressed as an average of triplicate samples plus or minus standard error.

[1139] Although the studies described in this example test the activity in B7-like protein, one skilled in the art could easily modify the exemplified studies to test the activity of B7-like polynucleotides (e.g., gene therapy), agonists, and/or antagonists of B7-like.

[1140] It will be clear that the invention may be practiced otherwise than as particularly described in the foregoing description and examples. Numerous modifications and variations of the present invention are possible in light of the above teachings and, therefore, are within the scope of the appended claims.

[1141] The entire disclosure of each document cited (including patents, patent applications, journal articles, abstracts, laboratory manuals, books, or other disclosures) in the Background of the Invention, Detailed Description, and Examples is hereby incorporated herein by reference. Further, the hard copy of the sequence listing submitted herewith and the

WO 02/02587

PCT/US01/20917

corresponding computer readable form are both incorporated herein by reference in their entireties.

[1142] Certain B7-like polynucleotides and polypeptides of the present invention, including antibodies, were disclosed in U.S. provisional application numbers 60/215,135 and 60/225,266, the specifications and sequence listings of which are herein incorporated by reference in their entirety.

CLAIMS

1. An isolated nucleic acid molecule comprising a polynucleotide selected from the group consisting of:

(a) the polynucleotide shown as SEQ ID NO:X or the polynucleotide encoded by a cDNA included in ATCC Deposit No:Z;

(b) a polynucleotide encoding a biologically active polypeptide fragment of SEQ ID NO:Y or a biologically active polypeptide fragment encoded by the cDNA sequence included in ATCC Deposit No:Z;

(c) a polynucleotide encoding a polypeptide epitope of SEQ ID NO:Y or a polypeptide epitope encoded by the cDNA sequence included in ATCC Deposit No:Z;

(d) a polynucleotide capable of hybridizing under stringent conditions to any one of the polynucleotides specified in (a)-(c), wherein said polynucleotide does not hybridize under stringent conditions to a nucleic acid molecule having a nucleotide sequence of only A residues or of only T residues.

2. The isolated nucleic acid molecule of claim 1, wherein the polynucleotide comprises a nucleotide sequence encoding a soluble polypeptide.

3. The isolated nucleic acid molecule of claim 1, wherein the polynucleotide comprises a nucleotide sequence encoding the sequence identified as SEQ ID NO:Y or the polypeptide encoded by the cDNA sequence included in ATCC Deposit No:Z.

4. The isolated nucleic acid molecule of claim 1, wherein the polynucleotide comprises the entire nucleotide sequence of SEQ ID NO:X or a cDNA included in ATCC Deposit No:Z.

5. The isolated nucleic acid molecule of claim 2, wherein the polynucleotide is DNA.

6. The isolated nucleic acid molecule of claim 3, wherein the polynucleotide is RNA.

WO 02/02587

PCT/US01/20917

7. A vector comprising the isolated nucleic acid molecule of claim 1.
8. A host cell comprising the vector of claim 7.
9. A recombinant host cell comprising the nucleic acid molecule of claim 1 operably limited to a heterologous regulating element which controls gene expression.
10. A method of producing a polypeptide comprising expressing the encoded polypeptide from the host cell of claim 9 and recovering said polypeptide.
11. An isolated polypeptide comprising an amino acid sequence at least 95% identical to a sequence selected from the group consisting of:
 - (a) the polypeptide shown as SEQ ID NO:Y or the polypeptide encoded by the cDNA;
 - (b) a polypeptide fragment of SEQ ID NO:Y or the polypeptide encoded by the cDNA;
 - (c) a polypeptide epitope of SEQ ID NO:Y or the polypeptide encoded by the cDNA; and
 - (d) a variant of SEQ ID NO:Y.
12. The isolated polypeptide of claim 11, comprising a polypeptide having SEQ ID NO:Y.
13. An isolated antibody that binds specifically to the isolated polypeptide of claim 11.
14. A recombinant host cell that expresses the isolated polypeptide of claim 11.
15. A method of making an isolated polypeptide comprising:

WO 02/02587

PCT/US01/20917

(a) culturing the recombinant host cell of claim 14 under conditions such that said polypeptide is expressed; and

(b) recovering said polypeptide.

16. The polypeptide produced by claim 15.

17. A method for preventing, treating, or ameliorating a medical condition, comprising administering to a mammalian subject a therapeutically effective amount of the polynucleotide of claim 1.

18. A method of diagnosing a pathological condition or a susceptibility to a pathological condition in a subject comprising:

(a) determining the presence or absence of a mutation in the polynucleotide of claim 1; and

(b) diagnosing a pathological condition or a susceptibility to a pathological condition based on the presence or absence of said mutation.

19. A method of diagnosing a pathological condition or a susceptibility to a pathological condition in a subject comprising:

(a) determining the presence or amount of expression of the polypeptide of claim 11 in a biological sample; and

(b) diagnosing a pathological condition or a susceptibility to a pathological condition based on the presence or amount of expression of the polypeptide.

20. A method for identifying a binding partner to the polypeptide of claim 11 comprising:

(a) contacting the polypeptide of claim 11 with a binding partner; and

(b) determining whether the binding partner effects an activity of the polypeptide.

21. A method of screening for molecules which modify activities of the polypeptide of claim 11 comprising:

WO 02/02587

PCT/US01/20917

(a) contacting said polypeptide with a compound suspected of having agonist or antagonist activity; and

(b) assaying for activity of said polypeptide.

22. A method for preventing, treating, or ameliorating a medical condition, comprising administering to a mammalian subject a therapeutically effective amount the polypeptide of claim 11.

Figure 1A

```

1  CACCAGCAGTAGTAGCAGAGAGCGGAGGCGCAACACCCGCTCTCCCGCCCGTGGCC 60
61  CGATTCAATTAATCCAGCTGGGACGACAGGTTTCOCGACTGGAAAGCGGGCAGTGCAGCGCA 120
121  ACGCAATTAATGAGTAGCTAGCTCAGTATAGGCAACCCAGGCTTACACITTAATGCTTC 180
181  CCGCTCGTATGTTGCTGCAATTGTGACCGGATAACAATTTCACACAGGAACAGCTATG 240
241  ACCATGATTCAGCCCAAGCTCGAATTAACCCCTCACAAAGGGAACAAAAGCTGGAGCTCC 300
301  ACCCGGGTGGCGCCCGCTCAGAACTAGTGGATCCCGCGGCTGCAAGGAATCGGCACGA 360
361  GAGCAGCGCGCAGCTCCACTCAGCCAGTACCCAGATACCCCTCGACCTTCCCGCCGAT 420
1  M 1
421  GGCCTCCCTGGGGCAGATCCCTTCTGGAGCATAATTAAGCATCATTAATCTGGCTGG 480
2  A S L G Q I L E N S I I S I I I I L A G 21
481  AGCAAATGCACTCATCATTTGGCTTTGGTATTGAGGGAGACACTCCATCAGCTCAGTAC 540
22  A I A L I I G P G I S G N H S I T V T T 41
541  TGTGCGCTCAGCTGGGACATGGCGGAGGAGGAATCCGAGCTGCACTTTTCAACTGA 600
42  V A S A G N I G E D G I L S C T F E P D 61
601  CATCAAACTTTCIGATATCGTATACAAATGGCTGAAGGAGGTGTTTAGGCTTGTCCA 660
62  I K L S D I V I Q N L K E G V L G L V H 81
661  TGAGTCAAGAGGCAAGGATGAGCTGTCCGAGCAGGATGAATGTTGAGGCGCCGAC 720
82  E P X E G K D E L S E Q D E M F R G R T 101
721  AGCAGTGTGCTGATCAAGGATAGTGGCAATGCCCTTTGCGGCTGAATAACGATGCA 780
102  A V F A D Q V I V G N A S L R L K N V Q 121
841  ACTCAGATGCTGGCACTACAAATGTTATATCATCATCTCTAAGGCAAGGGGATGC 840
122  L T D A G T Y K C Y I I T S K G K G N A 141
841  TAACCTGAGATATAAATGGAACCTTCAGCATGCCGGAAGTGAATGGGACTATATGGC 900
142  N L E Y K T G A F S H P E V N V D Y N A 161
901  CAGCTCAGAGACCTTCCCGCTGTGAGGCTCCCGATGGTTCGCCCGCCAGCCACACTGCTG 960
162  S S E T L R C E A P R W E P Q P T V V W 181

```

Figure 1B

```

961 GGCATCCCACTGACCCAGGGAGCCCACTTCCTCGGAGTCTCCATACCAGCTTUGAGCT 1020
182 A S Q V D Q G A M Y S E V S N T S F E L 201

1021 GAACTCTGAGAAATGTGACCATGAAGGTGTGTCTGTGCTACAAATACGATCAACAA 1080
202 N S E R V T M K V V S V L Y H V T I N N 221

1081 CACATACCTCCTGTATGATGAAAATGACATTCGCCAAGCAACAGGGGRTATCAAGGTGAC 1140
222 T Y S C M I E N D I A K A T G D I K V T 241

1141 AGAATCGGGAGATCAAAAGCGGGAGTCACTACAGCTCCATAAACCATAAGGCTTCCTCTGG 1200
242 E S E I K R R S H L Q L L N S K A S L C 261

1201 TGTCTCTCTTCCTTCCTGTCATCAGCTGGGCACTTCCTGCCCTCAGCCCTTCCCTGAGCT 1260
262 V S S F F A I S N A L L P L G S F Y L M L 281

1261 AAAATAAGTGTGCTTGGCCACAAAAGGATGCAAAAGTCAATGTATACAGAGGATCTAC 1320
282 K * 283

1321 AGAATCTATCCACCCCGATATGACCTAGTATTATATCTCTGGGAGAAATGATTCAT 1380

1381 ATCTAGAAGTCGAGGTGAGGCAACAGAGCAGAAACAAAGAGAGCCAAAGCAGAG 1440

1441 CCTCCAAATGAAAGAAATTAATCTATCTCAAGGACATATGAGAGTGGGAAATAT 1500

1501 TCMGTGAACCTAGACACCTCTGTATAGATGATAAGTAAATGCACTGGGACAAAGTCC 1560

1561 ATCCCCAGATCTCAGGGACCTCCCCCTGCTCTCCCTCGGGAGTGGAGGACAGGATAG 1620

1621 TGCATCTCTCTGTCTCTCAATTTTATGATATATGCTGTATATGTTGCTCTGAGGAGC 1680

1681 CCTCGAAAGCTCTTCCCAACATGACACATCTATATTCACAAATTAAGCTGACTAT 1740

1741 GATCCCTAAGACCTGTAAATCGACTGCCACTTCGCAACTCAGGGGCGGCTGCAATTTAG 1800

1801 TAATGGGTCAATGATTCACCTTTTATGATGCTTCCAAAGGTGCTTGGCTCTCTCTCC 1860

1861 AACTGACAAATGCCAAAGTGGAAATAATGATATAATTTAGCATAAACAGAGCACTCG 1920

1921 GCSACCCGATTTATAAATAAATGAGACCTTCCTTTTAAACAAACRAATGCCGGTCT

```

Figure 1C

1982 2040
2041 2100
2101 2160
2161 2220
2221 2280
2281 2340
2341 2400
2401 2460
2461 2520
2521 2580
2581 2640
2641 2700
2701 2760
2761 2820
2821 2880
2881 2940
2941 3000
3001 3060
3061 3120

WO 02/02587

PCT/US01/20917

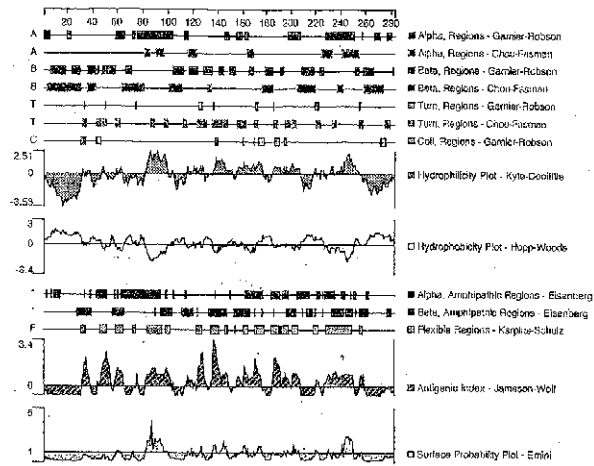
Figure 1D

```
3121 GAGGCCCGCACCGATCGCCCTGCCAACAATGCGCGAGCCTGAATGGCGAATGGCCAAATT 3180
3181 GTAAGCGTAAATATTTGGTTAAAATCGCGTAAATTTTGGTAAATCAGCCCATTTTTT 3240
3241 AACCAATAGGCCGAAATCGGCAAAATCCCTTATAAATCAAAGAATAGACCGAGGTAGGG 3300
3301 GTGAGTGTGTTCCAGTTGGGAACAGAGATCCACATTTAAAGTGTTCACCGCGGTGA 3357
```

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Figure 2



WO 02/02587

PCT/US01/20917

Figure 3A

1 CCACGGGTCGGGAATGACAACTTTTCCTCTCTTGAATAATACCTTAACGCCRARMTTGA 60

61 GTGCTTTTGTGTTACCCCTCCATATGTCAGCTGGAAAGAATCCTGGGTTGGAGCTA 120

121 CTGCATGTGATGTTGTTTGTCTTCCCTTTGGCTGTTCATTTGGTGGCTACTAATAAGGA 180

181 AATCTAACACAAAGACCACTGTTTTTGTGTTGTTTACTTTTGCATCTTACTGTGGAGC 240

241 TGGGGCAAGTCCCTCATATCAAAATACAAACATGATCTCCCTCCCTCAATGTTGAGCCTG 300
 1 H I F L L L M L S L 10

301 GAATGCCAGCTTCACACAGATAGCAGCTTTATTACAGTGACAGTCCCTTAAGGACTGTAG 360
 11 E L Q L H Q I A A L F T V T V F K E L Y 30

361 AATATAGAGCAATGGCAGCAATGTGACCCCTUGAATGCCAACTTGTACACTGGAAATCATGTG 420
 31 I I E H G S N V T L E C N F D T G S H Y 50

421 AACCTTGGAGCAATATACGCCAGTTTGCATAAGGTGCAAAATGATATATCCCCACCCCT 480
 51 M L G A E T A S L Q K V E N D T S P H R 70

481 GAAAGAGCCACTTTGCTGGAGGAGCAGCTGGCCCTTGGGGAAGSCTGTCTCCACATACCT 540
 71 E R A T L L L E E Q L P D G K A S F H I P 90

541 CAATGCCAAGTGGGGGACGAAGGACATGCCAATGCCATATATGCGGTCCGCTCCGCTGG 600
 91 Q V Q V R D E G Q Y Q C I I I Y G V A W 110

601 GACTAGCAAGTACCTGATCTGAAAGTCALAGCTTCCTALAGGAAATATACACTCACATC 660
 111 D Y K Y L T L K V K A S Y R K I N T H I 130

661 CTAAGGTTCAGAAACAGATGAGGTAGAGCTACCTGCCAGGCTACGGTATCTCTCTG 720
 131 L K V P E T D E V E L T C Q A T G Y P L 150

721 GCAGAAGTATCTGGCCACCTCAGGCTTCCTGCCAACACCCAGGACTCCGGGACCCCT 780
 151 A E V S H P H V S V P A N T S H S R T P 170

781 GAAGGCTCTTACAGGTCACCCAGTGTCTCTGCGCTAAGGCCACCCCTGGCAGAACTTC 840
 171 E G L Y Q V T S V L R L K P P P G R N P 190

841 AGCTGTGTGTCTGGAACTCTCCCTGAGGGAATGACTTCTGGCCAGCATTSAGCTCAA 900
 191 S C V F W N T H V R E L T L A S I D L Q 210

Figure 3B

```

901 AGTCAGAGGAAACCAGGACCCACACTGGCTGCTCAGATTTCATCCCTCCTGC 960
211 S Q M E P R T H F T W L L H I F I P S C 230

961 ATCAATGCTTTCATTTTCATAGCCACAGTGTATGCOCTTAGAAACACACTCTGTCAAAG 1020
231 I I A F I F I A T V I A L R X Q L C Q K 250

1021 CTGTATTTCTCAAAGACACACAAAGACCTCTCACCACACAAAGAGGGAAAGTGAAC 1080
251 L Y S S K D T T K R P V T T T K R E V N 270

1081 AGTCCCTCAGAACTCTGAACCTGTGGTCTTGGGGAGCAGGGTACCTGATATGACATCTAAA 1140
271 S A V N L N L W S W E P G * 284

1141 GAAGCTTCGGACCTCTGAAACAGAAATCCGCTGGCCCTGCAGAGCTTGCCTATTCACACTTCT 1200

1201 CAAATGCTTTCGGTGGACCCAGACCTTAAATCTGAACCTGACACAGACTAGCCACAC 1260

1261 CTGGCCATGAACCTTGCCTTCACTGATCTGGACTCAGCTCTGGAGCCTATGGCTTAA 1320

1321 GCAAGCACTAATGCACCTTAGAAGATACCCCACTGGATCTCTGGACCCACAGAAATCTCT 1380

1381 CAGGATCCTTCTTGGCTGCCAGACTGAAGCCAAAGGAATATATCCCTCAGCTTCTCHA 1440

1441 ACTGATTTCCAAAGCAGAGGTGTGTGGAATTTCCAGTACAGAAACAGATGGGTGGCC 1500

1501 AATAGATATATTTTATATATAGCTTCCCTCTGGGTACTAGAGAGGCTATTGAGACTAT 1560

1561 GAGCTCAGACACAGGGCTTCCACAAACTCAAAATCAATATGACATGTTTTATGGATATC 1620

1621 TGGATCTTCATAGCAATATGATTTGTTCTAATTAACAGAGAGCAATTAATAATACACT 1680

1681 AATGACAAATTTGAGATAAATCATCAGGCTCTGTTTGGAGTCTAAGTACAAAG 1740

1741 CATTTGTTTAACTGTATATGACCAAGTTTAAATGGTGGTTTTTTTTTGAATACATC 1800

1801 TTTCCCTTAAAATATGTTTCTTTTATTTCTTTTACCTTGGAAATCAATTAATA 1860

1861 CAGTCAAAATATTTGATATGCTCATACGTTGATCTGCAGCAATTCAGATATGATAGCT 1920

1921 AAAATGGCCAAAGCCCAACTAGCTTCTTTCTGGCCCTCAATATGACTTAAATTT 1980

```

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Figure 3C

```
1981  GACTTTTCAGTGCCTCAGTTTGCAGTCTCTGEEALACAGCAATGCTAAGTAGTCMAGGCCT 2040
2041  ITGATAATTGGCACTATGGAAATCCATGCAAGATCCCACTACRATATGTTGGGAGCAGAGG 2100
2101  GTRACTCGGCTACAGTAACAGCTTAAATTTCTTAATTTGTTCTTTTACTGGGAGCCAGG 2160
2161  AAGCTCAGAGCATTAGCTGACCCCTTCAACTATTCAAAATGGGSCACATAGCTAGTATAACA 2220
2221  GACTTACAFAGCTGGGCTTAAGCAAGTCTCTTAACTGGCAAAATTTGGGCTTATGAG 2280
2281  AATCAAAAGGCTGTGAATGACTAAGCAGCAATCATACATCTCAGTTTCTCAATTCACA 2340
2341  TGTAAATCAGAGATGCCCTTAAGGAATAAATCAATGTTTATTTCTCAAAALAAAAA 2400
2401  AAAAA 2406
```

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Figure 4

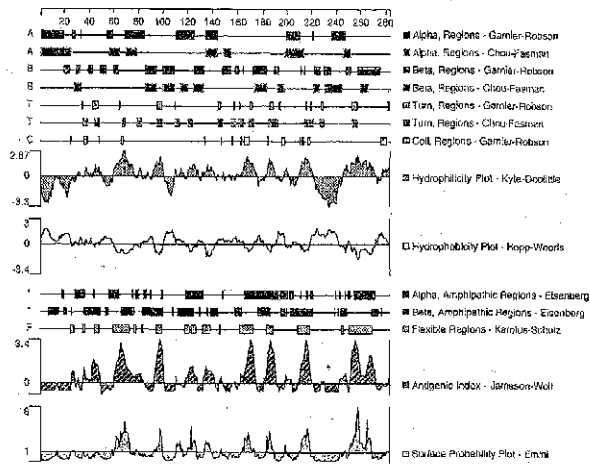


Figure 5A

```

1  GGCACGAGCTGTTCATCCGGTTCCCATGCCGTGAGGTCCTTCACAGAACACATCCATGGCT 60
1  M A 2
61  CTCATGCTCAGTTTGGTTCTGAGTCTCCTCAAGCTGGGATCAGGGCAGTGGCAGTCTTT 120
3  L M L S L V L S L L K L G S G Q W Q V F 22
121  GGGCCAGACAAGCCCTGCCAGGCCCTGGTGGGGAGGACGCAGCATCTCCGTTTCCCTG 180
23  G P D K P V Q A L V G E D A A F S C F L 42
181  TCTCCTAAGACCAATGAGAGAGGCCCTGGAAGTCCGGTCTTCAGGGCCAGTCTCTAGC 240
43  S P K T H A E A M E V R F F R G Q P S S 52
241  CTGGTCCACCTCTACAGGGACGGGAGGACCAAGCAITTTATGCAGATGCCACAGTATCAA 300
63  V V H L Y R D G K D Q P F M Q M P Q Y Q 82
301  GGLAGGACAAAACATGAGAGGATTCATTCGGGAGGGGGCAGTCTTCAGAGCTGGAA 360
83  G R T K L V R D S I A E G R I S L R L E 102
361  AHCATTAAGTGTGATGAGTGGCTCTATGGTGCAGGATTAGTCCAGTCTTACTAC 420
103  N I T V L D A G L Y G C R I S S Q S Y Y 122
421  CAGAGGCCATCTGGGAGCTACAGGTGTCAGCACTGGCCCTCAGTCCCTCTCATTTCCATC 480
123  Q X A I W E L Q V S A L G S V P L I S I 142
481  GCGGGATATGATGATAGACACATCCAGCTACTCTGTCACTCCTCGGCTGGTTCGCCCCG 540
143  A G Y V D R D I Q L L C Q S S G W F P R 162
541  CCCACAGCGAAGTGGAAAGTCCACAAGGACAGGATTTGCCACAGACTCCAGGACAAAC 600
163  P T A K W K G P Q Q D L S T D S R T N 182
601  AGAGACATSCATGGCCGTGTTGATGTGGAGATCTCCCTGACCGTCCAGAGAAACGCCGG 660
183  R D M H G L F D V E I S L T V Q E N A G 202
661  AGCATATCCTGTTCCATGCGGCATGCTCATCTGAGCCGAGAGTGGAAATCCAGGGTACAG 720
203  S I S C S M R H A H L S R E V E S R V Q 222
721  APAGGACACTGGAGAGAGAGCCCGGACAGGCAAGAAAGAAAATATCCACTCACAC 780
223  I G D W R R K H G Q A G K R K Y S S S H 242
781  ATTTATGACTCCCTTTCAGGCTCTCGTTTATGGATTTTATATCCCTGAGGGCCCTGGGT 840
243  I Y D S F P S L E F H D F Y I L R P V G 262

```

Figure 5B

```

841 CCCTGCAGAGCCAAAGCTFTGTGATGGGAACTCAGAAATTCAGATTCCTGGGGAGGTGCAT 900
283 P C R A K L V H G T L K L Q I L G E V H 282

901 TTGTAGAGTAGCCCATAGCCCTTCCTCAGATCTCTGGAGGOTCCACARCACTCAAAAG 960
283 F V E K P H S L L Q I S G G S T T L K K 302

961 GGTCCCAATCCCTGTCTFTCCCTTCCTCCTGCGCCCTGTTCCACCTGAGCACGGAC 1020
303 G P N P H S F P S F C A L F P T * 319

1021 TGGCTGCTCCTCTGTGCTTTCGAAATGAGAGACGCCCGGAACACCGAGGTACCAA 1080

1081 CGCCTGAGARGGTAAACAGTGGCCATGSAATGGAAGATGACCAGTGACAGETA TGGAGCC 1140

1141 CATCCAGCTGTAGACAGCAAACTCTGTGATGCCGAAATCCACCCAGGGTGCAGCTGGCT 1200

1201 CTAANTACACTTCTTGGCCCGGACTTGGAGGGAAGGCTAGGGACTGGGTCACTAGG 1260

1261 AGGGGTACAGGGCAGACGCCAAGGAACTGAGGGCATTAGCTAGCTGGTCTCTGGGGTCT 1320

1321 GTGCAAGGGGGACGAAATGAAATGAGGAACTGGTGGCGGAAAGGAAAGCTGATCCT 1380

1381 GGASTCACTCAAGGTCTCACAAAGTCAAAATAGAGGGCTTACGTGGGAGGGCAGTGGTGG 1440

1441 GCTGGGTGLACATCTCATGGTTGAGCATCTCCAGCATCAGTAGGACACGGGGGCTGCC 1500

1501 TGGAGAAGTACATGGCTGGTGGGATAGTGGGACTGGCCGGATCCTACCCGGAGCCAGTC 1560

1561 TGGAGTGGGAGGCTGACCTCTTGGTCCAGCCAGATTCCTCTTCACTAAGTACTGCTT 1620

1621 CCTCTCTCCCCACCCGACCCCGAGTGGAGGTGACTCGGATCCAGAGACGGCTCACCCGA 1680

1681 AGCTCTGGGTTCTCTGATCTGAAACTGTAAACCCATAGAAAGCTCCTCAGGAGTGCCTC 1740

1741 ACTCTGACAGAGATTTACAAAGGAGAGGTGGTGGCTTCTCAGGGTPTCCAAAGCGGGA 1800

1801 AACATTACTGGGAGTGGACGGGGACAAATCTAGGGTGTATGTGGGAGCTGTTCGGG 1860

1861 ATGACGTAGACAGGGGGAGAACAAATGTGACTTGTCTCCCAACAATGGTATTTGGTCC 1920

```

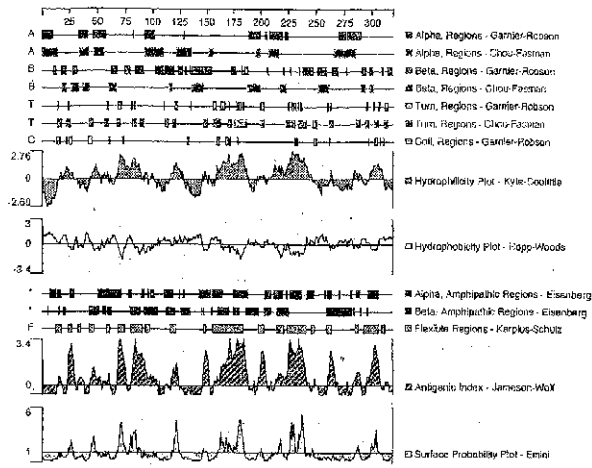
Figure 5C

1921 TCAGNCTGACMACAGAACATTTGGTATTCACATTCATCCCCATTTTATCAGCCGCCGCC 1980
1981 CCAGCACCCTCCTACACAGAGAGGGGCTCCCTGGACTATGAGGGTGGACCAATCTCCT 2040
2041 TCTCAATACAAATGACCACTCCCTTATATACCCCTGCTGACATGTCAGTTTGGAGGCT 2100
2101 TGTTCAGACCCCTATAECAGCATGGGATATGAGGAGAAAGGGGACTCCCAATTTCA 2160
2161 TATGTCAGTCTCCCTGGGAGGGAGACAGAGAGACCCTCTAAAGGCCCCACACCCCA 2220
2221 GACCCAGACACAGCCAAAGGGAGAGTCTCCCGACAGGTGGCCCCAGCTTCCCTCCGGAG 2280
2281 CCTCCGACAGAGACTCAGCCCCACCTCTCCTTAGGGAGCTGAGGCTCTCTCGCCCT 2340
2341 GAGCCCTCCGGCAGCGGCAGTCCAGCTCCCGATGAGGGGGATTGGCTGACCCCTG 2400
2401 GGAGTCAGAGCCAGCTGCTGCCCTGAAGTGGGACGGATGAGACTCAGACTGAGTTACT 2460
2461 TTGTGAACCTCCATCCAGCTAAGCGATCTTAAACAGTCCACACTCCCGGGCTCTCA 2520
2521 TTTGCTAGTCAAGGACAGTGAATCTGCTCAGCGGTGAGGATTAAGAGACACCGAAG 2580
2581 TGAATCAGCTGGCAGGTTGGAGGGCCAGGTGTTGCTAATGGATGTTTATTATGATT 2640
2641 ATACMTTTCGCCACGATAAACTCTGTTCGCTTAATCCACASTAATTTACCTTTTC 2700
2701 CTCCTATACCCAAATCCAGCCATGGAAATGTTAATGGAAACACTGCCCTTGTGGGCTC 2760
2761 CRAAGAAATAAGAGGGAGGATTTTCACTGATTCATAGCCCGCATACCTGATA 2820
2821 CCAAAACAGGCAAGAAACAGAGAGAGAGGAGGAGGAAACTACAGGTCCATATCCCTCA 2880
2881 TTRACACAGACACAAATTTCTAATTAATTTTAAACAATTAACATAATATATTT 2940
2941 AAAGATGATATATTAATCTACTCAGTGTGGTGTCCCAAAATGCGAGGTGGTTAATAT 3000
3001 TTTAATTTCAACCAGTGTATTCAGCACATTAATAAGTATATAAAAAAAAAAAAAAAAA 3059

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Figure 6



WO 02/02587

PCT/US01/20917

Figure 7A

```

1  NNCACGAGCCTGTGCCCCGGAAGGTGGAGACTTGGGGGACGACTGAGAAATGCCAT 60
51  TTGAGGACCAAAGGAGAAAGAAACTACAGCCTAMTCTAGAGGGCCTCTGTCCCTGCC 120
121  TGGCTGGGTGGTCATGGAAACAGCTGCTGSCCCGACACTCTCCGGGCTAGCCTCCCTCC 180
1  H E P A A A L H F S R E P A S L L 15
181  TCCCTCCCTCAGCCTGGTGGACCTGGTCTCAGCCCACTTACGTCGCTGGGGGCGAGCTA 240
17  L L L S L C A L V S A Q E T V V G P A N 36
241  ATCCCTCCTTGGCAGTGGTGGGAGAAAGCACTACATACGCTGCCATCTGTACCCGAGA 300
37  P I L A M V G E N T T L R C H L S P E K 56
361  AAAATGCTGGAGACAGGAGGTGGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGG 360
57  N A E D M E V R W F R S Q F S P A V F V 76
361  TGTATAGGGTGGGACAGAGGAAACAGGAGGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGATCA 420
77  Y R G G R E R T E E Q M E S Y R G R I T 96
421  CCTTGTGAGCAAGCACTCAACAGGGGCAAGCTGGCCCTGGTCTACATACATACCTCACAG 480
97  F V S K D I N R G S V A L V I H N V T A 116
481  CCCAGGAAATGGGATCTACCCGCTTACTTCCAGAGGCAAGCTCTACGATGAGGCCA 540
117  Q E N G I Y R C Y F Q E G R S Y D E A I 136
541  TCTACGCCCTCTGGTGGGAGGCTTGGTCTAGGCCCTCATGAAATCAGGGCCCAAG 600
137  L R L V V A G L G S X P L I E I K A Q E 156
601  AGGATGGGAGCCTCTGGCTGAGTGCATATCTGGAGGTGGTACCCAGAGCCCTCACAG 660
157  D G S Y W L E C I S G G W Y F E P L T V 176
661  TGTGGAGGACCCCTACGGTGGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGG 720
177  W R D P Y G E V V P A L K E V S I A D A 196
721  CTGACGGCCCTTCAAGGTCACCCAGCTGTGATCATCAGAGACBAATATGTGAGGAATC 780
197  D G L E M V T T A V I I R D K Y V R N V 216
781  TGTCTGTCTGTCAACAACACCCCTGCTGGCCAGGAGAGGAAACTGTTCATTTTATTC 840
217  S C S V N N T L L G Q E X E T V I F I P 236
841  CAGAACTCTTATGCCCGGCACTCTCCCTGGATGGTGGCCCTAGCTGTATCCTGACCG 900
237  E S F M P S A S P N M V A L A V I L T A 256

```

Figure 7B

```

901 GATCTCCCTGGGATGGTGCACATGACTGTCTCATCTGGCTGTTTTCATCATCTTCATGGCTG 960
257 S P W N V S M T V I L A V F I I F N A V 276

961 TCAGCCTCTGTGGCTCANGAACTTCAGGGGAAAAAGATTCCGTCCAGGGGAAAGAA 1020
277 S I C C I K K L Q R E K X I L S G E K K 296

1021 AAGTTGAACAAGAGGAAAGAAATGCAACGCAACTTCAGGAAGAATTCCGATGGGGAA 1080
297 V E Q E E X E Y A Q Q L Q E E L R W R R 316

1081 GACACTTCTACATGCTGCTGATGGTGGTCCCTGGATCCAGACACCCGCTCATCCCGAGCTCT 1140
317 T F L R A A D V V L D P D T A H P E L F 336

1141 TCCCTCAGAGGACCGGAGAGGTGTGAGGCCGGGGCCCTACAGGCAGGAGTGCCTGACA 1200
337 L S E D R R S V R R G P Y R Q R V P D N 356

1201 ACCCAGAGAGATTCGACAGTTCAGCCTGTGTCTCCCTGGATGGGAGGCTTCGCTCAGGGA 1260
357 P E R F D S Q P C V L G W E S F A S G K 376

1261 AACATTCAGGGGAACTTCACAGAGTGGGGACCCACAGAGCCTATAGAAATCAGTTCCT 1320
377 H Y R C N F T E W G F T R R Y R I N S L 396

1321 TGGACTCACAGCCATGCGAGAAAGCCCTGGCCATCTCAGCAGCCACCGCAGACCCCCCTA 1380
397 D S Q P C R K P W P S Q Q F P K N P P N 416

1381 ATGAAGACACGCCCTCCCTCCCTCTGTGTCACCTAAGAGACAACTCCAGGCTGCCTTCT 1440
417 E R H A L L P S G H V R E H L P A A F F 436

1441 TCCACCCCTCCAGCCCTCTGCCCCAGTTTCTCCTCCTCAGTCTGTGGCTTTAGT 1500
437 T E T F A L C P S F L L L T S L W L * 455

1501 AGTCCCTTGGCTGTAATATGGGATGGGATCCAGGCATAGGGAACTAGTTSITTCATAG 1560

1561 CTCACAGTCAAAAAGAAAGTGAAGAGGCTGTGGCCAGCGAACCTACTGTTTAAATCA 1620

1621 GGATAACCAKATTAAGCCCAATATCCAGTTGGCCACAGATGCTGTGACTTNGAATAG 1680

1681 GCCAACAGGTTTACCCAGGATCAGAGAGGAGAGGAAATCCACAGGACCCACAGAGGGA 1740

1741 GAGGGAACAGAAATGACAGATCAGGAAAGAGGAAAGTGTGAGAGGAAAGGGAGGCTCCT 1800

1801 GCTGATTCCTCAGAAATGGCTTCGGACCCCTGGAGTGTTPGGAACCAATACCGGSCCCT 1860

```

WO 02/02587

PCT/US01/20917

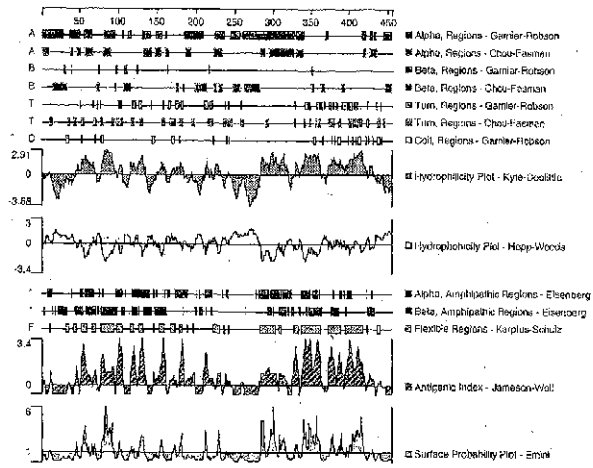
Figure 7C

```
1861 GTCCTCCCTCAGAGGATCTCCCTTGGAGGAGTCCECTTGCCEGGTGGGGCTCTCCCT 1920
1921 GGACTATGAAGCTGGAGATGCTCCCTCTACACATGAGGGACAGATCAGCATCTACAC 1980
1981 ATGTCCCGCTCAGCCCTTAATGTGCCCTGTGAGGDCATTCCTCAGGTGAGGGTCTGATGA 2040
2041 CAGCCCCATCTTCATCTGCCCTGCACATCAGGAGCCAGTGGGGTCACTGCTGCTGAGA 2100
2101 GGGCTGAACCTTCAGAGGTGGGGACCCAGGTTGTAAAGGATGGCTTAACTCCACCC 2160
2161 ATAGAGGCTAAAGGGTCTGGGGAGATGATGGCTCATTTCACCCCAAGCCAGGATTTCCA 2220
2221 CAGCACACACCCACAGCCCTGGACCTGGGATGAGGTGAATGAAAGACATGGACATCATG 2280
2281 GGNCTGGTTTGGCTCAGATCTCCCTGCATTAACAAGGGGTCAGTACTAGTCCCTGAG 2340
2341 TGTGCTGAGGTTTGGAGTCCCTGGTCCAGCAGGCGACTGAGCCAGGCTTACCTCCCC 2400
2401 ATTCCAGGTTCAATGGGGACACCAGTGGCTTCGAACTTCCCTSATCTAATTGTTTTTGA 2460
2461 CACTTAGAGGTTATGGGGCTTTAAGAGCTTTTGTATTTGGGTTAATTAATTAATGAC 2520
2521 ATTGACCATGAAACAAAATTTAAATCTTATCTTTTAAATTAATGTTAAATAGCAAT 2580
2581 AATAATCACTTATAGGTTAATGTAGATGGATGTTTTTGTGAAGAGCAATCAATGCTGT 2640
2641 CCAATTAATAAACAATAAAGTGTAAAAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAA 2682
```

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Figure 8



WO 02/02587

PCT/US01/20917

Figure 9A

```

1 CGATTGCGCTCGAAACTCCGGCGCTGCGACCGATCGGACTCTGGGCCGCGTGGGACCCG 60
61 CCGCGAGCTAGGGAGCCGAGAACCCGCGCGAGCCCGGAGGAGGCCAGGCGCCAGGCGGAGGTC 120
121 GCTGCGCCCTCGCAAGCCCGGAGCCGAGTGGAGCCGCGCCCGGCGCTGCTGAGACGCC 180
181 GTGACTTTGAAGTGTAACTTCAGGCGAGTGGCGCGATGCGGGAGATCGTGTGCTACCCG 240
3 M R E I V W Y R B
241 GTGACGGATGGGGCACCCATCAGCAAAAGATCTTACCTTCGACGCCAAGTCTCTCCACC 300
9 V T D G C T I K Q K Y F T F D A H F S T 28
301 AACTACTCAGACATGGAGACTACCGGAGCGAGGACCTGGTGAACAGTCCACTGTG 360
29 N Y S H H E N Y R K R E D L V Y Q S T V 48
361 AGGTCGCCGAGGTCCCGGATCTCAGACATGCTGCTATGAGTGGCCAGTGGGATCCAC 420
49 R L F E V R I S D N G P Y E C H V G I Y 68
421 GACCGCCACCACGGGAGAGTGGTCTGGCAACAGCAATCTTCCCTCAAGTTCATG 480
69 D R A T R E K V V L A S G N I F L N V M 88
481 GCTCTCCACCCTCCATTGAAAGTGGCTGCTGACACACAGCCCCCTCAGCGCTAC 540
89 A P P T S I E V V A A D T P A P F S R Y 108
541 CAAGCCAGAACTTCACGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG 600
109 Q A Q N F T L V C I V S G G K E A P H V 128
601 TATTCMAACGAGATGGGGAACCAATCGACCGAGTGGCCCTATCAGAGCCACCACTGGC 660
129 Y F K R D G E P L D A V P L S E P P A A 148
661 AGTCCGGCCCCCTCAGGACAGCGCCCTTCCGAGCCTTCTGCACTGACTGGAT 720
149 S S G P L Q D S R P F R S L L H R D L D 168
721 GACCCAGATGCAGAACTCAGTCCCTGCTGACCCGAGAACCCGGGCTGGGCAACC 780
169 D T K M Q K S L S L L D A E N R G G R P 188
781 TACAGSAGCGCCCTCCCGTGGCTGACCCAGATCCCAATCTCTCTCCAGCCARCC 840
189 Y T E R P S R G L T P D P N I L L Q P T 208
841 ACHGGAACATACCGAGAGCGGTGCTGAGCCCTTCCCGCTGGSTTCCCGCTGGSTCCAGCGCC 900
209 T E N I P E T V V S R E E P R W V H S A 228

```

Figure 9B

```

901 GAGCCGACCCACTTCCTGGCCACACCCGACCCCGAGCAGTGAAGGCACTGTGGGAGGA 960
229 E P T Y F L R H S R T P S S D G T V E V 248

961 CGTGCCCCTGCTACCTGGACCTCAGACCCACAGATCGACAAAGAGGCCCTCTTCAGCTGC 1020
249 R A L L T N T L N P Q I D N E A L F S C 268

1021 GAGGTCRAGCACCCGCTCTGTCCATGCCCATGCGAGGCGAGGTCACGCTGGTGGCCGCC 1080
269 E V K H P A L S M P M Q A E V T L V A P 288

1081 AAAGGACCCCAAAATTTGTGATGAGCGCCAGCAGAGCCCGGGTAGGGGACACAGTGGAGTT 1140
289 K G P X I V M T P S R A R V G D T V R I 308

1141 CTGTCCATGGGTTTCAGAACGAACTCTCCCGAGCCCATCTTCACGCTGGAGCGGGGTT 1200
309 L V H G F Q N E V F P E P H F T M T R V 328

1201 GGGAGCCGCTCTCTGGACGGCACGCTGAGTTCCAGGGGAGGAGCTGGTGGAGGCGG 1260
329 G S R L L D G S A E F D G X E L V L E R 348

1261 GTTCCCGCGAGCTCAGTGGCTCCATGCTCCATGATGCTGCGTCCAGCCGAGAACCCACTGGGCTCC 1320
349 V P A E L N G S M Y R C T A Q H P L G S 368

1321 ACCGACAGCCACACCCGGCTCATCGTGTGTTGAARACCCAAATATCCCAAGAGGAGCGGAG 1380
369 T D T H T R L I V F E N P N I P R G T X 388

1381 GACTCTAATGTTCCATTTGGCCCACTGCTGCCCGGCTCACCTTGGTCTGCGCCCTGACA 1440
389 D S N G S I G F T G A R L T L V L A L T 408

1441 CTGATTCGGAGCTGAGGTGAGGGCACCGCCCGCCCACTCCATCAGGCACCTGACATCT 1500
409 V I L E L T * 415

1501 CCGGACCGGTTTTCMTTCTTTCTAAACTATTTCAGTCTTCTCTAGTCTCTTCTCC 1560

1561 APTCTGTCCTTGGCTTCTCAGTGGTTTAAATTAACAACACAGACAAATTTGCCGACA 1620

1621 AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA 1680

1681 AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA 1724

```

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Figure 10

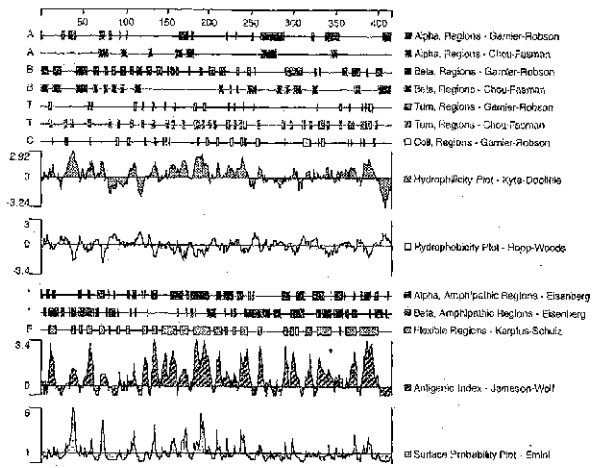


Figure 11A

```

1  CACGAGCCTGTGCCCCCTGGAAGGTTGGAGACTTGGGGGACGACGAGGAAATTGDCATTT 60
61  GAGGACCAAAAGGAGAAAAGAACTACACCCCHATTCTAGAAAGSCCTCCCTGTCCTCCCTG 120
121  CTCGSGGTGCTCATGGAACCAAGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG 180
1  M E P A A A L H F S R P A S L L 16
181  CTCCTCCTCAGCCTGTGTGCACTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG 240
17  L L L S L C A L V S A Q V T V V G P T D 36
241  CCGATCCTGCGCCATGGGGGAGAAAACACTACGTTACGATGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG 300
37  P I L A M V G E N T T L R C C L S P E E 56
361  AATGCTGAGGACATGGAGCTGCGGGTCCAGTCCAGTCTCCCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG 360
57  N A E D H E V R W F Q S Q F S P A V F V 76
361  TATAAGGTTGGAGAGAGAGAAACAGAGGAGCGAGAGGAGGAGTACCGAGGGAGAACCC 420
77  Y K G G R E R T E E Q K E E Y R G R T T 96
421  TTTGTGAGCCAAAGACAGCGGGGCGCCGCTGATCATACACAATGTCACAGCCGAG 480
97  F V S K D S R G S V A L I I H N V T A E 116
481  GATAACGGCATCTACAGTGTACTTCCAGAGAGCCAGTCCCTGCAATGAGGCCATCTCG 540
117  D N G I V Q C Y F Q E G R S C N E A I L 136
541  CACCTTGTGTTGGAGAGCAGCAGCAATCTCTTTCTGATCCCAATCCCGAGGGGACA 600
137  H L V V A D Q H N P L S W I P I P U G T 156
601  CTCCTCCATGAGAGAGATCCAGGGGAAATCCTTCCCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG 660
157  L S L * 160
661  TGAGTGAATTTGCCCTGCTAAGCCGTGGGCTTGACTTCTTGAAGAGCAGATGCGAAGTTC 720
721  AGTTGAGGCCATGAGCCGGGGGAAAATGTTGATCTCGGAAAGSAGTCTTATGCTGCC 780
781  TTAGCACAGAGCTGCTGCTTCTGAGAGTGAAGAGAGACACCCATCAATATGCTTGG 840
841  ACAACGGAAATTAACAGTCACTCCCGAGAGACTAGGATATTTGAATCTTATTTCTTGA 900
901  TGAATATTCCTTCACTCTTTCTGCTGATGCTGCTTCCAAAGAGAGTGAATATATAT 960

```


WO 02/02587

PCT/US01/20917

Figure 11B

961 AAGTAGACCGTTTATTAGCAAGACTTAATACAGAGCAAAAAAAAAAAAAAAAAA 1019

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Figure 12

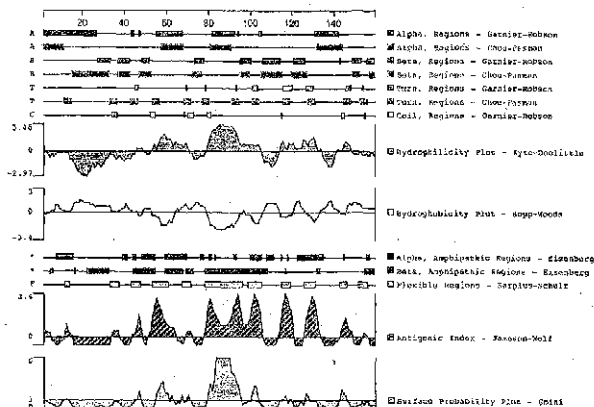


Figure 13A

```

1  ACATCCATGGGCTCTAATCCCTCAGTTTGGTCTGAGCTCTCCCAAGCTGGGATCAGGGCAG 60
1  M A L N L S L V E S L L K L G S G Q 18

61  TGGCAGGTSTTTGGGCCAGACAGCCCTSTCCAGGCCCTTGGTGGGGGAGGAGCCAGCMTTC 120
19  W Q V F G P D K F V Q A K V G E D A A F 38

121  TCCTGTTTCCCTGTCTCTCCTAAGNCCANTSCAGAGGCCATGGALSTGCGGTCTCTCAGGGCC 180
39  S C F L S P K T N A E A N R V R F F R G 58

181  CAGTTCCTCAGCCCTGGTCCAGCTACAGGGACGGGAGCAGCAGCATTCTTATGAGATG 240
59  Q F S S V V H L Y R D G K D Q P F H Q M 78

241  CCACASTATCAAGGCAGGACAAACTGGTGAAGCATCTATTGGCGAGGGGCCATCTCTT 300
79  R Q Y Q G R T K L V K D S I A E G R I S 98

301  CTGAGGCTGGAAAACATPACTGGTGGATCTGGCCCTCATAGGGTGCAGGATTAGTCTC 360
99  L R L E N I T V L D A G L Y G C R I S S 118

361  CAGTCTACTACAGGAGGCCATCTGGGAGCTACAGGTGTCCAGCACTGGGCTCAGTTCCT 420
119  Q S Y Y Q K A I W E L Q V S A L G S V P 138

421  CTCATTTCCATCAGCCGATATGTTGATAGAGACATCCAGCTACTCTGTCAAGTCTCGGGC 480
139  L I S I T G Y V D R D I Q L L C Q S S G 158

481  TGGTTCCTCCGGCCACAGCGAGTGGAAAGTCCACAGGACAGGATTTTCCACAGAC 540
159  W P F R P T A K W K G P Q G Q D L S T D 178

541  TCCAGGACAAACAGAGACATGCAAGGCCCTTGTGATGTGGAGATCTCTGACCCGTCCAA 600
179  S R T N R D M H G L F D V E I S L T V Q 198

601  GAGAACGCCGGGACATATCCCTGTTCCATGCGGCTGCTCATCTGAGCCGAGAGGTGGAA 660
199  E N A G S I S C S H R H A H L S R E V E 218

661  TCCAGGCTACAGATAGGAGATCCCTTTTCGAGCCATATCTGGGACCTGGCTACCCAA 720
219  S R V Q I G D T F F E P I S W H L A T K 238

721  GTACTGGGATACTCTGCTGTGGCCATATTTTGGCCATTTGTGGACTGAGATTTCTTC 780
239  V L G I L C C G L F F C I V G L K I F F 258

781  TCCAAATCCCACTGSAATCCAGGGGAACTGGACTGGAGAGAAAGCACGGACAGGCA 840
259  S K F Q W K I Q A E L D W R R K H G Q A 278

```

Figure 13B

```

841  GATTGAGAGACGCCCGGAAACACGGCAGTGGAGGTGACTCTGGATCCAGAGACGGCTCAC 900
279  E L R D A R K H A V E V T L D P E T A H 298

901  CCGAAGCTCTCCGPTTCTGATCTGAAACCTGTAAACCCATAGAAAAGCTCCCGAGGAGGTG 960
299  E K L C V S D L K T V T H R K A P Q E V 318

961  CCTCCTCTGAGAAGAGATTACAAAGGAGAGTGTGGTGGCTTCTCAGAGTTTCCAGCA 1020
319  F H S E K R P T R K S V V A S Q S F Q A 338

1021  GCGAACAATTACTGGGAGGTGGACGGACACACATAAAGCTGGCGCTGGCATCTCTGC 1080
339  G F H I W E V D G G H N K R W R V G V C 358

1081  CGGGATGATGTGGACAGGAGGAGGAGTCTGTGACTTGTCTCCCGATCATGGGTACTGG 1140
359  R D D V D R R K E Y V T L S P D H G Y W 378

1141  GTCCTCAGACTGAATGGAGACATTTGTATTTACATTAATCCCGTCTTATCAGCGTC 1200
379  V L R L N G E H L Y P T L N P R F I S V 398

1201  TFCGCCAGGACCCACCACAAAATAGGGGTCTTCCTGGACTATGAGTGTGGACCATC 1260
399  F P R T P P T K I G V F L D Y E C G T I 418

1261  TCCTTCTCAACATAAAATGACAGTCCCTTMTTATACCTGACATGTCGGTTTGAAGGC 1320
419  S F F N I N D Q S L I Y T L T C R F E G 438

1321  TATATGAGGCCCTACATTAAGTATCCCTCCATATGAGCAAAATGAAACATCCAGAGAC 1380
439  L L R P Y I E Y P S Y N E Q N G T P R D 458

1381  AAGCAACAGTGAATCTCTCAGAGGCAACCAAGCCCTTCCCTCCAGGAGGTGAATGTA 1440
459  K Q Q * 462

1441  GGATGAATCACATCCGATTCCTCTTTAGGATATTAAGGTCTCTCTCCCGATCCAAA 1500

1501  GTCGCCAGGACCCGGCCAGGTGGCTTCCGATGAAGGGGACTGGCTTCCACATGG 1560

1561  GAGTCAGGTGTCAATGGCTGCCCTGAGCTGGGAGGGAGAGGGCTGACATACATTTAGTT 1620

1621  TGGTCTCACCCTCATCTGGCTAAGTGTCTTGAARACCCCTCTCAGGTGAGGACCGTC 1680

1681  AGGAATCCCATCTCACAGGCTGTGGTGTAGATTAAGTAGACAAGGAATGTGATTAATGC 1740

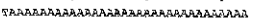
1741  TTAGATCTTATAGATGACAGGTGTATCCTTAAAGGTTGTTCATTATATTCACATTCAG 1800

```

WO 02/02587

PCT/US01/20917

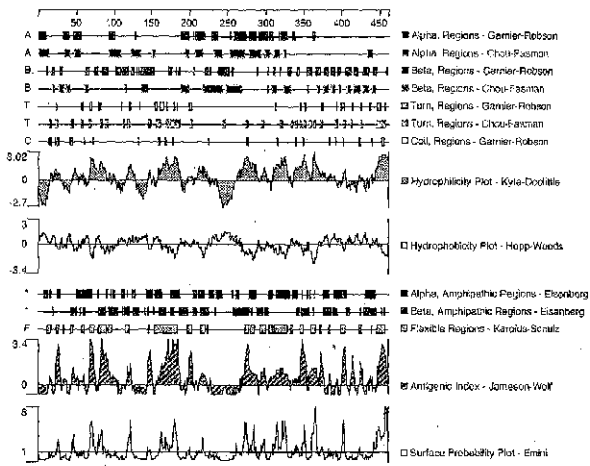
Figure 13C

1801  1833

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Figure 14



WO 02/02587

PCT/US01/20917

<110> Human Genome Sciences, Inc.

<120> B7-Like Polynucleotides, Polypeptides, and Antibodies

<130> PT124PCT

<140> Unassigned

<141> 2001-06-29

<150> 60/215,135

<151> 2000-06-30

<150> 60/225,266

<151> 2000-08-14

<160> 49

<170> PatentIn Ver. 2.0

<210> 1

<211> 733

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 1

```

gggatccgga gcccaaatct tctgacaaa ctacacatg cccaccgtgc ccagcacctg      60
aattcgaggg tgcacgctca gtcttcctct tcccccaaa acccaaggac accctcatga      120
tctcccgacc tcttgaggtc acatgcgtgg tggtagact aagcaagaa gacctgagg      180
tcaagtcca ctggtactg gacgctctg aggtgcata tgcacagaa aagcccgagg      240
aggagcagta caacgcaag taccgtctg tccgctctc caccctctg caccagact      300
ggctgaatgg caaggagtac aagtgcagg tctccaacaa agccctccca accctctctg      360
agaaaacct ctccaagcc aaaggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgctcc      420
catcccgagg tgagctgacc aagaaccagg tcagctgac ctgctgggtc aaaggcttct      480
atccaagcga catgcccctg gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga      540
ccacgctccc cgtgctggac tccgacggct ccttctctc ctacagcaag ctcaacctgg      600
acaagacag gtagcagcag gggacgtct tctcatgctc cgtgatgat gaggctctgc      660
acaaccacta cagcagaag agcctctccc tgtctccggg taatgagtg cgaagcggc      720
gaactagag gat                                     733

```

<210> 2

<211> 3357

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 2

```

caccagcagt agtagcagaa gcgaagagcg caaaagcaac cgtctcccc gcgctgtggc      60
cgattcatta atgcagctgg cccgacaggt ttcccgactg gaaagcgggc agtsagcgca      120
acgcaattaa tgtgagttag ctcaactcatt aggcaccoca ggccttacac tttatgcttc      180
cggctcgtat gttgtgtgga attgtgagcg gataacaatt tcaacaagga aacagctatg      240
accatgatta cgcacaagctc gaaattaacc ctcactaaag ggaacaaaag ctggagctcc      300
accgctgggt cggcctctct agaactagtg gatcccccg gctgcaggaa ttcggcagca      360
gagccagcgg cngctccact cagccagctc ccagatcgc tgggaacctt ccccagcaat      420
ggcttcctcg ggcagatccc tcttctggag cabaattagc atcaatatta ttctggctgg      480
agcaattgca ctcaatcttg gctttggtat ttcaggaga cctccatca cagtcaactc      540
tgtcctcca cctgggaaca ttggggagga tggatctcg agtgcaact ttgaacctga      600
catcaacctt tctgatctcg tgatacaatg gctgaaggaa ggtgttttag gcttggtcca      660
tgagttcaaa gaaggcaag atgagctgtc gtagcaggat gaaatgtta gaggcggac      720
agcagtgctt cctgatcaag tgatagctgg caatgcctct ttgoggtga aaaactgca      780

```

WO 02/02587

PCT/US01/20917

actcacagat	gctggcaact	acaaatgtta	tatcatcact	tctaaaggca	aggggaatgc	840
taccccttgag	tataanaactg	gagccttcag	catgcccggaa	gtgaatgtgg	actataaatgc	900
cagctcagag	accttgcggt	gtgaggtcc	ccgatggctc	ccccagccca	cagtggctctg	960
ggcactccaa	gttgaccagg	gagcacaact	ctcggaagtc	tccataaoca	gctttgagct	1020
gaactctgag	aatgtgacca	tgaaggttgt	gtctgtgctc	tacaatgtta	cgatacaaca	1080
cacatactcc	tgtatgattg	aaaatgacat	tgccaaagca	acaggggata	tcaaatgtac	1140
agaatcggag	atcaaaagcc	ggagtcaact	acagctgcta	aactcaaaag	cttctctgtg	1200
tgtctctctc	ttctttgcca	tcagctgggc	acttctgctc	ctcagccctt	acctgagctc	1260
aaaataatgt	gctctggcca	caaaaaagca	tgc aaagtca	ttgttacaac	agggatctac	1320
agaactattt	caaccaccaga	tatgacctag	ttttatattt	ctggggaggaa	atgaatctat	1380
atctagaagt	ctggagtgag	caacaagag	caagaadca	aaagaagcca	aaagcagaag	1440
gctccaatct	gaacaagata	aatctatctt	caaaagacata	ttagaagttg	ggaaaataat	1500
tcatgtgaac	tagacaagtg	tgttaagagt	gataagtaaa	atgcacgtg	agacaagtgc	1560
atccccagat	ctcaggggacc	tccocctgoc	tgtcaectgg	ggagtgagag	gacagggatag	1620
tgcattctct	tgtctctcga	atttttagtt	atatgtgctg	taatgttgct	ctgaggaaagc	1680
ccctggaaag	tcatacccaa	catatccaca	tcttatatto	cacaaatcaa	gctgtagtat	1740
gtaccctaaag	acgtgctcaa	tcgaactgcca	cttcgcaact	cagggggcggc	tcattttag	1800
taactgggtca	aatgattcac	tttttatgat	gcttccaaag	gtgccttggc	ttctcttccc	1860
aatctgacaaa	tgcacaagtt	gagaaaaatg	atcataatlt	tagcataaac	agagcagctg	1920
ggacacacoga	ttttataaat	aaactgagca	cottcttttt	aaacaacaaa	atgggggttt	1980
atctctcaga	tgatgttcat	ccgtgaatgg	tccagggagag	gacctttcac	cttgactata	2040
tggcaatag	ttatccacaag	ctctgaggtc	tctccttccc	atcctgcttg	gacagctaac	2100
acctcagttt	tcaatagcat	ctagagcaat	gggaactcag	tgggtgattt	tggccccca	2160
tctccggggg	aatgtctgaa	gacaattttg	gttaacctcaa	tgagggagtg	gagagggata	2220
cagtgtactc	caaaactagt	ggataaaagg	cagggatgct	gctcaacctc	ctaccatgta	2280
caggagctct	cccatttaca	actaaccat	ccgaagtgtc	aaactgttca	ggactaaagaa	2340
acctcgtttt	tgagttagaaa	agggcctgga	aaagggggg	caacaacac	tgtctgctc	2400
ctccacttag	tcaatggcaa	ataagcattc	tgtctcttgg	gctgctgeat	caacaagag	2460
agccgaactc	ctatcgggca	ccagataaac	atctctcagt	caaacagatt	gacaaggtct	2520
atgggaaatg	ccgtatggga	ttatctctag	cttgttgag	ttctaagttt	ctttcccttc	2580
atctaccctc	caagcccaag	ttctgtaaga	gaatgctg	agttctagct	caggtttctc	2640
tactctgaat	ttagatctcc	agacccttcc	tggccacaat	tcaaataaag	gcaacaacaa	2700
tataccttcc	atgagccaca	caagactttc	tgaagcaag	gacaatgact	gottgaattg	2760
agcccttgag	gaatgaagct	ttgaggnaa	agaatacttt	gtttccagcc	cccttccacc	2820
acctctcatg	tgttaaccac	tgccttctctg	gaccttggag	ccacgttgac	tgtatatacat	2880
tgtgttatag	aaaactgatt	ttagagtctc	gatcgttcaa	gagaatgatt	aaatatacat	2940
ttctcaaaaa	aaaaaaaaaa	aaactcgagg	gggggcccgg	taccaatto	gcoctatagt	3000
gagttcattt	acaattcact	ggcctgtcgt	ttacaacgtc	gtgaactggga	aaacctgggc	3060
gttaaccnac	ttaatgcctc	tgcagcaaat	ccccctttcg	ccagctggcg	taatacggaa	3120
gagggcccga	ccgatccccc	ttcccacaak	ttggcagcc	tgaatggcga	atggcaaat	3180
gttaaggtta	atcttttgtt	aaaattcggg	ttaaattttt	gttaaatcag	ctcatttttt	3240
aaccatagg	ccgaaatcgg	caaaatccct	tataaatcaa	aaagaatagac	cgagataggg	3300
ttgaggtttg	tccagttttg	gaaacaagagt	ccactattaa	agtgttccac	groggtga	3357

<210> 3
 <211> 2406
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 3	ccacggctcc	ggaatgaaca	acttttcttc	tcttgaatat	atcttaacgc	caaattttga	60
	gtgctttttt	gttaccatc	ctcatatgtc	ccagctggaa	agaatcctgg	gttggageta	120
	ctgcatgttg	atgttttgt	tttctctttt	ggctgttcat	ttgtgtgct	actataagga	180
	aatcaaac	caacgcaac	tgttttttgt	tgtttacttt	tgcctcttta	cttgtggagc	240
	tgtggcaagt	ctcatatca	aatacagaac	atgatcttcc	tctgtctaat	gttggacctg	300
	gaattgcagc	ttcaccagat	agcagcttta	ttcacagtga	cagtcctcaa	ggaactgtac	360
	ataatagagc	atggcagcaa	tgtgacctgt	gaatgcaact	ttgacactgg	aagtcatgtg	420
	aacctggagc	caataacagc	cagttttgca	aaagtggaac	atgatacatc	cccacacrgt	480
	gaaagagcca	ctttgtctga	ggagcagctg	ccccagggaa	aggcctctgt	ccacataact	540
	caagtccaa	tgagggacga	aggacagtac	caatgcataa	tcactctatg	ggtcgcctgg	600

WO 02/02587

PCT/US01/20917

gactacaagt	acctgactct	gaaagtcaa	gcttctaca	ggaaaaaaa	cactcacatc	660
ctaaaaggttc	cagaacacaga	tgaggtagag	ctcactgcc	aggctacagg	ttatccctcg	720
gcagaaglat	cttgcccaaa	cgtagcgtt	ctgccaaca	ccagccactc	caggaccctc	780
gaaggctctc	acaggtcac	cagtgtctc	cgctaaaag	cccccctgg	cagaaacttc	840
agctgtgtgt	tctggaatc	tcacgtgagg	gaacttaact	tgcccagcat	tgacctcaa	900
agtcagatgg	aaccaggac	ccatccaact	tggtgcttc	acatttcat	ccccctgc	960
atcattgctt	tattttcat	agccacagt	atagccctaa	gaaaaaac	ctgtcaaaag	1020
ctgtatttct	caaaagacac	aaacaaaaga	ctgtcacca	caacaaagag	ggaagtgaac	1080
agtgcttga	atctgaacct	gtggtctgg	gagccaggtt	gacctgat	gacatctaaa	1140
gaagctctcg	gactctgaac	aagaattcgg	tggtctcag	agcttgcat	ttgcactttt	1200
caaatgctct	tgatgaccc	agcaacttaa	tctgaaact	gcaacaagc	tagcaaacac	1260
ctggccatga	aaactgcccc	tcactgac	tgactcaac	ctggagcct	atggcttaa	1320
gaaagcacta	ctgcaactta	cagaattacc	ccactggatc	ctggccccac	agaattcctt	1380
caggatcctt	cttggctgcca	gactgaaagc	aaaaggattt	atttcccc	aaagtctcta	1440
agtatttcc	aaaagcagag	gtgtgtgaa	atttccagta	acagaaacag	atgggtgccc	1500
aatagattta	tttttatct	atagcttct	ctggactca	gaagaggcta	ttgagactat	1560
gagctcaag	acagggtctc	gcacaaactc	aatcataat	tgacatggtt	tatggattac	1620
tggaactctg	atagcataat	gaagtgtctc	taattaacag	agacatctta	aatatacaat	1680
aaagtcaaca	atgtggagt	aaagtcatca	agctctgctt	ttggagctta	agtcacaaag	1740
catctgcttt	aaactgtaat	ggcaccatgt	ttaaaggtgg	ttttttttt	gaactacatc	1800
ttctctttaa	aaatctctg	ctctctttaa	ctgttttga	ctttggaat	caattatata	1860
cagtcacaaa	tatttgat	gctcaactgt	tgatctgca	gcaattcag	atagtagctt	1920
aaatggccc	aagccccaaa	ctaaagctcc	ctttctggc	ctcaataga	ctttaaattt	1980
gactttctag	tgctcagtt	tgcaactctg	taatacagca	atgttaagta	gtcaagctct	2040
ttgataatg	gcactatgga	aatctgcaa	gatccactca	catatgtgtg	gagcagaggg	2100
gttaactggc	tacagtcaca	gcttaacttt	gttaaatgtt	ttctttatac	tgagccctgt	2160
agctcagag	catctgctga	cccttgaact	attcaaatgg	gcacatttag	tagtataaca	2220
gacttaacata	ggtgggccta	aagcaagctc	cttaactgag	caaaatttgg	ggcttatgag	2280
aatgaaagg	tgtaaatgt	actaacagac	aatcatcac	tctcagtttc	tcaattctca	2340
tgtaaatcag	agaatgctt	taaaagataa	aaactcaattg	ttattcttca	aaaaaaaaa	2400
aaaaa						2406

<210> 4
 <211> 3059
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 4						
ggcagagct	gtcatcogtt	tccatgcccgt	gaggtccatt	cacagaacac	atccatggct	60
ctccatgctca	gtttggtctc	gagttctctc	aagctgggat	ccgggagctg	gcaggtgttt	120
gggcagaca	agcctgtcca	ggccttggtg	ggggagagc	cagcatctct	ctgtttctctg	180
ctctctaaga	ccaatgcaga	ggccatggaa	gtgcggttct	tcaggggcca	gtttctctagc	240
gtgctccc	tctacagga	gggaaggac	cagccattta	tgacatgccc	acagttcaaa	300
ggcagacaaa	aactggtgaa	ggattctatt	ggggaggggc	gcactctctc	gaggtctgaa	360
aacattactg	tgttggatgc	tgccctctat	gggtgcagga	ttagtctcca	gtcttactac	420
cagaaggcca	ctctggagct	acaggtgcca	gcactgggct	cagttctctc	caattccatc	480
ggggatag	ttgatagaga	catccagcta	ctctgtcagt	ctctgggctg	gttccccggg	540
ccccacagca	agtggaagg	tcacaaagga	caggatttgt	ccacagactc	caggacaaa	600
agagacatgc	atggcctggt	tgatgtggag	atctctctga	ccgtccaaga	gaaagccggg	660
agcatatcct	gtccatgctg	gcacagcag	ctgagccag	aggtggaatc	cagggctacag	720
ataggagact	ggagaagaaa	gcacagcag	gcaggtaaaa	gaaaatattc	ctcttcacac	780
attatgact	ccttccaag	tctctctgtt	atggattttt	atattctgag	gcccgtgggt	840
ccctgcagag	ccaagttgt	gatgggaact	ctgaaattgc	agattctggg	ggaaggtgat	900
tttgttagaga	agccccatg	cttctctcag	atctctggag	ggtcccaaac	actcaaaaag	960
ggtcccaatc	cttggctctt	ccctctctcc	tgccctctgt	ttcccactgt	agccaggaac	1020
tgctctgctc	ctctgcttgc	tttcagaatt	gagagaagcc	oggaacacag	caggtaccac	1080
cgctcagag	ggtaacagtg	ggcattggat	aggaagatga	ccagtgacag	atattggacc	1140
catcagctt	gtagacagca	aatctgtgat	gcccgaatcc	accccaggtg	gcagctgctt	1200
ctaaataaac	ttcttgccc	aggaacttga	gggaaaagcg	tagggactgg	gtcagctagg	1260
aggggtccca	ggcaagcgc	cagggaactg	agggcaatag	tagctggctt	ctaggggtct	1320

WO 02/02587

PCT/US01/20917

```

gtgcaagg gaaagaag aagttagc gaactggg gtggaagg gctgaact 1380
ggagcactc aaggtctcac aaagtcaaat agagggtta cgtgggagg cagtggtagg 1440
gctgggtgaa catctcatgg ttgagcatct ccaagcatca gtgaggcacg ggggctgccc 1500
tggagaaggt acatggctgg tgggatagtg ggaotggocg gatcctaccc ggagccagtc 1560
tgcagtggga gggctgacct cttgtctcag ccagatatta gtcttcagta actcatgctt 1620
cctctctccc ccaccgcaac ccagtgaggg tgaactctga tccagagacg gctcaccrca 1680
agctctcggt ttctgatctg aaaactgtaa nccatagaaa agctcctcag gaggctcctc 1740
actctgagaa agattttaca aggaagagtg tggtagcttc tcagggtttc caagcaggga 1800
aacattactg ggaggtggag gtggagcaaa atgtagggtg gtatgtggga gtgtctgggg 1860
atgacataga caggggggag aacaatgtga ctttctctcc caacaatggg tattgggtcc 1920
tcagactgac aacagaaact ttgtatttca ctttcaatcc ccattttalc agctctcccc 1980
ccagcaccoc tcttacaaga gtaggggctc tcttggacta tgagggtggg aecctctcct 2040
tcttcaatac aaatgacagc tcccttattt ataccctgct gacatgtcag tttgaaaggt 2100
rgttgagacc ctatattccc atgctgatgt atgacaggga aaaggggact cccatattca 2160
tatctcaggt gtccctggga tgagccagag aagaccctgc ttaaaaggcc ccacaccaca 2220
gaecccagaca cagccaaagg agagtgtccc cgcaggtgg ccccagcttc ctctccggag 2280
cctgggcaca gagagtcagc ccccccctc tctttaggg agctgaggtt ctctcgcctc 2340
gagccttcca gcaagcggag tcacagcttc cagatgaggg gggattggct tgacctgtg 2400
ggagtcagaa gcaatggctg cctcgaagtg ggaaggaat agactcaat haggcttagt 2460
ttgtgaaac tccatccagc taagcagctc tgaagagtc acaactccc aggtctcaca 2520
tttcttagtc acggacagtg atctctgctc caaagtgaa gattaaagg acagcgatg 2580
tgaatcagtc ttgagagttt gagggccaca gtgtttgcta atgatgtgt ttttatgct 2640
atcaatttc cccaccataa aactctgttt gcottaatc ccaactkaat ttaattttc 2700
ctctctabac caaatccacc catggaatag ttaattggaa cactgctctt tgtgaggtc 2760
caagagataa agaggggcta ggtttttcca ctgattctat aagcccagca ttacctgata 2820
ccaaaccagc ccacagaaaa cagaagaaga ggaagaaaa ctacaggtcc atactcctca 2880
tcaacacaga ccaaaaattt ctaataaaaa tttbaaaaa ttaactaaa caatatattt 2940
aaagatgata tataactact cagtgtggtt tgtcccaca atgcagagt ggtttaatat 3000
ttaaatacca accaggttaa ttcagcaact taataagta aaaaaaaaa aaaaaaaa 3059

```

```

<210> 5
<211> 3059
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> SITE
<222> (1)
<223> n equals a,t,g, or c

<220>
<221> SITE
<222> (2)
<223> n equals a,t,g, or c

```

```

<400> 5
mrcagagcc tgtgcccctg gaaaggttgg agactgggg gaagactgga gaattgccc 60
ttgagagcca aaggagaaaa gaaactacac gctaattota gaaggctccc tgtcccctgc 120
tgcctgggtt gctcatggaa ccagctgctg ccttgcactt ctcccggcca gctcccctcc 180
tctctctcct cagcctgtgt gcactgtctc cagcccaagt tctgtctgtg gggccagcta 240
atcccactct ggccatggtg ggagaaaaa ctaactatcg ctgcccctctg tcaccggaga 300
aaaatgctga ggccatggag gtgcccgtgtt tccgtctca gttctcccc gcagtgtttg 360
tgtataaggg tgggacagag agnacagagg agcagatgga gggctaccgg ggaagaaatc 420
cctttgtgag caaagacatc aacaggggca gcctggccct ggtcatacat aactcaccg 480
cccagagaaa tgggatctac cgtgtttact tccaagaagg caggtcctac gatgaggcca 540
tctaagcct cgtgtgtgca ggccttgggt ctaagccctc cattgaaac aaggcccaag 600
aggatgggg catctggctg gagtgcgatc ctggagggtg gtaccacag ccctccacg 660
tgtggaggga cccctacggt gaggtgtgtc ccgcccgaag ggggtttccc atcctgag 720
ctgacggcct ctctcatggt accacagctg tgatcatcag agcaagbat gtgaggaaat 780
tgtctctctc tctcaaacac accctctctc gccaggagaa ggaactgtc atttttatc 840

```

WO 02/02587

PCT/US01/20917

```

cagaatcctt tatgcccagc gcatctccct ggatgggtgc cctagctgtc atcctgaccg 900
catctccctg gatgggtgtcc atgactgtca tctctgctgt ttccatcacc ttcatggctg 960
tcagcatctg ttgcctcaag aaacttcaaa gggaaaaaaa gattctgtca ggggaaaaaa 1020
aagttgaaca agaggaaaaa gaacttgacc agcaacttca agaagaatg cgatggagaa 1080
gaacatcttt acatgctgct gatgtggctc tggatccaga caccgctcat cccgagctct 1140
tcctgtcaga ggaccggaga agtgtgaggc ggggcccta caggcagaga gtgctgaca 1200
accctagagc attcgacagt cagccttgtg tcctgggatg ggagagcttc gctcagggc 1260
aacattacag ggaacttcc acagagtggg gaaccaccag agcctataga atcaatctct 1320
tggactcaca gccatgcaga aagccctggc cctctcaga gccaccgacc aacccccta 1380
atgaagaca cgcctcctc cctctgggtc acytaagaga acatcttcca gctgctttt 1440
tcaccccac tcacagcctc tgcccagtt ttctctctct cactagtctg tggctttagt 1500
agtbootttg cttgtaatta tgggatggga tccaggcata gggactagt ttttaaatc 1560
ctcccagcca aaaagaagt gagagaagct gttgggcagc gaacctactg tttaaatca 1620
ggataaccac attaagccca atatgcccgt tggaccaga tgcctggac ttgaaatga 1680
gcccgaaggg ttccaccaga tcagagagag gggaggatc cacaggacc ccagaaggga 1740
gggggaacca gatagcaga tcagagatag aggaagtgtt gagaggacc ccagaaggga 1800
gctgallcct cagaatgctc tctagacctt gggagtcttt ggaaccaat accggcctct 1860
gtcctccctt gagaggctc tctagacctt gggagtcttt ggaaccaat accggcctct 1920
ggactatgaa gctggagatg tctcttgaag gggctcctt tgcgggtgag cgtcttctct 1980
atgctccctt tcagccttta atgtgctgtt gaggccattc tbcaggttag ggtctgatga 2040
cagcccctc tcatctgccc ctgcactcac aggagccagt gggctcagtg tgcctgaaga 2100
ggactgaaa ctccaccagc tggggaccca ccaaggttgr aaggatgctt aagctccacc 2160
ataagagcta aaggctcctg ggaatgatg gctcatttcc acccaacccc aggatttcca 2220
cagcacacac ccaccggcct ggacctggga tgaagtgaag tgaagaacat ggaactgatg 2280
tgtgtgggtt tggctcagat gtcctgdaa taaaacaggg gtcagctact agtccctgag 2340
tgtgttgag gtttgagctc ctgctcagc agggccagtc tggaccaggt ctacgtcagc 2400
attcaggtt acatgggaca ccagtgctt caaactctct gatctaata tgtttttaga 2460
cacttgaaga ttattgagga ctttaagaaa cttttgttta ttgggttaa tatttatgac 2520
atttgacctt gaaccacaaa atttaaatg ttatcttcta atttatgta aaalagcatt 2580
aataaatcag ttatcagtta atgtagatg gatgttttgc gaaaaagcaa tctatgtgt 2640
cacaataaaa aaaccaaaag tgtaaaaaaa aaaaaaaaaa aa 2682

```

```

<210> 6
<211> 1726
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> SITE
<222> (1)
<223> n equals a,t,g, or c

<220>
<221> SITE
<222> (2)
<223> n equals a,t,g, or c

```

```

<400> 6
nncgattcgg ctccaaactc cggcgtgca gccgactcga ctctgggccc cgggtgggac 60
cgcgcgcagc tagggagccg agaaccggcg agagcccaga ggaagcccag agcgcgaggg 120
tcgctcgcgc tcgcagagcc ggagccagct cgagcccggc gcccgggctg cctggagagc 180
ccgtgacttt gaagtgtaac tcaagacag atgggcgcat gccggagatc gctgtgtacc 240
gggtgacgga tgggtggccc atcaagcaaa agatcttacc ctccgacgoc atgttctcca 300
ccaactactc acacatggag aactaccgca agcggagagya cctgggtgac cagttccactg 360
tgaggtgccc cagagtcagg atctcagaca atggtcccta tgaagtgcac tggggcactc 420
acgaccgcgc caccaggag aggtgggtcc tggcatcagg caacatcttc ctcaacgtca 480
tggctcctcc cactccactt gaagtggtgg ctgctgacac accagccccc ttcagcgcct 540
accaaagcca gaacttcaag ctggctcgcg tctgtctctg aggaaaaaca gccaccatgg 600
tttatctcaa agagatgggg gaaccatcgc acgcatgtgc cctatcagag ccaccagctg 660
cgagctcggg cccctctacag gacagcaggg ccttcagcag cctctgcac cgtgacctgg 720

```

WO 02/02587

PCT/US01/20917

```

atgacaccaa gatgcagaag tcaactgtccc tcctggagcc cgagaaccgg ggtgggagac 780
cctacacgga gcgcccctcc cgtggcctga ccccagatcc caacatcctc ctccagccaa 840
ccacagagaa calacacagag acggtcgtga gccgtgagtt tccccgctgg gtccacagag 900
ccagagccac ctacttccctg gcacacagcc gcaccccgag cagtgcaggg actgtggaag 960
tacgtgcccc gctcaccctgg accctcaaac cacagatcga caacgagggc ctcttcagct 1020
gcagagtcac gcacccagct ctgtcgatgc ccactgcaggc agaggtcacg ctggttgccc 1080
ccaaaggacc caaattctgt atgacgcccc gcagagcccc ggttggggac acagttaagg 1140
ttctgggtcca tgggtttcag aacgaagtct tcccggagcc catgttcacg tggacgctgg 1200
ttggggagcc cctcctggag ggcagcctgt agttcgagcc gaaggagctg gtgctggagg 1260
gggttccgac cgaactcaat ggcctcctgt atcgctgcac cgcaccagac ccactgggct 1320
ccaccgacac gcaccccggc ctcatcctgt ttgaaaacc aaatctccc agaggaaccg 1380
aggactctaa tggttccatt ggcctcactg gtgcccggct cacttgggt ctgcccctga 1440
cagtgattct ggagtgagc tgaaggcaac cgcctgggac actccatcag gaactgacat 1500
ctcccgagcc ggtttccatt cctttctaaa actatttcca gctctgttct tagctctttt 1560
ccatctgtgt ctggctctct tcaagtgggt taattaaaac aaacagacca attttcccca 1620
caaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1680
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaa 1726

```

```

<210> 7
<211> 1021
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> SITE
<222> (1)
<223> n equals a,t,g, or c

```

```

<220>
<221> SITE
<222> (2)
<223> n equals a,t,g, or c

```

```

<400> 7
nncagagcc tgtcccctg gaaaggttg agacttggg gacgactga gaattgccat 60
ttgaggacca aagagaaaa gaaactaac gctaatcta gaaggctcc tgtccctgcc 120
tctctcctct cagcctgtgt gcactggtct cagccaggt cactgtctg gggccactg 180
atcccatcct ggccatgggt ggaagaaca ctacgttac atgtgtctg tcaccagag 300
aaaaatctga ggcacatggg gtgcgggtgt tccagtctca gttctccct cagtgcttg 360
tgtataaggg tggaaagag agaacagag agcagaaga ggagtaccg gggagaacca 420
cctttgtgag caaagacagc aggggcagcg tggccctgat cacaacaat gtccagccc 480
aggataacgg catctaccag tgttacttcc aagaaggcag gtcctgcaat gaggccatcc 540
tgcaccttgt ggtggcagac cagcaaatc cctctcctg gatcccatc cgcagggga 600
cactcctcct atgaaaagaa gattccaggg gaaaaatct tcctcctga caagggccac 660
catgagtgag ttgcccctgc taagccgtgg gottgacttc ttgagaagca catgcagaac 720
tcagttgagg ccctgagccc ggggaaaatg gtgaatctcg gaagagaagt cctatgcttg 780
ccttagcact gagctgtgca ctctgagag tgaaggaga caccatcaat aattgtcttg 840
ggcacaactg aataaacagt gactgcccag aagaactcga tatttgaat ctatttctt 900
gatgaatatt catcctgact tctttcctga aatgctgttt gcaaaagag tgacttata 960
gtaagttagc cgttttatta aagcaagact taatacagaa gcaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1020
A 1021

```

```

<210> 8
<211> 1835
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

<220>

WO 02/02587

PC/US01/20917

<221> SITE
<222> (1)
<223> n equals a,t,g, or c

<220>
<221> SITE
<222> (2)
<223> n equals a,t,g, or c

<400> 8
nnaacatccat ggcctctaag ctcagtttgg ttctgagctt cctcaagctg ggatcagggc 60
agtygcagggt gtttgggcca gacaagcctg tccaggcctt ggtgggggag gacgcagcat 120
tctctgtgtt cctgtctcct aagaaccaatg cagaggccat ggaagtgagg ttcttcaggg 180
ggcagttctc tagcgtggto caacctcaca gggacgggaa ggaaccagca tttatgcaga 240
tgcacacgta tcaagccagg acaaaactgg tgaaggatc tattgaggag gggcgcattt 300
ctctgaggct ggaaaaacatt actgtgttgg atgctggcct ctatgggtgc aggtattgtt 360
cccaagtctta ctacagaag ggcacatggg agctacaggt gtcagcactg ggtcagttc 420
cctccatttc catcacggga tatgttgata gagacatcca gctactctgt cagtcctcag 480
gctggttccc ccgggccaca ggaagtgga aaggtccaca agaacaggat ttgtccacag 540
actocaggac aaacagagac atgcatggcc tgtttgatgt ggaagctcct ctgaccctcc 600
aagagaacgc ccggagcata tctgttcca tggggatgc tcatctgggc agagaggtag 660
aeltcaagggt acagatagg gatacctttt tggagctat atcgtggcac ctgctacca 720
tctcaaat ccagtggaac atccaggcgg aactggactg gagaagaag caggacagg 780
cagatbtgag agacgcccag aaacacggag tggaggtgac tctggatcca gagaagctc 840
accagagct ctgctttct gatctgaaa ctgtaccca tagaaaact ccccaggag 900
tgcctcactc tgaagaagaa ttacaagga agagtgtgtt ggctctcag agtttccaa 960
cagggaacaa ttactggag gtgacggag gacacataa aggtggcgc gttggagtgt 1020
gcgggatgga tgtggaacag aggaaggagt acgtgacttt gctcccgat catgggtact 1080
gggtccctcag actgaaatga gaacatttgt atttccactt aaatcccgt tttatcagcg 1140
tctcccag gaccocact acaaaaatag ggtctctct ggactatgag tbtgggaaca 1200
tctcctctt caacataaat gaccagtccc ttattatac cctgaactgt cgtttgaaag 1260
gcttattgag ccctacatt agtatecgt cckataatga gcaaaatgga actcccagag 1320
aagaacaaca gtgagtoctc ctacacagca accacgccc tctcccag ggttgaatg 1380
taggatgaat caatcccac attctctttt aggatatta aggtctctct cccagatcca 1440
aagtcgccca gcacccggcc aaggtggtct ccagatgag gggactgpc ctgtccacat 1500
gggagtcagg tgtcatggct gccctgagct gggagggag aaggtgaca ttaoattag 1560
ttgtctcaca ctccatctgg ctaagtgatc tgaataacc acctctcagg tgaagaaccg 1620
tcaggcaatc ccactcaca ggcctgtgtg tagattaaat agacaaggaa tgtgaataat 1680
gcttagatct tattgatgac agagtgtatc ctaatggttt gttcattaka ttacactttc 1740
agtaaaaaaa aaaaaaanaa aaaaaaanaa aaaaaa 1800
1825

<210> 9
<211> 2526
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 9
aattcggcac gagaggcagc ggcagctcca ctacagcagt acccaggata cgtcggggaa 60
ccttcccaca gccatggctt cctgggggca gatcctcttc tggagcataa tttagcatac 120
tcattaltct ggttgaagca attgcactca tcatlqgett tggatltca gggagacact 180
ccatcacagt cactactgtc gctcagctg ggaacattgg gaggatgga atcctgagct 240
gcacbttaga acctgacatc aaactttctg atatcgtgat acaatggctg aaggaaagtg 300
ttttaggctt gttccatgag ttcaagaag gccaaagatg agcttgcca gaggatgaa 360
atgttcagag gcccggacag cagrttttgc tgatcaagtg atagtggca atgctcttc 420
tgggctgaa aaagctgcaa ctacagatg ctggcaacta caaagttrac atgactactt 480
ctaaaggcaa gggaaatgct aaccttgat ctcaaaactg agcctcagc atgonggaag 540
tgaatgtgga ctataatgac agctcagaga ccttgcggtg tgaagctccc agatggtccc 600
cccagccca agtggctcgg gcatcccag tggaccagg agcaacttc tggaaagtct 660
ccaataccag ctttgagctg aactctgaga atctgacctt saaggttctg tctgtctctt 720

WO 02/02587

PCT/US01/20917

```

acaatgttac gatcaacaac acatactcct gtatgattga aaatgacatt gccaaagcaa 780
caggggatbat caaagtgcaca gaatcggaga tcaaaaggcg gagtcaccta cagctgctza 840
actcaaaaggc ttctctgtgt gtctctctct tctttgccat cagctggcca cttctgcctc 900
tcagccctta cctgatgcta aaataatgtg ccttggccac aaaaaagcat gaaaagtcat 960
tgttacaeaa gggatctaca gaactatttc accaccagat atgacctagt ttlatatttc 1020
tgggaggaaa tgaattcata tctagaagtc tggagtgcgc aaacaagagc aagaacaaca 1080
aagaagccaa aagcagaagg ctcaaatatg aacaagata abctatcttc aaagacatat 1140
tagaagtgg gaaaataatt cabtgaaact agacaagtg gtttaagagt ataatgtaaaa 1200
tgacvtggga gacaagtcca tccccagatc tcaagggact cccccctcct gtcacctggg 1260
gatgagagga caggatagtg cabgttcttt gtctctgaa ttttagttat atgtgctgta 1320
atgttgcctc gaggagccc ctggaaaagc tatcccaaca tatccacatc ttatattcca 1380
caaattnaagc tgtagtatgt accctaagac gctgctaact gactgcaact tggcaactca 1440
ggggggcctg ctttttagta atgggtcaaa tgattcaact tttatgatgc tcccaaaagg 1500
gcttggctt ctctcccaa ctgacaaaag ccaaaagtgg agaaaaatga tcataatttt 1560
agcabaacaa gagcnaagtc gcgacacaga ttttataaat aaactgagca ccttcttttt 1620
aaacaaacaa atgggggttt attctccaga tgaatgtcat ccctgaaag gtcacgggaa 1680
ggaccttca ccttgactat atggcattat gtcaatcaaa cctctgagcc ttctctcttc 1740
catcctgcgt ggacagctaa gaectcaagt tcaatagca cctagagcag tgggactcag 1800
ctgggggtgat ttggccccc acctccgggg gaatgtatga agacaatttt ggttaactca 1860
atgagggagt ggaggaggat acagtgcctc taccactatg agacaatttt ggttaactca 1920
tgctcaacc tctatccatg taagagagct ctcccaatga caactacca atccgaagtg 1980
tcaaacctgg tcaggactaa gaaccccctg ttttagtagt aaaaaggcct gaaaagaggg 2040
ggcccaacaa atctgtctgc ttctccactc kagtoatgg caataaaga ttctgtctct 2100
ttggctactg cctcagcaaa gcagaccaga actctatcgg gccaccagat aacatctctc 2160
atgaaacaga gttgacaagg cctatgggaa atgctgtatg ggattatctt cagctgtttg 2220
agttcthaag ttctctctcc ttaattctac cctgcaagcc agttctgta agaaaaatg 2280
ctgagttcta gctcaggttt tcttaactct aabttagatc tccagccctc tctctgccc 2340
aattcaaat aagggcaaaa acatataact tccatgaagc acacacagac ttttgaaggc 2400
aaggacaatg actgctgtaa ttgagccctt gaggaatgaa gctttgaagg aaaaagatac 2460
tttgtttcca gccccccttc cacactcttc atgtgttaac cactgccttc ctggaccttg 2520
ggcccacggt gactgtatta catgttgtta tgaaaaactg attttagagt tctgactcgt 2580
caagagaatg atcaatata catttctctaa aaaaaaaaa aaaaaa 2620

```

```

<210> 10
<211> 1675
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> SITE
<222> (1549)
<223> n equals a,t,g, or c

```

```

<400> 10
gtacgacyca ctatagggwg agagctatga cgtcgcctgc aagcgtaaac ttggggccct 60
cgagggatcc tctagagcgg ccgccccttt ttttttttt tttgagaat aacaattgag 120
ttttattctt taaggcatt ctctgattta catgagaatt gagaactga gatgtatgat 180
ttgtctgta gtcatttca cacccttca ttctataag ccccaattt tgcctagtta 240
aggagcttgc tttaggdoea cctatgtaag tctgtatac tagotaatg gccctttga 300
atagttcaag ggtcagctaa tgcctcggc ttcatggctc cagtataag aacaattta 360
acaaaattaa gctgttactg tagcctgatt acccttctgc tccacacata tgtagtggga 420
tcttgcagga ttccatagt gccaatbacc aaagccctg actacttagc atgtgtat 480
taagatgtg caaacctgag cactgaaaag tcaaaattaa agtcatattg agggcagaa 540
aaggagcctt agtttggggo ttggccatt ttactactt atctgaaakt gctgagata 600
caactgatga gcatatcaaa tttttttgac tttatataat tgatttttaa ggttaaaaa 660
aataaaaaga aaccaataat ttttaaggga aagatgtagt tcaaaaaaaa aaccaccatt 720
aaacatgtg ccaattcagg ttaaaaaaaa tgccttctga cttagacct aaaaacagag 780
cttgatgact ttactccaca atttgtgca ttagtgtata ttaaatgct ctctgtaat 840
tagaacaact tcaattatgct atcaagatcc cagtatacca taaaaactgt caattatgat 900
ttgagttgtt gcaagccctt gctcgtgagc tcatagcttc aatagcctct tctagtacco 960

```

WO 02/02587

PCT/US01/20917

agaggaagct	atagataaaa	aataactcta	ttggcaacc	atctgtttct	gttactggaa	1020
atctccaac	acctctgctt	ttggaaatca	cttagaaaac	ttgaggggaa	ataattccctt	1080
ttgctttcag	tcggcagca	agaaggatcc	tgaggaatt	ctgtgggtcc	aggatccagt	1140
ggggtaatto	tgtaagctgc	agtatgtctt	gcttaaaagc	ataggtctca	gaggtgagtc	1200
cagatcagtg	aagggcgaag	ttccatggcc	aggtgttggc	tagtcttctt	gcaggtttca	1260
gattaagatg	ctgggtcctc	caaagccatt	tgaaaagtgc	aaatggcaag	ctctgcaggc	1320
caccgaattc	ttgttcagag	cccagaagct	tctttagatg	ccatctcagg	tcaacctggc	1380
tcccagaaco	acaggttcag	atagcaactg	tcacttccct	ctttgtttgt	gtgacaggtc	1440
tttttttgt	gtctttgaa	gaatacagct	tttgacagag	ttgtttctt	agggtctca	1500
ctkgggtat	gaaatgaaa	gcaatgatgc	aggggggat	gaaaatgtna	agcagccaa	1560
ttggatgggt	ctgggttcc	atctgacttt	gaaggtcaat	gctggccaaa	gttaagtccc	1620
tcactgaggt	attccagaac	acacagctga	agttctgcc	aggggtggc	tttag	1675

<210> 11
 <211> 786
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> SITE
 <222> (754)
 <223> n equals a,t,g, or c

<220>
 <221> SITE
 <222> (778)
 <223> n equals a,t,g, or c

<400> 11						
ggaatgaaac	actttttctc	tottgaatat	atcttaacgc	caaattttga	gtgctttttt	60
gtaccaccatc	ctcatatgtc	ccagctggaa	agaactcctgg	gtggagcta	ctgcatgtgt	120
attgttttgt	ttttcttttt	ggctgttcat	ttgttggtc	actataagga	aactataaac	180
aaacagaaac	tgttttttgt	tgtttacttt	tgcatcttia	cttggtgago	tgtgggaagt	240
actcatatca	atacagaaac	atgatcttcc	tctgtctaat	gttgagcctg	gaattgcagc	300
ttcaccagat	agcagcttta	ttcaccagtga	cagtcctctaa	ggaactgtac	ataataggcc	360
atggacagca	tttgaccttg	gaatgcaact	ttgacctgg	aagtcatgtg	aactctggag	420
caataaacgc	cagtttgcaa	aaggtggaaa	atgatactc	cccacacctc	gaaagagcca	480
ctttgctgga	ggagcagctg	cccctaggga	aggctctggt	cccatacctc	aagtycaagt	540
gagggagcaa	ggacagtaac	aatgcataat	catctatggg	gtcgcctggg	actacaagta	600
ctgactctg	aaagtcaag	cttctctacg	gaaaataaac	actcactc	ttaaagttcc	660
agaaacagat	gaggtagagc	tcacctgcca	ggctaacagt	tatctctgg	cagaagtatc	720
ctggccaaac	gtcagcgttc	ctgccaacac	cagncactcc	aggaccctg	aaggcctnta	780
ccaggt						786

<210> 12
 <211> 2008
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 12						
cgggggcttt	ctaaggggaa	aaactctact	aaagggttca	aaagctggag	ctccaccgg	60
gtggcgccg	ctctagaact	agtggatccc	ccgggctgca	ggaattcggc	acgagctcgt	120
gcccgaaltcg	gcacagatca	cagaacacat	ccatggctct	makgtcagt	ttggttctga	180
gtctctcaaa	gctggawtca	gggacgtggc	aggtgtttgg	gcccagcaag	ctgtctcagg	240
ecttgggtggg	ggaggagcca	gcattctcct	gtttcctgtc	tcttaagacc	aatgcagagg	300
ccatggaagt	gcggttcttc	aggggccagt	tctctagcgt	ggtccacctc	tacagggaag	360
ggaaaggacca	gccatttatg	cagatgccac	agtatcaagg	caggacaaaa	ctggtgaagg	420
attctattgc	ggagggggcc	atctctctga	ggctggaaaa	cattactctg	ttggtgctg	480
gcctctatgg	gtgcaggatt	agttccaggt	cttactacca	gaagggccatc	tgggagctac	540

WO 02/02587

PCT/US01/20917

```

agggtgcagc actggggtca gttccctcga ttccatcac gggatctgtt gatagagaca 600
tcaagctact ctgttagtcc tggggtgggt tccccggcc cacagcgaag tggaaaggtc 650
cacaaggaca ggatttgtcc acagactcca ggacaacac agaatctgat ggcctgtttg 720
atgtgggat ctctctgacc gtccaagaga agcccggaag catatcctgt tcaatgcggc 780
atctcaatct gagccagagc gtggaatcca gggtaacgat agagatacc tttttggagc 840
ctatatctgt gmacctggyt accaaagtac tgggaatact ctgctgtggc ctattttttg 900
gcatctgttg actggagaag aaagcagcga caggcagaat tgagagaagc cgggaaccac gcaagtgagg 960
actctctgga tcaagcagag gctcacocca agctctggat tcttgatctg aaaaactgta 1020
ccakagaaa agctctccag gaggtgccc actctgagaa gagattaca aggaagatg 1080
tggttgcttc tcaagcttcc caagcgggga acatctactg ggaggtggac ggaagncaca 1140
ataaaagtg gcccgtggga gtgtgcggg atgagtggga caggaggaag gactcgtga 1200
ctttgtctcc gactcatggg tactgggtcc tcagactgaa tggagaacat ttgtatttca 1260
cattaatcc cggttttatc agctctctcc ccaggacccc acctaaaaa ataggggtct 1320
toctggacta tgagtggggg accctctctc tottcaaac aatgacacg tcccttatt 1380
atacctgac atgtgggttt gaaggttat tgaggcccta cttgagtat ccgtctata 1440
atggcaaaa tgaactccc agagacaagc aacagttagt cctctcaaa ggaaccacg 1500
ccctctctcc ccaggggtga atgttaggac gaatcacac ccactcttt ctttaggat 1560
atttaggtct ctctccaga tcaaaagtcc cgcagcagcc gccaaggtg gcttccgat 1620
gaaggggac tggcctctcc acctggggtc cagggtctat ggtgcccctg agctggggg 1680
gaagaagct gacattacat ttagtttgct ctactccat ctggotaagt gatctgaaa 1740
taccacctct caggtgaaqa accgtcagga attccatct ccaggctgt ggttagatt 1800
aagttagaca gaattgtgaa taatgcttag atcttattga tgacagatg tatctaatg 1860
gttttttcat tatattcac tttcagtaa aaaaaaaa aaaaaaaa aaaaaaac 1920
tcaagggggg gcccggtacc caattcgg 2000

```

- <210> 13
- <211> 2799
- <212> DNA
- <213> Homo sapiens

```

<400> 13
tgggacactg tggaaagcca gagaatctga tccccggctc cacaaactca catatogga 60
gtaagtggga gccaaagaaa atctcttttc tctctttttg ggacagtttg tgactagtta 120
tgcctgtgcc cctggaaagc ttggagactt gggggagcac tggagaattg ccatttgagg 180
accaagggag aaagaaact acacgctaact tctagaaagg cctcctccc tgcctgtctc 240
gggtgctcat ggaacagct gctgcccctc actctccccc gccagctccc ctctctccc 300
tctcagcct gtgtgactgt gtctcagccc agtttaactg cgtggggcca gctaaacca 360
tcttgcccat ggtgggagaa aaactacat taccgtcca tctgtccc gagaaaaatg 420
ctgaggacat ggagtgccg tgggtccggt ctcaagtctc ccccgagtg ttigtgtata 480
agggtgggag agagagaaca gaggagcaga tggaggatg ccggggaaga atcactttg 540
tgaacaaga catcaacagg ggcagcgttg ccttggtcat acataacgtc acagcccag 600
agaatgggat ctacccgtgt tacttccaaq aagccagctc ctacgatgag gccatctcac 660
gccttggtgt gccagcctt gggctcaag cctcattga aatcaaggcc caagggatg 720
ggagcactct gctggagctc atactggag ggtggtacc agagcccctc acagtgtgga 780
gggaccctca cytgaggtt gtgcccgcc tgaaggaggt tccatcgtc gatgctgacg 840
gcctctcat ggtcaccaca gctgtgatca tcagagacaa gtatgtgagg aatgtgtctc 900
gctctgtcaa caaccccctg ctggcccagg agaaggaac tgctattttt attccagaat 960
cctttatgcc cagcgcact cctggatgg tggccctagc tgtctctctg accgcatctc 1020
cctggatggt gtcctgact gtcctctctg ctgtttctat catctctatg gctgtcagca 1080
totgttgcat caagaactt caaagggaaa aaaagattct gtcaggggaa agaagattg 1140
aacagagga aaagaaatt gccagcaac tcaagaaga atgtcgatgg agaagaact 1200
tcttacatgc tctgtatgtg gtcctgagtc cagacacgc tcaaccogag ctctctctctg 1260
cagaggaacg gagatgtgt aggggggccc cctacagga gagagtgcct gacaaccacg 1320
agagattcga cagtcaagct tctgtctctg gatgggagag ctctgctca ggaaacatt 1380
acaggggaaa ctctcacagc tggggaccca ccagagccta tagaatcaat tcttggact 1440
cacagccatg cagataagcc ctggccatct cagcagccc cgcacaacc cctaatgaa 1500
agacacgcc ctctcccctc tggctccgta agagaacatc tccagctgc ctttttaca 1560
cccactccag cctctgccc cagttttctc ctactcacta gtcgtgtgct ttagtagtctc 1620
ctttgtctgt aattatggga tgggategag gcataaggaa ctatgtgttt catagctcc 1680

```


WO 02/02587

PCT/US01/20917

```

agtcaaaaag aaagt9agag aagcttcttg gcagcgaacc tactgtttaa aatcaggata 1740
accacattaa gcccaatctg ccagttggca ccagatgctg tggacttggg atgaggccaa 1800
cagggttccac caggatcaga gaggagagag gaattccacag gaccaccaga agggaggggg 1860
aaccagatat gcagatcaga gatcagagaa gtgttgagag gaaaggggag gtccctgctga 1920
ttcccaaaaagg gcttctctgg accctgggaa cgtttggaaa ccaataccgg gccctgctct 1980
ccctcagagag gattctccct ttgaaggagt cctttgccc ggtggcctc ttcctggact 2040
atgaagctgg agatgtctcc ttctacaaca cagggacag atcacacatc tccacatgct 2100
cccgctcagc ctttactgtg cctgtgaggc ccttctcag gttagggtct gatgacaccc 2160
ccatcttcat ctgcccgtca ctccacggag ccagtgggtc atggtgctc gaaggggcc 2220
tgaacttca caggtgggg accaccaag gttgtaagg atggtcaagt cccaccataa 2280
gagctaaaag gtccctgggg atgatggctc atttccaccc aaccccagga ttccacagc 2340
acacacccac aggcctggac ctgggatgaa gatgaatgaa gaacatggac tcatgtggat 2400
gtggttggc ttagatgctc ctgcaataaa caaggggta gtaactatgc cctgctgctg 2460
gtttaggttt gaggctctgg tcgagcaggg cagtaotgga ccaggtctac gtcagcctc 2520
aggtcaatg ggggacaca gtggctttaa acttctgat ctaattatg ttttagacac 2580
ttagaagta ttgaggactt taaagaactt tctttatct gggtaatat tttagcatt 2640
tgaccatga aacaaaaatt taaaatgta tctttatct tatgttaaaa tagcattat 2700
aatcagta taggtlaatg tagatggat gttttgtaa aaagcaact atgtgtctca 2760
aataaaaaa caaaaagtyt aaaaaaaa aaaaaaaa 2799

```

<210> 14
 <211> 282
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 14
 Met Ala Ser Leu Gly Gln Ile Leu Phe Trp Ser Ile Ile Ser Ile Ile
 1 5 10 15
 Ile Ile Leu Ala Gly Ala Ile Ala Leu Ile Ile Gly Phe Gly Ile Ser
 20 25 30
 Gly Arg His Ser Ile Thr Val Thr Thr Val Ala Ser Ala Gly Asn Ile
 35 40 45
 Gly Glu Asp Gly Ile Leu Ser Cys Thr Phe Glu Pro Asp Ile Lys Leu
 50 55 60
 Ser Asp Ile Val Ile Gln Trp Leu Lys Glu Gly Val Leu Gly Leu Val
 65 70 75 80
 His Glu Phe Lys Glu Gly Lys Asp Glu Leu Ser Glu Gln Asp Glu Met
 85 90 95
 Phe Arg Gly Arg Thr Ala Val Phe Ala Asp Gln Val Ile Val Gly Asn
 100 105 110
 Ala Ser Leu Arg Leu Lys Asn Val Gln Leu Thr Asp Ala Gly Thr Tyr
 115 120 125
 Lys Cys Tyr Ile Ile Thr Ser Lys Gly Lys Gly Asn Ala Asn Leu Glu
 130 135 140
 Tyr Lys Thr Gly Ala Phe Ser Met Pro Glu Val Asn Val Asp Tyr Asn
 145 150 155 160
 Ala Ser Ser Glu Thr Leu Arg Cys Glu Ala Pro Arg Trp Phe Pro Gln
 165 170 175
 Pro Thr Val Val Trp Ala Ser Gln Val Asp Gln Gly Ala Asn Phe Ser

WO 02/02587

PCT/US01/20917

```

180              185              190
Glu Val Ser Asn Thr Ser Phe Glu Leu Asn Ser Glu Asn Val Thr Met
195              200              205
Lys Val Val Ser Val Leu Tyr Asn Val Thr Ile Asn Asn Thr Tyr Ser
210              215              220
Cys Met Ile Glu Asn Asp Ile Ala Lys Ala Thr Gly Asp Ile Lys Val
225              230              235
Thr Glu Ser Glu Ile Lys Arg Arg Ser His Leu Gln Leu Leu Asn Ser
245              250              255
Lys Ala Ser Leu Cys Val Ser Ser Phe Phe Ala Ile Ser Trp Ala Leu
260              265              270
Leu Pro Leu Ser Pro Tyr Leu Met Leu Lys
275              280

<210> 15
<211> 283
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 15
Met Ile Phe Leu Leu Met Leu Ser Leu Glu Leu Gln Leu His Gln
1      5      10      15
Ile Ala Ala Leu Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Glu Leu Tyr Ile Ile
20     25     30
Glu His Gly Ser Asn Val Thr Leu Glu Cys Asn Phe Asp Thr Gly Ser
35     40     45
His Val Asn Leu Gly Ala Ile Thr Ala Ser Leu Gln Lys Val Glu Asn
50     55     60
Asp Thr Ser Pro His Arg Glu Arg Ala Thr Leu Glu Glu Gln Leu
65     70     75     80
Pro Leu Gly Lys Ala Ser Phe His Ile Pro Gln Val Gln Val Arg Asp
85     90     95
Glu Gly Gln Tyr Gln Cys Ile Ile Ile Tyr Gly Val Ala Trp Asp Tyr
100    105    110
Lys Tyr Leu Thr Leu Lys Val Lys Ala Ser Tyr Arg Lys Ile Asn Thr
115    120    125
His Ile Leu Lys Val Pro Glu Thr Asp Glu Val Glu Leu Thr Cys Gln
130    135    140
Ala Thr Gly Tyr Pro Leu Ala Glu Val Ser Trp Pro Asn Val Ser Val
145    150    155    160
Pro Ala Asn Thr Ser His Ser Arg Thr Pro Glu Gly Leu Tyr Gln Val
165    170    175
Thr Ser Val Leu Arg Leu Lys Pro Pro Pro Gly Arg Asn Phe Ser Cys

```

WO 02/02587

PCT/US01/20917

180 185 190
 Val Phe Trp Asn Thr His Val Arg Glu Leu Thr Leu Ala Ser Ile Asp
 195 200 205
 Leu Gln Ser Gln Met Glu Pro Arg Thr His Pro Thr Trp Leu Leu His
 210 215 220
 Ile Phe Ile Pro Ser Cys Ile Ile Ala Phe Ile Phe Ile Ala Thr Val
 225 230 235 240
 Ile Ala Leu Arg Lys Gln Leu Cys Gln Lys Leu Tyr Ser Ser Lys Asp
 245 250 255
 Thr Thr Lys Arg Pro Val Thr Thr Thr Lys Arg Glu Val Asn Ser Ala
 260 265 270
 Val Asn Leu Asn Leu Trp Ser Trp Glu Pro Gly
 275 280

<210> 16
 <211> 318
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 16
 Met Ala Leu Met Leu Ser Leu Val Leu Ser Leu Leu Lys Leu Gly Ser
 1 5 10 15
 Gly Gln Trp Gln Val Phe Gly Pro Asp Lys Pro Val Gln Ala Leu Val
 20 25 30
 Gly Glu Asp Ala Ala Phe Ser Cys Phe Leu Ser Pro Lys Thr Asn Ala
 35 40 45
 Glu Ala Met Glu Val Arg Phe Phe Arg Gly Gln Phe Ser Ser Val Val
 50 55 60
 His Leu Tyr Arg Asp Gly Lys Asp Gln Pro Phe Met Gln Met Pro Gln
 65 70 75 80
 Tyr Gln Gly Arg Thr Lys Leu Val Lys Asp Ser Ile Ala Glu Gly Arg
 85 90 95
 Ile Ser Leu Arg Leu Gln Asn Ile Thr Val Leu Asp Ala Gly Leu Tyr
 100 105 110
 Gly Cys Arg Ile Ser Ser Cln Ser Tyr Tyr Gln Lys Ala Ile Trp Glu
 115 120 125
 Leu Gln Val Ser Ala Leu Gly Ser Val Pro Leu Ile Ser Ile Ala Gly
 130 135 140
 Tyr Val Asp Arg Asp Ile Gln Leu Leu Cys Gln Ser Ser Gly Trp Phe
 145 150 155 160
 Pro Arg Pro Thr Ala Lys Trp Lys Gly Pro Gln Gly Gln Asp Leu Ser
 165 170 175
 Thr Asp Ser Arg Thr Asn Arg Asp Met His Gly Leu Phe Asp Val Glu

WO 02/02587

PCT/US01/20917

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

<210> 17
 <211> 454
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 17
 Met Glu Pro Ala Ala Ala Leu His Phe Ser Arg Pro Ala Ser Leu Leu
 1 5 10 15
 Leu Leu Leu Ser Leu Cys Ala Leu Val Ser Ala Gln Phe Thr Val Val
 20 25 30
 Gly Pro Ala Asn Pro Ile Leu Ala Met Val Gly Glu Asn Thr Thr Leu
 35 40 45
 Arg Cys His Leu Ser Pro Glu Lys Asn Ala Glu Asp Met Glu Val Arg
 50 55 60
 Trp Phe Arg Ser Gln Phe Ser Pro Ala Val Phe Val Tyr Lys Gly Gly
 65 70 75 80
 Arg Glu Arg Thr Glu Glu Gln Met Glu Glu Tyr Arg Gly Arg Ile Thr
 85 90 95
 Phe Val Ser Lys Asp Ile Asn Arg Gly Ser Val Ala Leu Val Ile His
 100 105 110
 Asn Val Thr Ala Gln Glu Asn Gly Ile Tyr Arg Cys Tyr Phe Gln Glu
 115 120 125
 Gly Arg Ser Tyr Asp Glu Ala Ile Leu Arg Leu Val Val Ala Gly Leu
 130 135 140
 Gly Ser Lys Pro Leu Ile Glu Ile Lys Ala Gln Glu Asp Gly Ser Ile

WO 02/02587 PCT/US01/20917

145 150 155 160

Trp Leu Glu Cys Ile Ser Gly Gly Trp Tyr Pro Glu Pro Leu Thr Val
165 170 175

Trp Arg Asp Pro Tyr Gly Glu Val Val Pro Ala Leu Lys Glu Val Ser
180 185 190

Ile Ala Asp Ala Asp Gly Leu Phe Met Val Thr Thr Ala Val Ile Ile
195 200 205

Arg Asp Lys Tyr Val Arg Asn Val Ser Cys Ser Val Asn Asn Thr Leu
210 215 220

Leu Gly Gln Glu Lys Glu Thr Val Ile Phe Ile Pro Glu Ser Phe Met
225 230 235 240

Pro Ser Ala Ser Pro Trp Met Val Ala Leu Ala Val Ile Leu Thr Ala
245 250 255

Ser Pro Trp Met Val Ser Met Thr Val Ile Leu Ala Val Phe Ile Ile
260 265 270

Phe Met Ala Val Ser Ile Cys Cys Ile Lys Lys Leu Gln Arg Glu Lys
275 280 285

Lys Ile Leu Ser Gly Glu Lys Lys Val Glu Gln Glu Glu Lys Glu Ile
290 295 300

Ala Gln Gln Leu Gln Glu Glu Leu Arg Trp Arg Arg Thr Phe Leu His
305 310 315 320

Ala Ala Asp Val Val Leu Asp Pro Asp Thr Ala His Pro Glu Leu Phe
325 330 335

Leu Ser Glu Asp Arg Arg Ser Val Arg Arg Gly Pro Tyr Arg Gln Arg
340 345 350

Val Pro Asp Asn Pro Glu Arg Phe Asp Ser Gln Pro Cys Val Leu Gly
355 360 365

Trp Glu Ser Phe Ala Ser Gly Lys His Tyr Arg Gly Asn Phe Thr Glu
370 375 380

Trp Gly Pro Thr Arg Ala Tyr Arg Ile Asn Ser Leu Asp Ser Gln Pro
385 390 395 400

Cys Arg Lys Pro Trp Pro Ser Gln Gln Pro Pro His Asn Pro Pro Asn
405 410 415

Glu Arg His Ala Leu Leu Pro Ser Gly His Val Arg Glu His Leu Pro
420 425 430

Ala Ala Phe Phe Thr Pro Thr Pro Ala Leu Cys Pro Ser Phe Leu Leu
435 440 445

Leu Thr Ser Leu Trp Leu
450

<210> 18

WO 02/02587

PCT/US01/20917

```

<211> 414
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 18
Met Arg Glu Ile Val Trp Tyr Arg Val Thr Asp Gly Gly Thr Ile Lys
 1           5           10           15

Gln Lys Ile Phe Thr Phe Asp Ala Met Phe Ser Thr Asn Tyr Ser His
 20           25           30

Met Glu Asn Tyr Arg Lys Arg Glu Asp Leu Val Tyr Gln Ser Thr Val
 35           40           45

Arg Leu Pro Glu Val Arg Ile Ser Asp Asn Gly Pro Tyr Glu Cys His
 50           55           60

Val Gly Ile Tyr Asp Arg Ala Thr Arg Glu Lys Val Val Leu Ala Ser
 65           70           75           80

Gly Asn Ile Phe Leu Asn Val Met Ala Pro Thr Ser Ile Glu Val
 85           90           95

Val Ala Ala Asp Thr Pro Ala Pro Phe Ser Arg Tyr Gln Ala Gln Asn
100           105           110

Phe Thr Leu Val Cys Ile Val Ser Gly Gly Lys Pro Ala Pro Met Val
115           120           125

Tyr Phe Lys Arg Asp Gly Glu Pro Ile Asp Ala Val Pro Leu Ser Glu
130           135           140

Pro Pro Ala Ala Ser Ser Gly Pro Leu Gln Asp Ser Arg Pro Phe Arg
145           150           155           160

Ser Leu Leu His Arg Asp Leu Asp Asp Thr Lys Met Gln Lys Ser Leu
165           170           175

Ser Leu Leu Asp Ala Glu Asn Arg Gly Gly Arg Pro Tyr Thr Glu Arg
180           185           190

Pro Ser Arg Gly Leu Thr Pro Asp Pro Asn Ile Leu Leu Gln Pro Thr
195           200           205

Thr Glu Asn Ile Pro Glu Thr Val Val Ser Arg Glu Phe Pro Arg Trp
210           215           220

Val His Ser Ala Glu Pro Thr Tyr Phe Leu Arg His Ser Arg Thr Pro
225           230           235           240

Ser Ser Asp Gly Thr Val Glu Val Arg Ala Leu Leu Thr Trp Thr Leu
245           250           255

Asn Pro Gln Ile Asp Asn Glu Ala Leu Phe Ser Cys Glu Val Lys His
260           265           270

Pro Ala Leu Ser Met Pro Met Gln Ala Glu Val Thr Leu Val Ala Pro
275           280           285

Lys Gly Pro Lys Ile Val Met Thr Pro Ser Arg Ala Arg Val Gly Asp
290           295           300

```

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Thr Val Arg Ile Leu Val His Gly Phe Gln Asn Glu Val Phe Pro Glu
305 310 315 320

Pro Met Phe Thr Trp Thr Arg Val Gly Ser Arg Leu Leu Asp Gly Ser
325 330 335

Ala Glu Phe Asp Gly Lys Glu Leu Val Leu Glu Arg Val Pro Ala Glu
340 345 350

Leu Asn Gly Ser Met Tyr Arg Cys Thr Ala Gln Asn Pro Leu Gly Ser
355 360 365

Thr Asp Thr His Thr Arg Leu Ile Val Phe Glu Asn Pro Asn Ile Pro
370 375 380

Arg Gly Thr Glu Asp Ser Asn Gly Ser Ile Gly Pro Thr Gly Ala Arg
385 390 395 400

Leu Thr Leu Val Leu Ala Leu Thr Val Ile Leu Glu Leu Thr
405 410

<210> 19
<211> 159
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 19
Met Glu Pro Ala Ala Ala Leu His Phe Ser Arg Pro Ala Ser Leu Leu
1 5 10 15

Leu Leu Leu Ser Leu Cys Ala Leu Val Ser Ala Gln Val Thr Val Val
20 25 30

Gly Pro Thr Asp Pro Ile Leu Ala Met Val Gly Glu Asn Thr Thr Leu
35 40 45

Arg Cys Cys Leu Ser Pro Glu Glu Asn Ala Glu Asp Met Glu Val Arg
50 55 60

Trp Phe Gln Ser Gln Phe Ser Pro Ala Val Phe Val Tyr Lys Gly Gly
65 70 75 80

Arg Glu Arg Thr Glu Glu Gln Lys Glu Glu Tyr Arg Gly Arg Thr Thr
85 90 95

Phe Val Ser Lys Asp Ser Arg Gly Ser Val Ala Leu Ile Ile His Asn
100 105 110

Val Thr Ala Glu Asp Asn Gly Ile Tyr Gln Cys Tyr Phe Gln Glu Gly
115 120 125

Arg Ser Cys Asn Glu Ala Ile Leu His Leu Val Val Ala Asp Gln His
130 135 140

Asn Pro Leu Ser Trp Ile Pro Ile Pro Gln Gly Thr Leu Ser Leu
145 150 155

<210> 20

WO 02/02587

PCT/US01/20917

```

<211> 461
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 20
Met Ala Leu Met Leu Ser Leu Val Leu Ser Leu Leu Lys Leu Gly Ser
 1      5      10      15

Gly Gln Trp Gln Val Phe Gly Pro Asp Lys Pro Val Gln Ala Leu Val
 20      25      30

Gly Glu Asp Ala Ala Phe Ser Cys Phe Leu Ser Pro Lys Thr Asn Ala
 35      40      45

Glu Ala Met Glu Val Arg Phe Phe Arg Gly Gln Phe Ser Ser Val Val
 50      55      60

His Leu Tyr Arg Asp Gly Lys Asp Gln Pro Phe Met Gln Met Pro Gln
 65      70      75      80

Tyr Gln Gly Arg Thr Lys Leu Val Lys Asp Ser Ile Ala Glu Gly Arg
 85      90      95

Ile Ser Leu Arg Leu Glu Asn Ile Thr Val Leu Asp Ala Gly Leu Tyr
100     105     110

Gly Cys Arg Ile Ser Ser Gln Ser Tyr Tyr Gln Lys Ala Ile Trp Glu
115     120     125

Leu Gln Val Ser Ala Leu Gly Ser Val Pro Leu Ile Ser Ile Thr Gly
130     135     140

Tyr Val Asp Arg Asp Ile Gln Leu Leu Cys Gln Ser Ser Gly Trp Phe
145     150     155     160

Pro Arg Pro Thr Ala Lys Trp Lys Gly Pro Gln Gly Gln Asp Leu Ser
165     170     175

Thr Asp Ser Arg Thr Asn Arg Asp Met His Gly Leu Phe Asp Val Glu
180     185     190

Ile Ser Leu Thr Val Gln Glu Asn Ala Gly Ser Ile Ser Cys Ser Met
195     200     205

Arg His Ala His Leu Ser Arg Glu Val Glu Ser Arg Val Gln Ile Gly
210     215     220

Asp Thr Phe Phe Glu Pro Ile Ser Trp His Leu Ala Thr Lys Val Leu
225     230     235     240

Gly Ile Leu Cys Cys Gly Leu Phe Phe Gly Ile Val Gly Leu Lys Ile
245     250     255

Phe Phe Ser Lys Phe Gln Trp Lys Ile Gln Ala Glu Leu Asp Trp Arg
260     265     270

Arg Lys His Gly Gln Ala Glu Leu Arg Asp Ala Arg Lys His Ala Val
275     280     285

Glu Val Thr Leu Asp Pro Glu Thr Ala His Pro Lys Leu Cys Val Ser
290     295     300

```


WO 02/02587

PCT/US01/20917

Asp Leu Lys Thr Val Thr His Arg Lys Ala Pro Gln Glu Val Pro His
 305 310 315 320
 Ser Glu Lys Arg Phe Thr Arg Lys Ser Val Val Ala Ser Gln Ser Phe
 325 330 335
 Glu Ala Gly Lys His Tyr Trp Glu Val Asp Gly Gly His Asn Lys Arg
 340 345 350
 Trp Arg Val Gly Val Cys Arg Asp Asp Val Asp Arg Arg Lys Glu Tyr
 355 360 365
 Val Thr Leu Ser Pro Asp His Gly Tyr Trp Val Leu Arg Leu Asn Gly
 370 375 380
 Glu His Leu Tyr Phe Thr Leu Asn Pro Arg Phe Ile Ser Val Phe Pro
 385 390 395 400
 Arg Thr Pro Pro Thr Lys Ile Gly Val Phe Leu Asp Tyr Glu Cys Gly
 405 410 415
 Thr Ile Ser Phe Phe Asn Ile Asn Asp Gln Ser Leu Ile Tyr Thr Leu
 420 425 430
 Thr Cys Arg Phe Glu Gly Leu Leu Arg Pro Tyr Ile Glu Tyr Pro Ser
 435 440 445
 Tyr Asn Glu Gln Asn Gly Thr Pro Arg Asp Lys Gln Gln
 450 455 460

<210> 21
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 21
 Met Ala Ser Leu Gly Gln Ile Leu Phe Trp Ser Ile Ile
 1 5 10

<210> 22
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 22
 Leu Phe Leu Leu Leu Glu Ile Ser Thr His Leu Cys Phe Trp Lys Ser
 1 5 10 15

Leu Arg Lys Leu Glu Gly Lys
 20

<210> 23
 <211> 93
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>

WO 02/02587

PCT/US01/20917

<221> SITE
 <222> (89)
 <223> Xaa equals any of the naturally occurring L-amino acids

<220>
 <221> SITE
 <222> (92)
 <223> Xaa equals any of the naturally occurring L-amino acids

<400> 23
 Met Ile Phe Leu Leu Met Leu Ser Leu Glu Leu Gln Leu His Gln
 1 5 10 15
 Ile Ala Ala Leu Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Glu Leu Tyr Ile Ile
 20 25 30
 Glu His Gly Ser Asn Val Thr Leu Glu Cys Asn Phe Asp Thr Gly Ser
 35 40 45
 His Val Asn Leu Gly Ala Ile Thr Ala Ser Leu Gln Lys Val Glu Asn
 50 55 60
 Asp Thr Ser Pro His Arg Glu Arg Ala Thr Leu Leu Glu Glu Gln Leu
 65 70 75 80
 Pro Leu Gly Lys Ala Ser Phe Pro Xaa Leu Lys Xaa Lys
 85 90

<210> 24
 <211> 461
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> SITE
 <222> (234)
 <223> Xaa equals any of the naturally occurring L-amino acids

<220>
 <221> SITE
 <222> (236)
 <223> Xaa equals any of the naturally occurring L-amino acids

<400> 24
 Met Ala Leu Met Leu Ser Leu Val Leu Ser Leu Leu Lys Leu Gly Ser
 1 5 10 15
 Gly Gln Trp Glu Val Phe Gly Pro Asp Lys Pro Val Gln Ala Leu Val
 20 25 30
 Gly Glu Asp Ala Ala Phe Ser Cys Phe Leu Ser Pro Lys Thr Asn Ala
 35 40 45
 Glu Ala Met Glu Val Arg Phe Phe Arg Gly Gln Phe Ser Ser Val Val
 50 55 60
 His Leu Tyr Arg Asp Gly Lys Asp Gln Pro Phe Met Gln Met Pro Gln
 65 70 75 80
 Tyr Gln Gly Arg Thr Lys Leu Val Lys Asp Ser Ile Ala Glu Gly Arg

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Thr Ile Ser Phe Phe Asn Ile Asn Asp Gln Ser Leu Ile Tyr Thr Leu
 420 425 430
 Thr Cys Arg Phe Glu Gly Leu Leu Arg Pro Tyr Ile Glu Tyr Pro Ser
 435 440 445
 Tyr Asn Glu Gln Asn Gly Thr Pro Arg Asp Lys Gln Gln
 450 455 460

 <210> 25
 <211> 402
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

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

WO 02/02587

PCT/US01/20917

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

<210> 36
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 26
 Ser Lys Ala Ser Leu Cys Val Ser Ser Phe Phe Ala Ile Ser Trp Ala
 1 5 10 15
 Leu Leu Pro Leu
 20

<210> 27
 <211> 255
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 27
 Met Ala Ser Leu Gly Gln Ile Leu Phe Trp Ser Ile Ile Ser Ile Ile
 1 5 10 15
 Ile Ile Leu Ala Gly Ala Ile Ala Leu Ile Ile Gly Phe Gly Ile Ser
 20 25 30
 Gly Arg His Ser Ile Thr Val Thr Thr Val Ala Ser Ala Gly Asn Ile

WO 02/02587

PCT/US01/20917

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

<210> 28
 <211> 231
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 28
 Leu Ile Ile Gly Phe Gly Ile Ser Gly Arg His Ser Ile Thr Val Thr
 1 5 10 15
 Thr Val Ala Ser Ala Gly Asn Ile Gly Glu Asp Gly Ile Leu Ser Cys
 20 25 30
 Thr Phe Glu Pro Asp Ile Lys Leu Ser Asp Ile Val Ile Gln Trp Leu
 35 40 45
 Lys Glu Gly Val Leu Gly Leu Val His Glu Phe Lys Glu Gly Lys Asp
 50 55 60
 Glu Leu Ser Glu Gln Asp Glu Met Phe Arg Gly Arg Thr Ala Val Phe

WO 02/02587 PCT/US01/20917

65 70 75 80

Ala Asp Gln Val Ile Val Gly Asn Ala Ser Leu Arg Leu Lys Asn Val
85 90 95

Gln Leu Thr Asp Ala Gly Thr Tyr Lys Cys Tyr Ile Ile Thr Ser Lys
100 105 110

Gly Lys Gly Asn Ala Asn Leu Glu Tyr Lys Thr Gly Ala Phe Ser Met
115 120 125

Pro Glu Val Asn Val Asp Tyr Asn Ala Ser Ser Glu Thr Leu Arg Cys
130 135 140

Glu Ala Pro Arg Trp Phe Pro Gln Pro Thr Val Val Trp Ala Ser Gln
145 150 155 160

Val Asp Gln Gly Ala Asn Phe Ser Glu Val Ser Asn Thr Ser Phe Glu
165 170 175

Leu Asn Ser Glu Asn Val Thr Met Lys Val Val Ser Val Leu Tyr Asn
180 185 190

Val Thr Ile Asn Asn Thr Tyr Ser Cys Met Ile Glu Asn Asp Ile Ala
195 200 205

Lys Ala Thr Gly Asp Ile Lys Val Thr Glu Ser Glu Ile Lys Arg Arg
210 215 220

Ser His Leu Gln Leu Leu Asn
225 230

<210> 29
<211> 24
<212> FRT
<213> Homo sapiens

<400> 29
Met Ala Ser Leu Gly Gln Ile Leu Phe Trp Ser Ile Ile Ser Ile Ile
1 5 10 15

Ile Ile Leu Ala Gly Ala Ile Ala
20

<210> 30
<211> 30
<212> FRT
<213> Homo sapiens

<400> 30
Pro Thr Trp Leu Leu His Ile Phe Ile Pro Ser Cys Ile Ile Ala Phe
1 5 10 15

Ile Phe Ile Ala Thr Val Ile Ala Leu Arg Lys Gln Leu Cys
20 25 30

<210> 31
<211> 218

WO 02/02587

PCT/US01/20917

<217> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 31
 Met Ile Phe Leu Leu Leu Met Leu Ser Leu Glu Leu Gln Leu His Gln
 1 5 10 15
 Ile Ala Ala Leu Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Glu Leu Tyr Ile Ile
 20 25 30
 Glu His Gly Ser Asn Val Thr Leu Glu Cys Asn Phe Asp Thr Gly Ser
 35 40 45
 His Val Asn Leu Gly Ala Ile Thr Ala Ser Leu Gln Lys Val Glu Asn
 50 55 60
 Asp Thr Ser Pro His Arg Glu Arg Ala Thr Leu Leu Glu Glu Gln Leu
 65 70 75 80
 Pro Leu Gly Lys Ala Ser Phe His Ile Pro Gln Val Gln Val Arg Asp
 85 90 95
 Glu Gly Gln Tyr Gln Cys Ile Ile Ile Tyr Gly Val Ala Trp Asp Tyr
 100 105 110
 Lys Tyr Leu Thr Leu Lys Val Lys Ala Ser Tyr Arg Lys Ile Asn Thr
 115 120 125
 His Ile Leu Lys Val Pro Glu Thr Asp Glu Val Glu Leu Thr Cys Gln
 130 135 140
 Ala Thr Gly Tyr Pro Leu Ala Glu Val Ser Trp Pro Asn Val Ser Val
 145 150 155 160
 Pro Ala Asn Thr Ser His Ser Arg Thr Pro Glu Gly Leu Tyr Gln Val
 165 170 175
 Thr Ser Val Leu Arg Leu Lys Pro Pro Gly Arg Asn Phe Ser Cys
 180 185 190
 Val Phe Trp Asn Thr His Val Arg Glu Leu Thr Leu Ala Ser Ile Asp
 195 200 205
 Leu Gln Ser Gln Met Glu Pro Arg Thr His
 210 215

<210> 32
 <211> 199
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 32
 Leu Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Glu Leu Tyr Ile Ile Glu His Gly
 1 5 10 15
 Ser Asn Val Thr Leu Glu Cys Asn Phe Asp Thr Gly Ser His Val Asn
 20 25 30
 Leu Gly Ala Ile Thr Ala Ser Leu Gln Lys Val Glu Asn Asp Thr Ser
 35 40 45

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Pro His Arg Glu Arg Ala Thr Leu Leu Glu Glu Gln Leu Pro Leu Gly
 50 55 60
 Lys Ala Ser Phe His Ile Pro Gln Val Gln Val Arg Asp Glu Gly Gln
 65 70 75 80
 Tyr Gln Cys Ile Ile Ile Tyr Gly Val Ala Trp Asp Tyr Lys Tyr Leu
 85 90 95
 Thr Leu Lys Val Lys Ala Ser Tyr Arg Lys Ile Asn Thr His Ile Leu
 100 105 110
 Lys Val Pro Glu Thr Asp Glu Val Glu Leu Thr Cys Gln Ala Thr Gly
 115 120 125
 Tyr Pro Leu Ala Glu Val Ser Trp Pro Asn Val Ser Val Pro Ala Asn
 130 135 140
 Thr Ser His Ser Arg Thr Pro Glu Gly Leu Tyr Gln Val Thr Ser Val
 145 150 155 160
 Leu Arg Leu Lys Pro Pro Pro Gly Arg Asn Phe Ser Cys Val Phe Trp
 165 170 175
 Asn Thr His Val Arg Glu Leu Thr Leu Ala Ser Ile Asp Leu Gln Ser
 180 185 190
 Gln Met Glu Pro Arg Thr His
 195

<210> 33
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 33
 Met Ile Phe Leu Leu Leu Met Leu Ser Leu Glu Leu Gln Leu His Gln
 1 5 10 15

Ile Ala Ala

<210> 34
 <211> 93
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 34
 Glu Leu Tyr Ile Ile Glu His Gly Ser Asn Val Thr Leu Glu Cys Asn
 1 5 10 15

Phe Asp Thr Gly Ser His Val Asn Leu Gly Ala Ile Thr Ala Ser Leu
 20 25 30

Gln Lys Val Glu Asn Asp Thr Ser Pro His Arg Gln Arg Ala Thr Leu
 35 40 45

Leu Glu Glu Gln Leu Pro Leu Gly Lys Ala Ser Phe His Ile Pro Gln

WO 02/02587

PCT/US01/20917

50 55 60
 Val Gln Val Arg Asp Glu Gly Gln Tyr Gln Cys Ile Ile Ile Tyr Gly
 65 70 75 80
 Val Ala Trp Asp Tyr Lys Tyr Leu Thr Leu Lys Val Lys
 85 90

<210> 35
 <211> 94
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 35
 Ser Tyr Arg Lys Ile Asn Thr His Ile Leu Lys Val Pro Glu Thr Asp
 1 5 10 15
 Glu Val Glu Leu Thr Cys Gln Ala Thr Gly Tyr Pro Leu Ala Glu Val
 20 25 30
 Ser Trp Pro Asn Val Ser Val Pro Ala Asn Thr Ser His Ser Arg Thr
 35 40 45
 Pro Glu Gly Leu Tyr Gln Val Thr Ser Val Leu Arg Leu Lys Pro Pro
 50 55 60
 Pro Gly Arg Asn Phe Ser Cys Val Phe Trp Asn Thr His Val Arg Glu
 65 70 75 80
 Leu Thr Leu Ala Ser Ile Asp Leu Gln Ser Gln Met Glu Pro
 85 90

<210> 36
 <211> 301
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 36
 Gln Trp Gln Val Phe Gly Pro Asp Lys Pro Val Gln Ala Leu Val Gly
 1 5 10 15
 Glu Asp Ala Ala Phe Ser Cys Phe Leu Ser Pro Lys Thr Asn Ala Glu
 20 25 30
 Ala Met Glu Val Arg Phe Phe Arg Gly Gln Phe Ser Ser Val Val His
 35 40 45
 Leu Tyr Arg Asp Gly Lys Asp Gln Pro Phe Met Gln Met Pro Gln Tyr
 50 55 60
 Gln Gly Arg Thr Lys Leu Val Lys Asp Ser Ile Ala Glu Gly Arg Ile
 65 70 75 80
 Ser Leu Arg Leu Glu Asn Ile Thr Val Leu Asp Ala Gly Leu Tyr Gly
 85 90 95
 Cys Arg Ile Ser Ser Gln Ser Tyr Tyr Gln Lys Ala Ile Trp Glu Leu
 100 105 110

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Gln Val Ser Ala Leu Gly Ser Val Pro Leu Ile Ser Ile Ala Gly Tyr
115 120 125

Val Asp Arg Asp Ile Gln Leu Leu Cys Gln Ser Ser Gly Trp Phe Pro
130 135 140

Arg Pro Thr Ala Lys Trp Lys Gly Pro Gln Gly Gln Asp Leu Ser Thr
145 150 155 160

Asp Ser Arg Thr Asn Arg Asp Met His Gly Leu Phe Asp Val Glu Ile
165 170 175

Ser Leu Thr Val Gln Glu Asn Ala Gly Ser Ile Ser Cys Ser Met Arg
180 185 190

His Ala His Leu Ser Arg Glu Val Glu Ser Arg Val Gln Ile Gly Asp
195 200 205

Trp Arg Arg Lys His Gly Gln Ala Gly Lys Arg Lys Tyr Ser Ser Ser
210 215 220

His Ile Tyr Asp Ser Phe Pro Ser Leu Ser Phe Met Asp Phe Tyr Ile
225 230 235 240

Leu Arg Pro Val Gly Pro Cys Arg Ala Lys Leu Val Met Gly Thr Leu
245 250 255

Lys Leu Glu Ile Leu Gly Glu Val His Phe Val Glu Lys Pro His Ser
260 265 270

Leu Leu Gln Ile Ser Gly Gly Ser Thr Thr Leu Lys Lys Gly Pro Asn
275 280 285

Pro Trp Ser Phe Pro Ser Pro Cys Ala Leu Phe Pro Thr
290 295 300

<210> 37
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 37
Met Ala Leu Met Leu Ser Leu Val Leu Ser Leu Leu Lys Leu Gly Ser
1 5 10 15

Gly

<210> 38
<211> 26
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 38
Thr Ala Ser Pro Trp Met Val Ser Met Thr Val Ile Leu Ala Val Phe
1 5 10 15

Ile Ile Phe Met Ala Val Ser Ile Cys Cys
20 25

WO 02/02587

PCT/US01/20917

<210> 39
 <211> 254
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

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

<210> 40
 <211> 227
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

WO 02/02587

PCT/US01/20917

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

<210> 41
 <211> 27
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 41
 Met Glu Pro Ala Ala Ala Leu His Phe Ser Arg Pro Ala Ser Leu Leu
 1 5 10 15
 Leu Leu Leu Ser Leu Cys Ala Leu Val Ser Ala
 20 25

WO 02/02587

PCT/US01/20917

<210> 42
<211> 20
<212> PPT
<213> Homo sapiens

<400> 42
Gly Pro Thr Gly Ala Arg Leu Thr Leu Val Leu Ala Leu Thr Val Ile
1 5 10 15
Leu Glu Leu Thr
20

<210> 43
<211> 394
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 43
Met Arg Glu Ile Val Trp Tyr Arg Val Thr Asp Gly Gly Thr Ile Lys
1 5 10 15
Gln Lys Ile Phe Thr Phe Asp Ala Met Phe Ser Thr Asn Tyr Ser His
20 25 30
Met Glu Asn Tyr Arg Lys Arg Glu Asp Leu Val Tyr Gln Ser Thr Val
35 40 45
Arg Leu Pro Glu Val Arg Ile Ser Asp Asn Gly Pro Tyr Glu Cys His
50 55 60
Val Gly Ile Tyr Asp Arg Ala Thr Arg Glu Lys Val Val Leu Ala Ser
65 70 75 80
Gly Asn Ile Phe Leu Asn Val Met Ala Pro Pro Thr Ser Ile Glu Val
85 90 95
Val Ala Ala Asp Thr Pro Ala Pro Phe Ser Arg Tyr Gln Ala Gln Asn
100 105 110
Phe Thr Leu Val Cys Ile Val Ser Gly Gly Lys Pro Ala Pro Met Val
115 120 125
Tyr Phe Lys Arg Asp Gly Glu Pro Ile Asp Ala Val Pro Leu Ser Glu
130 135 140
Pro Pro Ala Ala Ser Ser Gly Pro Leu Gln Asp Ser Arg Pro Phe Arg
145 150 155 160
Ser Leu Leu His Arg Asp Leu Asp Asp Thr Lys Met Gln Lys Ser Leu
165 170 175
Ser Leu Leu Asp Ala Glu Asn Arg Gly Gly Arg Pro Tyr Thr Glu Arg
180 185 190
Pro Ser Arg Gly Leu Thr Pro Asp Pro Asn Ile Leu Leu Gln Pro Thr
195 200 205
Thr Glu Asn Ile Pro Glu Thr Val Val Ser Arg Glu Phe Pro Arg Trp
210 215 220

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Val His Ser Ala Glu Pro Thr Tyr Phe Leu Arg His Ser Arg Thr Pro
 225 230 235 240
 Ser Ser Asp Gly Thr Val Glu Val Arg Ala Leu Leu Thr Trp Thr Leu
 245 250 255
 Asn Pro Gln Ile Asp Asn Glu Ala Leu Phe Ser Cys Glu Val Lys His
 260 265 270
 Pro Ala Leu Ser Met Pro Met Gln Ala Glu Val Thr Leu Val Ala Pro
 275 280 285
 Lys Gly Pro Lys Ile Val Met Thr Pro Ser Arg Ala Arg Val Gly Asp
 290 295 300
 Thr Val Arg Ile Leu Val His Gly Phe Gln Asn Glu Val Phe Pro Glu
 305 310 315 320
 Pro Met Phe Thr Trp Thr Arg Val Gly Ser Arg Leu Leu Asp Gly Ser
 325 330 335
 Ala Glu Phe Asp Gly Lys Glu Leu Val Leu Glu Arg Val Pro Ala Glu
 340 345 350
 Leu Asn Gly Ser Met Tyr Arg Cys Thr Ala Gln Asn Pro Leu Gly Ser
 355 360 365
 Thr Asp Thr His Thr Arg Leu Ile Val Phe Glu Asn Pro Asn Ile Pro
 370 375 380
 Arg Gly Thr Glu Asp Ser Asn Gly Ser Ile
 385 390

 <210> 44
 <211> 133
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

 <400> 44
 Gln Val Thr Val Val Gly Pro Thr Asp Pro Ile Leu Ala Met Val Gly
 1 5 10 15
 Glu Asn Thr Thr Leu Arg Cys Cys Leu Ser Pro Glu Glu Asn Ala Glu
 20 25 30
 Asp Met Glu Val Arg Trp Phe Gln Ser Gln Phe Ser Pro Ala Val Phe
 35 40 45
 Val Tyr Lys Gly Gly Arg Glu Arg Thr Glu Glu Gln Lys Glu Glu Tyr
 50 55 60
 Arg Gly Arg Thr Thr Phe Val Ser Lys Asp Ser Arg Gly Ser Val Ala
 65 70 75 80
 Leu Ile Ile His Asn Val Thr Ala Glu Asp Asn Gly Ile Tyr Gln Cys
 85 90 95
 Tyr Phe Gln Glu Gly Arg Ser Cys Asn Glu Ala Ile Leu His Leu Val
 100 105 110

WO 02/02587

PCT/US01/20917

Val Ala Asp Gln His Asn Pro Leu Ser Trp Ile Pro Ile Pro Gln Gly
 115 120 125

Thr Leu Ser Leu
 130

<210> 45
 <211> 27
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 45
 Met Glu Pro Ala Ala Ala Leu His Phe Ser Arg Pro Ala Ser Leu Leu
 1 5 10 15

Leu Leu Leu Ser Leu Cys Ala Leu Val Ser Ala
 20 25

<210> 46
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 46
 Leu Gly Ile Leu Cys Cys Gly Leu Phe Phe Gly Ile Val
 1 5 10

<210> 47
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 47
 Met Ala Leu Met Leu Ser Leu Val Leu Ser Leu Leu Lys Leu Gly Ser
 1 5 10 15

Gly

<210> 48
 <211> 239
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 48
 Met Ala Leu Met Leu Ser Leu Val Leu Ser Leu Leu Lys Leu Gly Ser
 1 5 10 15

Gly Gln Trp Gln Val Phe Gly Pro Asp Lys Pro Val Gln Ala Leu Val
 20 25 30

Gly Glu Asp Ala Ala Phe Ser Cys Phe Leu Ser Pro Lys Thr Asn Ala
 35 40 45

Glu Ala Met Glu Val Arg Phe Phe Arg Gly Gln Phe Ser Ser Val Val
 50 55 60

WO 02/02587

PCT/US01/20917

His Leu Tyr Arg Asp Gly Lys Asp Gln Pro Phe Met Gln Met Pro Gln
 85 70 75 80
 Tyr Gln Gly Arg Thr Lys Leu Val Lys Asp Ser Ile Ala Glu Gly Arg
 85 90 95
 Ile Ser Leu Arg Leu Glu Asn Ile Thr Val Leu Asp Ala Gly Leu Tyr
 100 105 110
 Gly Cys Arg Ile Ser Ser Gln Ser Tyr Tyr Gln Lys Ala Ile Trp Glu
 115 120 125
 Leu Gln Val Ser Ala Leu Gly Ser Val Pro Leu Ile Ser Ile Thr Gly
 130 135 140
 Tyr Val Asp Arg Asp Ile Gln Leu Leu Cys Gln Ser Ser Gly Trp Phe
 145 150 155 160
 Pro Arg Pro Thr Ala Lys Trp Lys Gly Pro Gln Gly Gln Asp Leu Ser
 165 170 175
 Thr Asp Ser Arg Thr Asn Arg Asp Met His Gly Leu Phe Asp Val Glu
 180 185 190
 Ile Ser Leu Thr Val Gln Glu Asn Ala Gly Ser Ile Ser Cys Ser Met
 195 200 205
 Arg His Ala His Leu Ser Arg Glu Val Glu Ser Arg Val Gln Ile Gly
 210 215 220
 Asp Thr Phe Phe Glu Pro Ile Ser Trp His Leu Ala Thr Lys Val
 225 230 235

 <210> 49
 <211> 222
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

 <400> 49
 Gln Trp Gln Val Phe Gly Pro Asp Lys Pro Val Gln Ala Leu Val Gly
 1 5 10 15
 Glu Asp Ala Ala Phe Ser Cys Phe Leu Ser Pro Lys Thr Asn Ala Glu
 20 25 30
 Ala Met Glu Val Arg Phe Phe Arg Gly Gln Phe Ser Ser Val Val His
 35 40 45
 Leu Tyr Arg Asp Gly Lys Asp Glu Pro Phe Met Gln Met Pro Gln Tyr
 50 55 60
 Gln Gly Arg Thr Lys Leu Val Lys Asp Ser Ile Ala Glu Gly Arg Ile
 65 70 75 80
 Ser Leu Arg Leu Glu Asp Ile Thr Val Leu Asp Ala Gly Leu Tyr Gly
 85 90 95
 Cys Arg Ile Ser Ser Gln Ser Tyr Tyr Gln Lys Ala Ile Trp Glu Leu
 100 105 110

WO 02/02587

PCT/US01/20917

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

PCT/US01/20917

INDICATIONS RELATING TO A DEPOSITED MICROORGANISM OR OTHER BIOLOGICAL MATERIAL	
(PCT Rule 13bis)	
A. The indications made below relate to the deposited microorganism or other biological material referred to in the description at Page 115, Table 1.	
B. IDENTIFICATION OF DEPOSIT Further deposits are identified on an additional sheet <input type="checkbox"/>	
Name of depository institution: American Type Culture Collection	
Address of depository institution (including postal code and country) 10801 University Boulevard Manassas, Virginia 20110-2209 United States of America	
Date of deposit August 7, 2000	Accession Number PTA-2332
C. ADDITIONAL INDICATIONS (leave blank if not applicable) This information is continued on an additional sheet <input type="checkbox"/>	
D. DESIGNATED STATES FOR WHICH INDICATIONS ARE MADE (if the indications are not for all designated States)	
Europe In respect of those designations in which a European Patent is sought a sample of the deposited microorganism will be made available until the publication of the mention of the grant of the European patent or until the date on which the application has been refused or withdrawn or is deemed to be withdrawn, only by the issue of such a sample to an expert nominated by the person requesting the sample (Rule 28(f) EPC). Continued on additional sheets	
E. SEPARATE FURNISHING OF INDICATIONS (leave blank if not applicable)	
The indications listed below will be submitted to the International Bureau later (specify the general nature of the indications e.g., "Accession Number of Deposit")	
For receiving Office use only	For International Bureau use only
<input checked="" type="checkbox"/> This sheet was received with the international application	<input type="checkbox"/> This sheet was received by the International Bureau on:
Authorized officer <i>Vanessa Clark</i>	Authorized officer

PCT/US01/20917

ATCC Deposit No. PTA-2332**CANADA**

The applicant requests that, until either a Canadian patent has been issued on the basis of an application or the application has been refused, or is abandoned and no longer subject to reinstatement, or is withdrawn, the Commissioner of Patents only authorizes the furnishing of a sample of the deposited biological material referred to in the application to an independent expert nominated by the Commissioner, the applicant must, by a written statement, inform the International Bureau accordingly before completion of technical preparations for publication of the international application.

NORWAY

The applicant hereby requests that the application has been laid open to public inspection (by the Norwegian Patent Office), or has been finally decided upon by the Norwegian Patent Office without having been laid open inspection, the furnishing of a sample shall only be effected to an expert in the art. The request to this effect shall be filed by the applicant with the Norwegian Patent Office not later than at the time when the application is made available to the public under Sections 22 and 33(3) of the Norwegian Patents Act. If such a request has been filed by the applicant, any request made by a third party for the furnishing of a sample shall indicate the expert to be used. That expert may be any person entered on the list of recognized experts drawn up by the Norwegian Patent Office or any person approved by the applicant in the individual case.

AUSTRALIA

The applicant hereby gives notice that the furnishing of a sample of a microorganism shall only be effected prior to the grant of a patent, or prior to the lapsing, refusal or withdrawal of the application, to a person who is a skilled addressee without an interest in the invention (Regulation 3.25(3) of the Australian Patents Regulations).

FINLAND

The applicant hereby requests that, until the application has been laid open to public inspection (by the National Board of Patents and Regulations), or has been finally decided upon by the National Board of Patents and Registration without having been laid open to public inspection, the furnishing of a sample shall only be effected to an expert in the art.

PCT/IS01/20917

ATCC Deposit No. PTA-2332

UNITED KINGDOM

The applicant hereby requests that the furnishing of a sample of a microorganism shall only be made available to an expert. The request to this effect must be filed by the applicant with the International Bureau before the completion of the technical preparations for the international publication of the application.

DENMARK

The applicant hereby requests that, until the application has been laid open to public inspection (by the Danish Patent Office), or has been finally decided upon by the Danish Patent Office without having been laid open to public inspection, the furnishing of a sample shall only be effected to an expert in the art. The request to this effect shall be filed by the applicant with the Danish Patent Office not later than at the time when the application is made available to the public under Sections 22 and 33(3) of the Danish Patents Act. If such a request has been filed by the applicant, any request made by a third party for the furnishing of a sample shall indicate the expert to be used. That expert may be any person entered on a list of recognized experts drawn up by the Danish Patent Office or any person by the applicant in the individual case.

SWEDEN

The applicant hereby requests that, until the application has been laid open to public inspection (by the Swedish Patent Office), or has been finally decided upon by the Swedish Patent Office without having been laid open to public inspection, the furnishing of a sample shall only be effected to an expert in the art. The request to this effect shall be filed by the applicant with the International Bureau before the expiration of 16 months from the priority date (preferably on the Form PCT/RO/134 reproduced in annex Z of Volume I of the PCT Applicant's Guide). If such a request has been filed by the applicant any request made by a third party for the furnishing of a sample shall indicate the expert to be used. That expert may be any person entered on a list of recognized experts drawn up by the Swedish Patent Office or any person approved by an applicant in the individual case.

NETHERLANDS

The applicant hereby requests that until the date of a grant of a Netherlands patent or until the date on which the application is refused or withdrawn or lapsed, the microorganism shall be made available as provided in the 31F(1) of the Patent Rules only by the issue of a sample to an expert. The request to this effect must be furnished by the applicant with the Netherlands Industrial Property Office before the date on which the application is made available to the public under Section 22C or Section 25 of the Patents Act of the Kingdom of the Netherlands, whichever of the two dates occurs earlier.

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		Int. application No. PCT/US91/80917
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPCN : COH 21/04; C19N 15/10, 15/11, 15/12 US CL : 506/98.1, 506.9, 485/99.1, 328, 320.1, 455 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) U.S. : 506/98.1, 506.9, 485/99.1, 328, 320.1, 455 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) WEST, DIALOG, BIOSIS, CA, EMBASE, MEDLINE search terms: ficucella, pi, ruben, bt, bt-1, bt-2, cd80, cd86		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 00/36107 A (CORIXA CORPORATION) 22 JUNE 2000, see entire document, particularly SEQ ID NO: 391.	1-10, 14, 15
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents *X document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *Y earlier document published on or after the international filing date *L document which may have priority over the present application or which is cited to establish the publication date of another violation or other special reason (as specified) *W 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 ** later document published after the international filing date or priority date and not relevant to 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 considered with one or more other cited documents, such combination being obvious to a person skilled in the art *S* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 01 OCTOBER 2001	Date of mailing of the international search report 16 NOV 2001	
Name and mailing address of the ISA/US Comptroller of Patents and Trademarks Box PCT Washington, D.C. 20531 Facsimile No. (703) 506-9230	Authorized signatory PHILIP ISA/US Telephone No. (703) 506-0706	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US01/00917
Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)		
This international report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:		
1.	<input type="checkbox"/>	Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2.	<input type="checkbox"/>	Claims Nos.: 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:
3.	<input type="checkbox"/>	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: Please See Extra Sheet.		
1.	<input type="checkbox"/>	As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2.	<input type="checkbox"/>	As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3.	<input type="checkbox"/>	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.	<input checked="" type="checkbox"/>	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.: 1-10, 14, 15
Remark on Protest	<input type="checkbox"/>	The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
	<input type="checkbox"/>	No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

In International application No.
PCT/US01/20017

BOX II. OBSERVATIONS WHERE UNITY OF INVENTION WAS LACKING
This ISA found multiple inventions as follows:

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be searched, the appropriate additional search fees must be paid.

Groups 1-49, claims 1-10, 14, 15, all in part, drawn to an isolated nucleic acids of SEQ ID NO: X or encoding a peptide of SEQ ID NO: Y, wherein X and Y are values that correlates to those listed in Table 1 and correspond to one of the cDNA clone IDs, respectively as well as vectors host cells and methods of making a proteins.

For example, If Group 1 is elected, this correlates to Gene No. 1, ATCC Deposit No. PTA02332, SE ID NO: 2 and SEQ ID NO: Y

It is noted that the Groups would be numbering 7, if the X and Y sequences are limited to each row. The Groups number 49, if one can pick and choose a separate X and a separate Y from Table 1.

Applicant is invited to clarify the number of possibilities intended.

Groups 50-98, claims 11, 12 and 16, all in part, drawn to proteins comprising sequences encoded by SEQ ID NO: X and a peptide of SEQ ID NO: Y, wherein X and Y are values that correlates to those listed in Table 1 and correspond to one of the cDNA clone IDs, respectively.

Groups 99-147, claim 13, all in part, drawn to an antibody that binds a protein comprising sequences encoded by SEQ ID NO: X and a peptide of SEQ ID NO: Y, wherein X and Y are values that correlates to those listed in Table 1 and correspond to one of the cDNA clone IDs, respectively.

Groups 148-196, claim 17, all in part, drawn to methods of preventing or treating a medical conditions with an isolated nucleic acids of SEQ ID NO: X or encoding a peptide of SEQ ID NO: Y, wherein X and Y are values that correlates to those listed in Table 1 and correspond to one of the cDNA clone IDs, respectively.

Groups 197-245, claim 18, all in part, drawn to methods of diagnosing a pathological condition via an isolated nucleic acids of SEQ ID NO: X or encoding a peptide of SEQ ID NO: Y, wherein X and Y are values that correlates to those listed in Table 1 and correspond to one of the cDNA clone IDs, respectively.

Groups 246-294, claim 19, all in part, drawn to methods of diagnosing a pathological condition via an antibody that binds a protein encoded by isolated nucleic acids of SEQ ID NO: X or encoding a peptide of SEQ ID NO: Y, wherein X and Y are values that correlates to those listed in Table 1 and correspond to one of the cDNA clone IDs, respectively.

Groups 295-343, claims 20-21, all in part, drawn to methods of identifying a binding partner of a peptide encoded by isolated nucleic acids of SEQ ID NO: X or encoding a peptide of SEQ ID NO: Y, wherein X and Y are values that correlates to those listed in Table 1 and correspond to one of the cDNA clone IDs, respectively.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US01/20917

Groups 344-392, claim 22, all in part, drawn to methods of preventing or treating a medical condition with a protein encoded by the nucleic acids of SEQ ID NO: X or encoding a peptide of SEQ ID NO: Y, wherein X and Y are values that correlates to those listed in Table 1 and correspond to one of the cDNA clone IDs, respectively.

This application contains claims directed to more than one species of the generic invention. These species are deemed to lack Unity of Invention because they are not so linked as to form a single inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for more than one species to be searched, the appropriate additional search fees must be paid. The species are as follows:

The polynucleotides and polypeptides of each of the claims in Table 1 are unrelated, each to the other. The polynucleotides sequence encode structurally distinct polypeptides and do not share a special technical feature. Further the technical feature that links the DNA, proteins, antibody and methods is not a contribution over the prior art of Corixa Corporation (WO 00/36107), particularly SEQ ID NO: 391. Also, see the Search Report. Thus, the technical feature of the polynucleotide sequence is not special and the Groups are not so linked under PCT Rule 13.1. Additionally the claimed methods encompassed different ingredients, process steps and endpoints, which are not so coextensive and which do not share the same technical feature.

The polynucleotides and polypeptides of each of the clones in Table 1 are unrelated, each to other. The polynucleotides sequences encode structurally distinct polypeptides and do not share a special technical feature. Furthermore, the technical feature that links the DNA, protein, antibody and methods of PTA-2332 is not a contribution over the prior art of Corixa Corporation (WO 00/36107), particularly SEQ ID NO: 391 set forth in the Search Report. Thus, the technical feature of the polynucleotide sequence is not special and the Groups are not so linked under PCT Rule 13.1. Additionally, the claimed methods encompass different ingredients, process steps and endpoints which are not coextensive and which do not share the same technical feature.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.⁷

F I

テーマコード(参考)

A 6 1 P	1/16	A 6 1 P	1/18
A 6 1 P	1/18	A 6 1 P	3/06
A 6 1 P	3/06	A 6 1 P	3/10
A 6 1 P	3/10	A 6 1 P	5/00
A 6 1 P	5/00	A 6 1 P	5/06
A 6 1 P	5/06	A 6 1 P	5/12
A 6 1 P	5/12	A 6 1 P	5/14
A 6 1 P	5/14	A 6 1 P	5/38
A 6 1 P	5/38	A 6 1 P	5/40
A 6 1 P	5/40	A 6 1 P	5/48
A 6 1 P	5/48	A 6 1 P	7/00
A 6 1 P	7/00	A 6 1 P	7/02
A 6 1 P	7/02	A 6 1 P	7/04
A 6 1 P	7/04	A 6 1 P	7/06
A 6 1 P	7/06	A 6 1 P	9/00
A 6 1 P	9/00	A 6 1 P	9/02
A 6 1 P	9/02	A 6 1 P	9/04
A 6 1 P	9/04	A 6 1 P	9/06
A 6 1 P	9/06	A 6 1 P	9/10
A 6 1 P	9/10	A 6 1 P	9/10
A 6 1 P	9/12	A 6 1 P	9/12
A 6 1 P	11/02	A 6 1 P	11/02
A 6 1 P	11/04	A 6 1 P	11/04
A 6 1 P	11/06	A 6 1 P	11/06
A 6 1 P	13/02	A 6 1 P	13/02
A 6 1 P	13/08	A 6 1 P	13/08
A 6 1 P	13/10	A 6 1 P	13/10
A 6 1 P	13/12	A 6 1 P	13/12
A 6 1 P	15/00	A 6 1 P	15/00
A 6 1 P	15/02	A 6 1 P	15/02
A 6 1 P	15/06	A 6 1 P	15/06
A 6 1 P	15/08	A 6 1 P	15/08
A 6 1 P	15/14	A 6 1 P	15/14
A 6 1 P	17/00	A 6 1 P	17/00
A 6 1 P	17/02	A 6 1 P	17/02
A 6 1 P	17/04	A 6 1 P	17/04
A 6 1 P	17/06	A 6 1 P	17/06
A 6 1 P	19/00	A 6 1 P	19/00
A 6 1 P	19/02	A 6 1 P	19/02
A 6 1 P	19/04	A 6 1 P	19/04
A 6 1 P	19/06	A 6 1 P	19/06
A 6 1 P	19/10	A 6 1 P	19/10
A 6 1 P	21/00	A 6 1 P	21/00
A 6 1 P	21/04	A 6 1 P	21/04
A 6 1 P	25/00	A 6 1 P	25/00
A 6 1 P	25/02	A 6 1 P	25/02
A 6 1 P	25/08	A 6 1 P	25/08

1 0 1

A 6 1 P 25/14	A 6 1 P 25/14	
A 6 1 P 25/18	A 6 1 P 25/18	
A 6 1 P 25/20	A 6 1 P 25/20	
A 6 1 P 25/22	A 6 1 P 25/22	
A 6 1 P 25/28	A 6 1 P 25/28	
A 6 1 P 27/02	A 6 1 P 27/02	
A 6 1 P 27/06	A 6 1 P 27/06	
A 6 1 P 27/16	A 6 1 P 27/16	
A 6 1 P 29/00	A 6 1 P 29/00	
A 6 1 P 31/00	A 6 1 P 29/00	1 0 1
A 6 1 P 31/04	A 6 1 P 31/00	
A 6 1 P 31/06	A 6 1 P 31/04	
A 6 1 P 31/10	A 6 1 P 31/06	
A 6 1 P 31/12	A 6 1 P 31/10	
A 6 1 P 31/14	A 6 1 P 31/12	
A 6 1 P 31/16	A 6 1 P 31/14	
A 6 1 P 31/18	A 6 1 P 31/16	
A 6 1 P 31/20	A 6 1 P 31/18	
A 6 1 P 31/22	A 6 1 P 31/20	
A 6 1 P 33/00	A 6 1 P 31/22	
A 6 1 P 33/02	A 6 1 P 33/00	
A 6 1 P 33/04	A 6 1 P 33/02	
A 6 1 P 33/10	A 6 1 P 33/04	
A 6 1 P 33/12	A 6 1 P 33/10	
A 6 1 P 33/14	A 6 1 P 33/12	
A 6 1 P 35/00	A 6 1 P 33/14	
A 6 1 P 35/02	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 35/04	A 6 1 P 35/02	
A 6 1 P 37/00	A 6 1 P 35/04	
A 6 1 P 37/02	A 6 1 P 37/00	
A 6 1 P 37/04	A 6 1 P 37/02	
A 6 1 P 37/08	A 6 1 P 37/04	
A 6 1 P 43/00	A 6 1 P 37/08	
C 0 7 K 14/47	A 6 1 P 43/00	1 0 5
C 0 7 K 16/18	A 6 1 P 43/00	1 1 1
C 1 2 N 1/15	A 6 1 P 43/00	1 2 3
C 1 2 N 1/19	C 0 7 K 14/47	
C 1 2 N 1/21	C 0 7 K 16/18	
C 1 2 N 5/10	C 1 2 N 1/15	
C 1 2 P 21/02	C 1 2 N 1/19	
C 1 2 Q 1/68	C 1 2 N 1/21	
G 0 1 N 33/15	C 1 2 P 21/02	C
G 0 1 N 33/50	C 1 2 Q 1/68	A
G 0 1 N 33/53	G 0 1 N 33/15	Z
G 0 1 N 33/566	G 0 1 N 33/50	Z
	G 0 1 N 33/53	D
	G 0 1 N 33/566	
	A 6 1 K 37/02	
	C 1 2 N 5/00	A

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,CH,CY,DE,DK,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EE,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NO,NZ,PL,PT,RO,RU,SD,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VN,YU,ZA,ZW

(72)発明者 フィセラ, マイケル

アメリカ合衆国 メリーランド 20817, ベセスダ, レッドウィング ロード 6308

(72)発明者 ニ, ジアン

アメリカ合衆国 メリーランド 20874, ジャーマンタウン, フェア レディー ウェイ
17815

(72)発明者 ルーベン, スティーブン エム.

アメリカ合衆国 メリーランド 20832, オルネイ, ヘリテイジ ヒルズ ドライブ 1
8528

F ターム(参考) 2G045 AA34 AA35 BB07 BB10 BB20 BB29 BB46 BB51 CB01 DA13
DA36 FB02 FB08 GC10 JA01
4B024 AA01 AA11 BA80 CA04 DA02 DA05 DA06 DA11 DA12 EA02
EA04 GA11 HA12
4B063 QA19 QA20 QQ08 QQ43 QR08 QR42 QR56 QS25 QS34 QX02
4B064 AG01 CA02 CA05 CA06 CA10 CA19 CC24 DA01 DA13
4B065 AA01X AA57X AA72X AA90X AA93Y AB01 BA02 CA24 CA44 CA46
4C084 AA01 AA02 AA06 AA07 AA13 BA01 BA02 BA08 BA18 BA22
CA18 DC50 NA14 NA15 ZA011 ZA051 ZA061 ZA151 ZA181 ZA201
ZA221 ZA261 ZA331 ZA341 ZA361 ZA381 ZA451 ZA531 ZA541 ZA551
ZA591 ZA661 ZA671 ZA751 ZA811 ZA891 ZA941 ZA961 ZA971 ZB051
ZB071 ZB091 ZB111 ZB131 ZB151 ZB271 ZB311 ZB331 ZB351 ZB371
ZB381 ZB391 ZC031 ZC041 ZC061 ZC081 ZC202 ZC311 ZC331 ZC351
ZC551
4C086 AA01 AA03 AA04 EA16 MA01 MA04 NA14 NA15 ZA01 ZA05
ZA06 ZA15 ZA18 ZA20 ZA22 ZA26 ZA33 ZA34 ZA36 ZA38
ZA45 ZA53 ZA54 ZA55 ZA59 ZA66 ZA67 ZA75 ZA81 ZA89
ZA94 ZA96 ZA97 ZB05 ZB07 ZB09 ZB11 ZB13 ZB15 ZB27
ZB31 ZB33 ZB35 ZB37 ZB38 ZB39 ZC03 ZC04 ZC06 ZC08
ZC20 ZC31 ZC33 ZC35 ZC55
4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10 CA40 DA75 EA22 EA50 FA72
FA74