(19)대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) 。Int. Cl.^{7}
C07K 16/18
C12N 15/12
C12Q 1/68
G01N 33/574

(11) 공개번호 10-2004-0073588
(43) 공개일자 2004년08월19일

(21) 출원번호 10-2004-7011464 (분할)
(22) 출원일자 2004년07월23일
(62) 원출원 특허 10-2001-7011361
원출원일자 : 2001년09월07일 심사청구일자 2001년09월07일
번역문 제출일자 2004년07월23일
(86) 국제출원번호 PCT/US1999/028551 (87) 국제공개번호 WO 2000/53750
(86) 국제출원출원일자 1999년12월02일 (87) 국제공개일자 2000년09월14일

(30) 우선권주장 60/162,506 1999년10월29일 미국(US)

(71) 출원인
제넨테크, 인크.
미합중국 캘리포니아 (우편번호 94080-4990) 사우쓰샌프란시스코 디엔에이 웨이 1

(72) 발명자
보트스타인,데이비드
미국 94002 캘리포니아주 벨몬트 소머셋 드라이브 2539

고다드,오드리
미국 94131 캘리포니아주 샌 프란시스코 콩고 스트리트 110

거니,오스틴,엘.
미국 94002 캘리포니아주 벨몬트 데비 레인 1

로이,마가레트,앤
미국 94123 캘리포니아주 샌 프란시스코 웹스터 스트리트 #4 2960

와따나베,콜린,케이.
미국 94556 캘리포니아주 모라가 콜리스 드라이브 128

우드,윌리엄,아이.
미국 94010 캘리포니아주 힐스보로우 사우쓰다운 코트 35

(74) 대리인
주성민
김영

심사청구 : 있음

(54) 종양 치료용 조성물 및 방법

요약

본 발명은 인간을 비롯한 포유동물에서 신생물 세포의 생장 및 증식의 진단 및 치료용 조성물, 및 진단 및 치료 방법에 관한 것이다. 본 발명은 종양 세포의게놈에서 증폭된 유전자의 확인을 기초로 한다. 그러한 유전자 증폭은 동일한 조직 유형의 정상 세포에 비해 유전자 산물이 과다 발현된 것과 관련되어 있으며, 종양 발생의 원인이 되는 것으로 여

겨진다. 따라서, 증폭 유전자에 의해 코딩되는 단백질은 특정 암의 진단 및(또는) 치료(예방을 비롯하여)에 유용한 표적이며, 종양 치료의 예후의 예시자로서 작용할 수 있는 것으로 여겨진다. 또한, 본원에서는 그러한 핵산 서열을 포함하는 벡터와 숙주세포, 본 발명의 폴리펩티드를 이종 폴리펩티드 서열과 융합된 상태로 포함하는 키메라 폴리펩티드 분자, 본 발명의 폴리펩티드에 결합하는 항체, 및 본 발명의 폴리펩티드를 제조하는 방법이 제공된다.

대표도

도 32

색인어

종양, 유전자 증폭, 과다발현, 신생물 세포, PRO 폴리펩티드, 항체

명세서

도면의 간단한 설명

도 1은 본원에서 DNA44194-1317이라 명명된 클론인, 천연 서열 PRO381을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 함유하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열(서열 1)을 나타낸다. 또한, 두꺼운 글씨 및 밑줄로 표시된 부분은 각각 개시 코돈 및 정지 코돈의 위치이다.

도 2는 도 1에 나타낸 서열 1의 코딩 서열로부터 유도된 천연 서열 PRO381 폴리펩티드의 아미노산 서열(서열 2)을 나타낸다.

도 3은 본원에서 DNA66520-1536이라 명명된 클론인, 천연 서열 PRO1269를 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 함유하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열(서열 6)을 나타낸다. 또한, 두꺼운 글씨 및 밑줄로 표시된 부분은 각각 개시 코돈 및 정지 코돈의 위치이다.

도 4는 도 3에 나타낸 서열 6의 코딩 서열로부터 유도된 천연 서열 PRO1269 폴리펩티드의 아미노산 서열(서열 7)을 나타낸다.

도 5는 본원에서 DNA68874-1622라 명명된 클론인, 천연 서열 PRO1410을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 함유하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열(서열 8)을 나타낸다. 또한, 두꺼운 글씨 및 밑줄로 표시된 부분은 각각 개시 코돈 및 정지 코돈의 위치이다.

도 6은 도 5에 나타낸 서열 8의 코딩 서열로부터 유도된 천연 서열 PRO1410 폴리펩티드의 아미노산 서열(서열 9)을 나타낸다.

도 7은 본원에서 DNA76396-1698이라 명명된 클론인, 천연 서열 PRO1755를 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 함유하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열(서열 10)을 나타낸다. 또한, 두꺼운 글씨 및 밑줄로 표시된 부분은 각각 개시 코돈 및 정지 코돈의 위치이다.

도 8은 도 7에 나타낸 서열 10의 코딩 서열로부터 유도된 천연 서열 PRO1755 폴리펩티드의 아미노산 서열(서열 11)을 나타낸다.

도 9는 본원에서 DNA71169-1709라 명명된 클론인, 천연 서열 PRO1780을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 함유하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열(서열 12)을 나타낸다. 또한, 두꺼운 글씨 및 밑줄로 표시된 부분은 각각 개시 코돈 및 정지 코돈의 위치이다.

도 10은 도 9에 나타낸 서열 12의 코딩 서열로부터 유도된 천연 서열 PRO1780 폴리펩티드의 아미노산 서열(서열 13)을 나타낸다.

도 11은 본원에서 DNA77652-2505라 명명된 클론인, 천연 서열 PRO1788을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 함유하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열(서열 17)을 나타낸다. 또한, 두꺼운 글씨 및 밑줄로 표시된 부분은 각각 개시 코돈 및 정지 코돈의 위치이다.

도 12는 도 11에 나타낸 서열 17의 코딩 서열로부터 유도된 천연 서열 PRO1788 폴리펩티드의 아미노산 서열(서열 18)을 나타낸다.

도 13은 본원에서 DNA77631-2537이라 명명된 클론인, 천연 서열 PRO3434를 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 함유하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열(서열 22)을 나타낸다. 또한, 두꺼운 글씨 및 밑줄로 표시된 부분은 각각 개시 코돈 및 정지 코돈의 위치이다.

도 14는 도 13에 나타낸 서열 22의 코딩 서열로부터 유도된 천연 서열 PRO3434 폴리펩티드의 아미노산 서열(서열 23)을 나타낸다.

도 15는 본원에서 DNA82307-2531이라 명명된 클론인, 천연 서열 PRO1927을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 함유하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열(서열 24)을 나타낸다. 또한, 두꺼운 글씨 및 밑줄로 표시된 부분은 각각 개시 코돈 및 정지 코돈의 위치이다.

도 16은 도 15에 나타낸 서열 24의 코딩 서열로부터 유도된 천연 서열 PRO1927 폴리펩티드의 아미노산 서열(서열 25)을 나타낸다.

도 17은 본원에서 DNA56049-2543이라 명명된 클론인, 천연 서열 PRO3567을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 함유하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열(서열 26)을 나타낸다. 또한, 두꺼운 글씨 및 밑줄로 표시된 부분은 각각 개시 코돈 및 정지 코돈의 위치이다.

도 18은 도 17에 나타낸 서열 26의 코딩 서열로부터 유도된 천연 서열 PRO3567 폴리펩티드의 아미노산 서열(서열 27)을 나타낸다.

도 19는 본원에서 DNA59218이라 명명된 클론인, 천연 서열 PRO1295를 코딩하 는 뉴클레오티드 서열을 함유하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열(서열 28)을 나타낸다. 또한, 두꺼운 글씨 및 밑줄로 표시된 부분은 각각 개시 코돈 및 정지 코돈의 위치이다.

도 20은 도 19에 나타낸 서열 28의 코딩 서열로부터 유도된 천연 서열 PRO1295 폴리펩티드의 아미노산 서열(서열 29)을 나타낸다.

도 21은 본원에서 DNA60618-1557이라 명명된 클론인, 천연 서열 PRO1293을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 함유하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열(서열 30)을 나타낸다. 또한, 두꺼운 글씨 및 밑줄로 표시된 부분은 각각 개시 코돈 및 정지 코돈의 위치이다.

도 22는 도 21에 나타낸 서열 30의 코딩 서열로부터 유도된 천연 서열 PRO1293 폴리펩티드의 아미노산 서열(서열 31)을 나타낸다.

도 23은 본원에서 DNA65409-1566이라 명명된 클론인, 천연 서열 PRO1303을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 함유하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열(서열 32)을 나타낸다. 또한, 두꺼운 글씨 및 밑줄로 표시된 부분은 각각 개시 코돈 및 정지 코돈의 위치이다.

도 24는 도 23에 나타낸 서열 32의 코딩 서열로부터 유도된 천연 서열 PRO1303 폴리펩티드의 아미노산 서열(서열 33)을 나타낸다.

도 25는 본원에서 DNA84927-2585라 명명된 클론인, 천연 서열 PRO4344를 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 함유하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열(서열 34)을 나타낸다. 또한, 두꺼운 글씨 및 밑줄로 표시된 부분은 각각 개시 코돈 및 정지 코돈 의 위치이다.

도 26은 도 25에 나타낸 서열 34의 코딩 서열로부터 유도된 천연 서열 PRO4344 폴리펩티드의 아미노산 서열(서열 35)을 나타낸다.

도 27은 본원에서 DNA92256-2596이라 명명된 클론인, 천연 서열 PRO4354를 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 함유하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열(서열 39)을 나타낸다. 또한, 두꺼운 글씨 및 밑줄로 표시된 부분은 각각 개시 코돈 및 정지 코돈의 위치이다.

도 28은 도 27에 나타낸 서열 39의 코딩 서열로부터 유도된 천연 서열 PRO4354 폴리펩티드의 아미노산 서열(서열 40)을 나타낸다.

도 29는 본원에서 DNA83505-2606이라 명명된 클론인, 천연 서열 PRO4397을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 함유하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열(서열 41)을 나타낸다. 또한, 두꺼운 글씨 및 밑줄로 표시된 부분은 각각 개시 코돈 및 정지 코돈의 위치이다.

도 30은 도 29에 나타낸 서열 41의 코딩 서열로부터 유도된 천연 서열 PRO4397 폴리펩티드의 아미노산 서열(서열 42)을 나타낸다.

도 31은 본원에서 DNA92264-2616이라 명명된 클론인, 천연 서열 PRO4407을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 함유하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열(서열 46)을 나타낸다. 또한, 두꺼운 글씨 및 밑줄로 표시된 부분은 각각 개시 코돈 및 정지 코돈의 위치이다.

도 32는 도 31에 나타낸 서열 46의 코딩 서열로부터 유도된 천연 서열 PRO4407 폴리펩티드의 아미노산 서열(서열 47)을 나타낸다.

도 33은 본원에서 DNA73744-1665라 명명된 클론인, 천연 서열 PRO1555를 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 함유하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열(서열 48)을 나타낸다. 또한, 두꺼운 글씨 및 밑줄로 표시된 부분은 각각 개시 코돈 및 정지 코돈의 위치이다.

도 34는 도 33에 나타낸 서열 48의 코딩 서열로부터 유도된 천연 서열 PRO1555 폴리펩티드의 아미노산 서열(서열 49)을 나타낸다.

도 35는 본원에서 DNA61870이라 명명된 클론인, 천연 서열 PRO1096을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 함유하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열(서열 50)을 나타낸다. 또한, 두꺼운 글씨 및 밑줄로 표시된 부분은 각각 개시 코돈 및 정지 코돈의 위치이다.

도 36은 도 35에 나타낸 서열 50의 코딩 서열로부터 유도된 천연 서열 PRO1096 폴리펩티드의 아미노산 서열(서열 51)을 나타낸다.

도 37은 본원에서 DNA83014라 명명된 클론인, 천연 서열 PRO2038을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 함유하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열(서열 52)을 나타낸다. 또한, 두꺼운 글씨 및 밑줄로 표시된 부분은 각각 개시 코돈 및 정지 코돈의 위치이다.

도 38은 도 37에 나타낸 서열 52의 코딩 서열로부터 유도된 천연 서열 PRO2038 폴리펩티드의 아미노산 서열(서열 53)을 나타낸다.

도 39는 본원에서 DNA88273이라 명명된 클론인, 천연 서열 PRO2262를 코딩하 는 뉴클레오티드 서열을 함유하는 cDNA의 뉴클레오티드 서열(서열 54)을 나타낸다. 또한, 두꺼운 글씨 및 밑줄로 표시된 부분은 각각 개시 코돈 및 정지 코돈의 위치이다.

도 40은 도 39에 나타낸 서열 54의 코딩 서열로부터 유도된 천연 서열 PRO2262 폴리펩티드의 아미노산 서열(서열 55)을 나타낸다.

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

악성 종양(암)은 미국에서 심장 질환에 이어 두 번째로 높은 사망 원인이다 (Boring et al., CA Cancer J. Clin., 43:7 [1993]).

암은 정상 조직으로부터 유래된 비정상적이거나 신생물성인 세포수의 증가(증식하여 종양 덩어리를 형성함), 이 신생물성 종양 세포에 의한 인접 조직으로의 침입, 및 결국 혈액 또는 림프계를 통해 국부적 림프절 및 원격 부위로 퍼지는(전이) 악성 세포의 발생을 특징으로 한다. 암 상태에서는 정상 세포라면 생장하지 않을 상태에서도 세포가 증식한다. 암은 침입성 및 침습성의 상이한 정도를 특징으로 하는 각종 형태로 발병된다.

유전자 발현의 이상은 모든 암의 공통적인 특징인 조절불능의 세포 생장 및 탈분화와 밀접하게 관련되어 있다. 잘 연구되어 있는 특정 종양의 게놈에서는 통상 종양 억제유전자로 불리며 정상적으로는 악성 세포 생장을 억제하는 기능을 하는 열성유전자의 발현이 감소되어 있고(거나), 악성 생장을 촉진시키는 기능을 하 는 특정 우성유전자, 예를 들어, 종양유전자가 과다발현되어 있는 것으로 밝혀졌다. 이러한 모든 유전적 변화는 총체적으로 완전한 신생물성 표현형을 나타내는 몇가지 중요한 형질의 원인이 되는 것으로 여겨진다(Hunter, Cell, 64:1129 [1991] 및 Bishop, Cell, 64:235-248 [1991]).

암 세포에서의 널리 알려진 유전자(예를 들어, 종양유전자) 과다발현 메카니즘은 유전자 증폭이다. 이는 조상 세포의 염색체에서 특정 유전자의 조상 세포 복제본이 다수 생성되는 과정이다. 이 과정은 상기 유전자를 포함하는 염색체 영역의 예정되지 않은 복제에 이어, 복제된 세그먼트가 재조합되어 염색체로 통합되는 과정을 수반한다(Alitalo et al., Adv. Cancer Res., 47:235-281 [1986]). 유전자의 과다발현은 유전자 증폭과 평행 관계인 것으로, 즉 생성되는 복제본 수에 비례하는 것으로 여겨진다.

생장 인자 및 생장 인자 수용체를 코딩하는 원시 종양유전자(proto-oncogene)는 유방암을 비롯한 각종 인간 악성 질환의 병인에 있어 중요한 역할을 하는 것으로 확인되었다. 예를 들어, 상피 생장 인자 수용체(EGFR)와 관련된 185 kd의 막횡단 당단백질 수용체(p185 ^{HER2} ; HER2)를 코딩하는 인간 ErbB2 유전자(또한 her2 또는 c-erbB-2로도 공지된 erbB2)는 인간 유방암의 약 25% 내지 약 30%에서 과다발현한 것으로 밝혀졌다(Slamon et al., Science, 235: 177-182[1987]; Slamon et al., Science, 244:707-712[1989]).

원시 종양유전자의 유전자 증폭은 전형적으로 보다 악성인 형태의 암과 관련 된 사건이며, 임상적 추이에 대한 예시자로서 작용할 수 있는 것으로 보고되었다 (Schwab et al., Genes Chromosomes Cancer, 1:181-193[1990]; Alitalo et al.의 상기 문헌). 따라서, erbB2의 과다발현은 특히 엽액 림프절과 관련된 원발성 질환의 환자에서 통상 불량한 예후의 예시자로 여겨지며(Slamon et al.,[1987] 및 [1989]의 상기 문헌; Ravdin and Chamness, Gene, 159:19-27[1995]; 및 Hynes and Stern, Biochim. Biophys. Acta. 1198:165-184[1994]), 호르몬 치료 및 CMF(시클로포스파미드, 메토트렉세이트 및 플루오르우라실) 및 안트라시클린을 비롯한 화학요법에 대한 감수성 및(또는) 내성과 결부되어 있는 것으로 여겨진다(Baselge et al., Oncology, 11(3 Suppl 1):43-48[1997]). 그러나, erbB2의 과다발현과 불량한 예후 간의 연관성에도 불구하고, HER2-양성 환자가 탁산(taxane)을 사용한 치료에 임상적으로 반응할 확률이 HER2-음성 환자보다 3 배 더 높다(상게서). 재조합 인간화 항-ErB2(항-HER2) 모노클로날 항체(쥐과(murine) 항-ErbB2 항체 4D5의 인간화 형태는 rhuMAb Her2 또는 상표명 헤르셉틴(Herceptin)으로 언급됨)는 이미 여러 가지 항암 치료를 받은 ErbB2-과다발현 전이성 유방암 환자에서 임상적으로 효과를 나타냈다(Baselga et al., J. Clin. Oncol., 14:737-744 [1996]).

상기 기재된 바에 비추어, 유전자 증폭과 관련있는 종양의 진단 및 치료에 유용한 신규 조성물 및 방법의 확인은 당연히 관심사이다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

본 발명은 종양의 진단 및 치료용 조성물 및 그 방법에 관한 것이다.

<발명의 개요>

A. 실시양태

본 발명은 인간을 포함하는 포유동물에서 신생물성 세포의 생장 및 증식에 대한 진단 및 치료용 조성물과 그 방법에 관한 것이다. 본 발명은 종양 세포의 게놈에서 증폭되는 유전자를 확인하는 것을 기초로 한다. 그러한 유전자 증폭은 유전자 산물의 과다발현과 연관되며, 종양형성의 원인이 되는 것으로 생각된다. 따라서, 증폭 유전자에 의해 코딩된 단백질은 특정 암의 진단 및(또는) 치료(예방을 포함하여)에 있어 유용한 표적인 것으로 여겨지며, 종양 치료의 예후에 있어서 예시자로 작용할 수 있다.

한 실시양태에서, 본 발명은 본원에서 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드로 지칭되는 폴리펩티드에 결합하는 단리된 항체에 관한 것이다. 한 측면에서, 단리된 항체는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드에 특이적으로 결합한다. 다른 측면에서, 항체는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드를 발현하는 세포의 사멸을

유도한다. 종종, PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드를 과다발현하는 세포는 동일한 조직 유형의 정상 세포에 비해 상기 폴리펩티드를 과다발현하는 종양 세포이다. 또다른 측면에서, 항체는 바람직하게는 비-인간 상보성 결정 영역(complementarity determining region, CDR) 잔기 및 인간 프레임워크(framework) 영역(FR) 잔기를 갖는 모노클로날 항체이다. 항체는 표지될 수 있으며, 고형 지지체상에 고정될 수 있다. 또다른 측면에서, 항체는 바람직하게는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드에 특이적으로 결합하는 항체 단편, 단일쇄 항체 또는 인간화 항체이다.

다른 실시양태에서, 본 발명은 바람직하게는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드에 특이적으로 결합하는 항체를 제약상 허용되는 담체와 혼합된 형태로 포함하는 물질의 조성물에 관한 것이다. 한 측면에서, 물질의 조성물은 치료 유효량의 항체를 포함한다. 다른 측면에서, 상기 조성물은 예를 들어, 추가의 항체나 세포독성제 또는 화학요법제일 수 있는 추가의 활성 성분을 포함한다. 조성물은 멸균된 것이 바람직하다.

추가의 실시양태에서, 본 발명은 항-PRO381, 항-PRO1269, 항-PRO1410, 항-PRO1755, 항-PRO1780, 항-PRO1788, 항-PRO3434, 항-PRO1927, 항-PRO3567, 항-PRO1295, 항-PRO1293, 항-PRO1303, 항-PRO4344, 항-PRO4354, 항-PRO4397, 항-PRO4407, 항-PRO1555, 항-PRO1096, 항-PRO2038 또는 항-PRO2262 항체를 코딩하는 단리된 핵산 분자, 및 그러한 핵산 분자를 포함하는 벡터 및 재조합 숙주세포에 관한 것이다.

다른 추가의 실시양태에서, 본 발명은 항-PRO381, 항-PRO1269, 항-PRO1410, 항-PRO1755, 항-PRO1780, 항-PRO1788, 항-PRO3434, 항-PRO1927, 항-PRO3567, 항-PRO1295, 항-PRO1293, 항-PRO1303, 항-PRO4344, 항-PRO4354, 항-PRO4397, 항-PRO4407, 항-PRO1555, 항-PRO1096, 항-PRO2038 또는 항-PRO2262 항체를 코딩하는 핵산으로 형질전환된 숙주세포를 항체의 발현에 충분한 조건하에 배양하고, 세포 배양액으로부터 항체를 회수하는 것을 포함하는, 항-PRO381, 항-PRO1269, 항-PRO1410, 항-PRO1755, 항-PRO1780, 항-PRO1788, 항-PRO3434, 항-PRO1927, 항-PRO3567, 항-PRO1295, 항-PRO1293, 항-PRO1303, 항-PRO4344, 항-PRO4354, 항-PRO4397, 항-PRO4407, 항-PRO1555, 항-PRO1096, 항-PRO2038 또는 항-PRO2262 항체의 제조 방법에 관한 것이다.

본 발명은 추가로 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 하나 이상의 생물학적 및(또는) 면역학적 기능 또는 활성을 억제하는, PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 길항제에 관한 것이다.

추가의 측면에서, 본 발명은 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 분자에 혼성화되는 단리된 핵산 분자 또는 그의 상보체에 관한 것이다. 단리된 핵산 분자는 DNA가 바람직하고, 혼성화는 엄격한 혼성화 및 세척 조건에서 수행하는 것이 바람직하다. 상기 핵산 분자는 본원에서 확인된 증폭 유전자의 안티센스 분자로 작용할 수 있으며, 이는 또한 각각의 증폭 유전자의 전사 및(또는) 번역의 조절에 사용되거나 증폭 반응의 안티센스 프라이머로서 사용될 수 있다. 또한, 그러한 서열은 리보자임 및(또는) 삼중 나선 서열의 일부로 사용할 수 있고, 또한 증폭 유전자의 조절에 사용할 수 있다.

다른 실시양태에서, 본 발명은 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드를 함유할 것으로 의심되는 샘플을 항-PRO381, 항-PRO1269, 항-PRO1410, 항-PRO1755, 항-PRO1780, 항-PRO1788, 항-PRO3434, 항-PRO1927, 항-PRO3567, 항-PRO1295, 항-PRO1293, 항-PRO1303, 항-PRO4344, 항-PRO4354, 항-PRO4397, 항-PRO4407, 항-PRO1555, 항-PRO1096, 항-PRO2038 또는 항-PRO2262 항체에 노출시키고, 상기 샘플에서 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드에 상기 항체가 결합하는 것을 측정하는 단계를 포함하는, 상기 샘플에서 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 존재를 측정하는 방법을 제공한다. 다른 실시양태에서, 본 발명은 세포를 항-PRO381, 항-PRO1269, 항-PRO1410, 항-PRO1755, 항-PRO1780, 항-PRO1788, 항-PRO3434, 항-PRO1927, 항-PRO3567, 항-PRO1295, 항-PRO1293, 항-PRO1303, 항-PRO4344, 항-PRO4354, 항-PRO4397, 항-PRO4407,

항-PRO1555, 항-PRO1096, 항-PRO2038 또는 항-PRO2262 항체에 노출시키고, 항체가 세포에 결합하는 것을 측정하는 단계를 포함하는, 세포에서 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262의 존재를 측정하는 방법을 제공한다.

또다른 실시양태에서, 본 발명은 (a) 포유동물로부터 얻은 조직 세포의 시험 샘플 및 (b) 동일한 세포 유형의 공지된 정상 조직 세포인 대조용 샘플에서 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드를 코딩하는 유전자의 발현 수준을 검출하는 것을 포함하는, 포유동물에서의 종양의 진단 방법에 관한 것이며, 이 방법에서 대조용 샘플에 비해 시험 샘플의 발현 수준이 더 높으면, 이는 시험 조직 세포를 얻은 포유동물에 종양이 존재함을 지시하는 것이다.

다른 실시양태에서, 본 발명은 (a) 시험 샘플을 항-PRO381, 항-PRO1269, 항-PRO1410, 항-PRO1755, 항-PRO1780, 항-PRO1788, 항-PRO3434, 항-PRO1927, 항-PRO3567, 항-PRO1295, 항-PRO1293, 항-PRO1303, 항-PRO4344, 항-PRO4354, 항-PRO4397, 항-PRO4407, 항-PRO1555, 항-PRO1096, 항-PRO2038 또는 항-PRO2262 항체를 포유동물로부터 얻은 조직 세포와 접촉시키는 단계, 및 (b) 시험 샘플에서 항-PRO381, 항-PRO1269, 항-PRO1410, 항-PRO1755, 항-PRO1780, 항-PRO1788, 항-PRO3434, 항-PRO1927, 항-PRO3567, 항-PRO1295, 항-PRO1293, 항-PRO1303, 항-PRO4344, 항-PRO4354, 항-PRO4397, 항-PRO4407, 항-PRO1555, 항-PRO1096, 항-PRO2038 또는 항-PRO2262 항체와 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드와의 결합체 형성 여부를 측정하는 단계를 포함하는, 포유동물에서 종양의 진단 방법에 관한 것이며, 이 방법에서 결합체의 형성은 상기 포유동물에 종양이 존재함을 지시하는 것이다. 검출은 정성 또는 정량적일 수 있으며, 동일한 세포 유형의 공지된 정상 조직 세포인 대조용 샘플에서의 결합체 형성 여부를 모니터링한 결과와 비교하여 수행할 수 있다. 시험 샘플에 보다 다량의 결합체가 형성되었다는 것은 시험 조직 세포를 얻은 포유동물에 종양이 존재함을 지시하는 것이다. 항체는 검출가능한 표지를 포함하는 것이 바람직하다. 결합체 형성은 예를 들어, 광학현미경, 유동 세포계측법(flow cytometry), 형광측정법 또는 당업계에 공지된 다른 기술로 모니터링할 수 있다.

시험 샘플은 통상 신생물성 세포 생장 또는 증식이 의심되는 환자의 세포(예를 들어, 암 세포)로부터 얻는다.

다른 실시양태에서, 본 발명은 적합한 용기내에 항-PRO381, 항-PRO1269, 항-PRO1410, 항-PRO1755, 항-PRO1780, 항-PRO1788, 항-PRO3434, 항-PRO1927, 항-PRO3567, 항-PRO1295, 항-PRO1293, 항-PRO1303, 항-PRO4344, 항-PRO4354, 항-PRO4397, 항-PRO4407, 항-PRO1555, 항-PRO1096, 항-PRO2038 또는 항-PRO2262 항체 및 담체(예를 들어, 완충제)를 포함하는 암 진단용 키트에 관한 것이다. 키트는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드를 함유할 것으로 의심되는 샘플에서 상기 폴리펩티드의 존재를 검출하기 위한 항체의 사용 설명서를 포함하는 것이 바람직하다.

또다른 실시양태에서, 본 발명은 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드를 발현하는 종양 세포를 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 생물학적 및(또는) 면역학적 활성 및(또는) 발현을 억제하는 유효량의 약물에 노출시켜 종양 세포의 생장을 억제시키는 것을 포함하는, 종양 세포의 생장 억제 방법에 관한 것이다. 상기 약물은 항-PRO381, 항-PRO1269, 항-PRO1410, 항-PRO1755, 항-PRO1780, 항-PRO1788, 항-PRO3434, 항-PRO1927, 항-PRO3567, 항-PRO1295, 항-PRO1293, 항-PRO1303, 항-PRO4344, 항-PRO4354, 항-PRO4397, 항-PRO4407, 항-PRO1555, 항-PRO1096, 항-PRO2038 또는 항-PRO2262 항체, 작은 유기 및 무기 분자, 펩티드, 포스포펩티드, 안티센스 또는 리보자임 분자, 또는 삼중 나선 분자가 바람직하다. 구체적인 측면에서, 상기 약물, 예를 들어, 항-PRO381, 항-PRO1269, 항-PRO1410, 항-PRO1755, 항-PRO1780, 항-PRO1788, 항-PRO3434, 항-PRO1927, 항-PRO3567, 항-PRO1295, 항-PRO1293, 항-PRO1303, 항-PRO4344, 항-PRO4354, 항-PRO4397, 항-PRO4407, 항-PRO1555, 항-PRO1096, 항-PRO2038 또는 항-PRO2262 항체는 세포 사멸을 유도한다. 추가의 측면에서, 종양 세포는 방사선 치료 및(또는) 세포독성제 또는 화학요법제에 추가로 노출시킬 수 있다.

추가의 실시양태에서, 본 발명은

용기,

용기상의 라벨, 및

상기 용기중에 함유된 활성제를 포함하는 조성물을 포함하며, 상기 조성물은 종양 세포의 생장을 억제하는데 효과적이며, 상기 용기상의 라벨은 상기 조성물이 동일한 조직 유형의 정상 세포에 비해 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴 리펩티드가 과다발현되는 것을 특징으로 하는 증상을 치료하는데 사용할 수 있음을 가리키는 것인 제품에 관한 것이다. 특정 측면에서, 상기 조성물 중의 활성제는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 활성 및(또는) 발현을 억제하는 것이다. 바람직한 측면에서, 활성제는 항-PRO381, 항-PRO1269, 항-PRO1410, 항-PRO1755, 항-PRO1780, 항-PRO1788, 항-PRO3434, 항-PRO1927, 항-PRO3567, 항-PRO1295, 항-PRO1293, 항-PRO1303, 항-PRO4344, 항-PRO4354, 항-PRO4397, 항-PRO4407, 항-PRO1555, 항-PRO1096, 항-PRO2038 또는 항-PRO2262 항체 또는 안티센스 올리고뉴클레오티드이다.

본 발명은 또한 후보 화합물을 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드와 이들 두 성분이 상호작용할 수 있는 충분한 시간 및 조건하에 접촉시키고, PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 생물학적 및(또는) 면역학적 활성이 억제되는지의 여부를 측정하는 것을 포함하는, PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 활성을 억제하는 화합물을 확인하는 방법에 관한 것이다. 구체적인 측면에서, 후보 화합물 또는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드를 고형 지지체상에 고정한다. 다른 측면에서, 고정되지 않은 성분은 검출가능한 표지를 갖는다. 바람직한 측면에서, 이 방법은 (a) 세포와 스크리닝될 후보 화합물을 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드 존재하에 상기 폴리펩티드에 의해 정상적으로 유도되는 세포 반응을 유도하기에 적합한 조건하에서 접촉시키는 단계, 및 (b) 시험 화합물이 효과적인 길항제인지의 여부를 결정하기 위해 상기 세포 반응이 유도되는 것을 측정하는 단계를 포함한다.

다른 실시양태에서, 본 발명은 세포를 후보 화합물과 접촉시키고, PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 발현이 억제되는지의 여부를 측정하는 것을 포함하는, 상기 폴리펩티드를 발현하는 세포에서 상기 폴리펩티드의 발현을 억제하는 화합물을 확인하는 방법을 제공한다. 바람직한 측면에서, 이 방법은 (a) 세포와 스크리닝될 후보 화합물을 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 발현에 적합한 조건하에서 접촉시키는 단계, 및 (b) 상기 폴리펩티드의 발현이 억제되는 것을 측정하는 단계를 포함한다.

B. 추가의 실시양태

본 발명의 다른 실시양태에서, 본 발명은 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드를 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 단리된 핵산 분자를 제공한다.

한 측면에서, 단리된 핵산 분자는 (a) 본원에 개시된 바와 같은 전장의 아미노산 서열, 본원에 개시된 바와 같은 신호 펩티드를 포함하지 않는 아미노산 서열, 본원에 개시된 바와 같은 신호 펩티드를 포함하거나 포함하지 않는 세포외 도메인, 또는 본원에 개시된 바와 같은 전장 아미노산 서열의 구체적으로 한정된 임의의 기타 단편을 갖는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드를 코딩하는 DNA 분자, 또는 (b) 상기 DNA 분자 (a)의 상보체와 약 80% 이상의 서열 동일성, 바람직하게는 약 81% 이상의 서열 동일성, 더 바람직하게는 약 82% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 83% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 84% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 85% 이상의 서열 동일성, 보다 바 람직하게는 약 86% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 87% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 88% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 89% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 90% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 91% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 92% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 93

% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 94% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 95% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 96% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 97% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 98% 이상의 서열 동일성 및 보다 바람직하게는 약 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

다른 측면에서, 단리된 핵산 분자는 (a) 본원에 개시된 바와 같은 전장 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드 cDNA의 코딩 서열을 포함하는 DNA 분자, 본원에 개시된 바와 같은 신호 펩티드를 포함하지 않는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 코딩 서열, 본원에 기재된 바와 같은 신호 펩티드를 포함하거나 포함하지 않는 막횡단 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 세포외 도메인의 코딩 서열, 또는 본원에 개시된 바와 같은 전장 아미노산 서열의 구체적으로 한정된 임의의 기타 단편의 코딩 서열, 또는 (b) 상기 DNA 분자 (a)의 상보체와 약 80% 이상의 서열 동일성, 바람직하게는 약 81% 이상의 서열 동일성, 더 바람직하게는 약 82% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 83% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 84% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 85% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 86% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 87% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 88% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 89% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 90% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 91% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 92% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 93% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 94% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 95% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 96% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 97% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 98% 이상의 서열 동일성 및 보다 바람직하게는 약 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

추가의 측면에서, 본 발명은 (a) 본원에 개시된 바와 같이 ATCC에 기탁된 임의의 인간 단백질 cDNA에 의해 코딩되는 동일한 성숙 폴리펩티드를 코딩하는 DNA 분자, 또는 (b) 상기 DNA 분자 (a)의 상보체와 약 80% 이상의 서열 동일성, 바람직하게는 약 81% 이상의 서열 동일성, 더 바람직하게는 약 82% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 83% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 84% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 85% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 86% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 87% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 88% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 89% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 90% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 91% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 92% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 93% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 94% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 95% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 96% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 97% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 98% 이상의 서열 동일성 및 보다 바람직하게는 약 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 단리된 핵산 분자에 관한 것이다.

본 발명의 또다른 측면은 본원에 개시된 바와 같이 막횡단 도메인이 결실되거나 불활성화된 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드를 코딩하는 뉴클레오티드 서열, 또는 막횡단 도메인이 본원에 개시된 바와 같은 상기 코딩 뉴클레오티드 서열과의 상보체를 포함하는 단리된 핵산 분자를 제공한다. 따라서, 본원에 기재된 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 가용성 세포외 도메인이 본 발명에서 고려된다.

또다른 실시양태는, 예를 들면 항-PRO381, 항-PRO1269, 항-PRO1410, 항-PRO1755, 항-PRO1780, 항-PRO1788, 항-PRO3434, 항-PRO1927, 항-PRO3567, 항-PRO1295, 항-PRO1293, 항-PRO1303, 항-PRO4344, 항-PRO4354, 항-PRO4397, 항-PRO4407, 항-PRO1555, 항-PRO1096, 항-PRO2038 또는 항-PRO2262 항체에 대한 결합 부위를 포함하는 폴리펩티드를 임의로 코딩할 수 있는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 코딩 단편에 대한 혼성화 프로브 또는 안티센스 올리고뉴클레오티드 프로브로서 사용할 수 있는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드 코딩 서열의 단편 또는 그의 상보체에 관한 것이다. 그러한 핵산 단편은 통상 길이가 약 20 뉴클레오티드 이상, 바람직하게는 길이가 약 30 뉴클레오티드 이상, 더 바람직하게는 길이가 약 40 뉴클레오티드 이상, 보다 바람직하게는 길이가 약 50 뉴클레오티드 이상, 보다 바람직하게는 길이가 약 60 뉴클레오티드 이상, 보다 바람직하게는 길이가 약 70 뉴클레오티드 이상, 보다 바람직하게는 길이가 약 80 뉴클레오티드 이상, 보다 바람직하게는 길이가 약 90 뉴클레오티드 이상, 보다 바람직하게는 길이가 약 100 뉴클레오티드 이상, 보다 바람직하게는 길이가 약 110 뉴클레오티드 이상, 보다 바람직하게는 길이가 약 120 뉴클레오 티드 이상,

보다 바람직하게는 길이가 약 130 뉴클레오티드 이상, 보다 바람직하게는 길이가 약 140 뉴클레오티드 이상, 보다 바람직하게는 길이가 약 150 뉴클레오티드 이상, 보다 바람직하게는 길이가 약 160 뉴클레오티드 이상, 보다 바람직하게는 길이가 약 170 뉴클레오티드 이상, 보다 바람직하게는 길이가 약 180 뉴클레오티드 이상, 보다 바람직하게는 길이가 약 190 뉴클레오티드 이상, 보다 바람직하게는 길이가 약 200 뉴클레오티드 이상, 보다 바람직하게는 길이가 약 250 뉴클레오티드 이상, 보다 바람직하게는 길이가 약 300 뉴클레오티드 이상, 보다 바람직하게는 길이가 약 350 뉴클레오티드 이상, 보다 바람직하게는 길이가 약 400 뉴클레오티드 이상, 보다 바람직하게는 길이가 약 450 뉴클레오티드 이상, 보다 바람직하게는 길이가 약 500 뉴클레오티드 이상, 보다 바람직하게는 길이가 약 600 뉴클레오티드 이상, 보다 바람직하게는 길이가 약 700 뉴클레오티드 이상, 보다 바람직하게는 길이가 약 800 뉴클레오티드 이상, 보다 바람직하게는 길이가 약 900 뉴클레오티드 이상 및 보다 바람직하게는 길이가 약 1000 뉴클레오티드 이상이며, 이 때 '약'이란 용어는 해당 뉴클레오티드 길이의 10%를 가하거나 감한 길이를 의미한다. PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드를 코딩하는 뉴클레티드 서열의 신규 단편은, 임의의 잘 공지된 다수의 서열 정렬 프로그램을 이용하여 상기 폴리펩티드를 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 다른 공지된 뉴클레오티드 서열과 정렬하여 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드를 코딩하는 뉴클레티드 서열의 단편이 신규한지 결정함으로써 종래의 방식으로 결정될 수 있음을 알아야 한다. 그러한 모든 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드를 코딩하는 뉴클레오티드 서열은 본원에서 고려된다. 또한, 고려되는 것은 이들 뉴클레오티드 분자 단편에 의해 코딩되는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 단편, 바람직하게는 항-PRO381, 항-PRO1269, 항-PRO1410, 항-PRO1755, 항-PRO1780, 항-PRO1788, 항-PRO3434, 항-PRO1927, 항-PRO3567, 항-PRO1295, 항-PRO1293, 항-PRO1303, 항-PRO4344, 항-PRO4354, 항-PRO4397, 항-PRO4407, 항-PRO1555, 항-PRO1096, 항-PRO2038 또는 항-PRO2262 항체에 대한 결합 부위를 포함하는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 단편이다.

또다른 실시양태에서, 본 발명은 본원의 상기에 확인된 임의의 단리된 핵산 서열에 의해 코딩되는 단리된 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드를 제공한다.

특정 측면에서, 본 발명은 본원에 개시된 바와 같은 전장의 아미노산 서열, 본원에 개시된 바와 같은 신호 펩티드를 포함하지 않는 아미노산 서열, 본원에 개시된 바와 같은 신호 펩티드를 포함하거나 포함하지 않는 막횡단 단백질의 세포외 도메인, 또는 본원에 개시된 바와 같은 전장 아미노산 서열의 구체적으로 한정된 임의의 기타 단편을 갖는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드와 약 80% 이상의 서열 동일성, 바람직하게는 약 81% 이상의 서열 동일성, 더 바람직하게는 약 82% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 83% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 84% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 85% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 86% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 87% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 88% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 89% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 90% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 91% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 92% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 93% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 94% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 95% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 96% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 97% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 98% 이상의 서열 동일성 및 보다 바람직하게는 약 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 단리된 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드에 관한 것이다.

추가의 측면에서, 본 발명은 본원에 개시된 바와 같이 ATCC에 기탁된 임의의 인간 단백질 cDNA에 의해 코딩되는 아미노산 서열과 약 80% 이상의 서열 동일성, 바람직하게는 약 81% 이상의 서열 동일성, 더 바람직하게는 약 82% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 83% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 84% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 85% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 86% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 87% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 88% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 89% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 90% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 91% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 92% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 93% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 94% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 95% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 96% 이상의 서열

동일성, 보다 바람직하게는 약 97% 이상의 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 98% 이상의 서열 동일성 및 보다 바람직하게는 약 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 단리된 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드에 관한 것이다.

추가의 측면에서, 본 발명은 본원에 개시된 바와 같은 전장의 아미노산 서열, 본원에 개시된 바와 같은 신호 펩티드를 포함하지 않는 아미노산 서열, 본원에 개시된 바와 같은 신호 펩티드를 포함하거나 포함하지 않는 막횡단 단백질의 세포외 도메인, 또는 본원에 개시된 바와 같은 전장 아미노산 서열의 구체적으로 한정된 임의의 기타 단편을 갖는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드와 비교했을 때, 약 80% 이상의 양성, 바람직하게는 약 81% 이상의 양성, 더 바람직하게는 약 82% 이상의 양성, 보다 바람직하게는 약 83% 이상의 양성, 보다 바람직하게는 약 84% 이상의 양성, 보다 바람직하게는 약 85% 이상의 양성, 보다 바람직하게는 약 86% 이상의 양성, 보다 바람직하게는 약 87% 이상의 양성, 보다 바람직하게는 약 88% 이상의 양성, 보다 바람직하게는 약 89% 이상의 양성, 보다 바람직하게는 약 90% 이상의 양성, 보다 바람직하게는 약 91% 이상의 양성, 보다 바람직하게는 약 92% 이상의 양성, 보다 바람직하게는 약 93% 이상의 양성, 보다 바람직하게는 약 94% 이상의 양성, 보다 바람직하게는 약 95% 이상의 양성, 보다 바람직하게는 약 96% 이상의 양성, 보다 바람직하게는 약 97% 이상의 양성, 보다 바람직하게는 약 98% 이상의 양성 및 보다 바람직하게는 약 99% 이상의 양성을 나타내는 아미노산 서열을 포함하는 단리된 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드에 관한 것이다.

구체적인 측면에서, 본 발명은 N-말단 신호 서열 및(또는) 개시 메티오닌이 없으며 본원의 상기에 기재된 바와 같은 아미노산 서열을 코딩하는 뉴클레오티드 서열에 의해 코딩되는 단리된 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드를 제공한다. 또한, PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 발현에 적합한 조건하에서 적합한 코딩 핵산 분자를 포함하는 벡터가 포함된 숙주세포를 배양하여, 그 세포 배양액으로부터 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드를 회수하는 것을 포함하는, 상기 폴리펩티드의 제조 방법이 본원에 기재되어 있다.

본 발명의 또다른 측면은 막횡단 도메인이 결실되거나 불활성화된, 단리된 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드를 제공한다. 또한, PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 발현에 적합한 조건하에서 적합한 코딩 핵산 분자를 포함하는 벡터가 포함된 숙주세포를 배양하여, 그 세포 배양액으로부터 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드를 회수하는 것을 포함하는, 상기 폴리펩티드의 제조 방법이 본원에 기재되어 있다.

또다른 실시양태에서, 본 발명은 본원에 정의된 바와 같은 천연 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 길항제에 관한 것이다. 특정 실시양태에서, 상기 길항제는 항-PRO381, 항-PRO1269, 항-PRO1410, 항-PRO1755, 항-PRO1780, 항-PRO1788, 항-PRO3434, 항-PRO1927, 항-PRO3567, 항-PRO1295, 항-PRO1293, 항-PRO1303, 항-PRO4344, 항-PRO4354, 항-PRO4397, 항-PRO4407, 항-PRO1555, 항-PRO1096, 항-PRO2038 또는 항-PRO2262 항체, 또는 소분자이다.

추가의 실시양태에서, 본 발명은 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드를 후보 화합물과 접촉시켜 상기 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드에 의해 매개되는 생물학적 활성을 모니터링하는 것을 포함하는, 상기 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드에 대한 길항제를 확인하는 방법에 관한 것이다. 바람직하게는 상기 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티

드가 천연 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드이다.

추가의 실시양태에서, 본 발명은 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드, 본원에 기재된 바와 같은 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 길항제, 또는 항-PRO381, 항-PRO1269, 항-PRO1410, 항-PRO1755, 항-PRO1780, 항-PRO1788, 항-PRO3434, 항-PRO1927, 항-PRO3567, 항-PRO1295, 항-PRO1293, 항-PRO1303, 항-PRO4344, 항-PRO4354, 항-PRO4397, 항-PRO4407, 항-PRO1555, 항-PRO1096, 항-PRO2038 또는 항-PRO2262 항체를 담체와 배합된 상태로 포함하는 물질의 조성물에 관한 것이다. 임의로, 담체는 제약상 허용되는 담체일 수 있다.

본 발명의 또다른 실시양태는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드, 그의 길항제, 또는 항-PRO381, 항-PRO1269, 항-PRO1410, 항-PRO1755, 항-PRO1780, 항-PRO1788, 항-PRO3434, 항-PRO1927, 항-PRO3567, 항-PRO1295, 항-PRO1293, 항-PRO1303, 항-PRO4344, 항-PRO4354, 항-PRO4397, 항-PRO4407, 항-PRO1555, 항-PRO1096, 항-PRO2038 또는 항-PRO2262 항체에 반응하는 증상의 치료에 유용한 의약 제조에 있어서, 상기 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드, 본원에 기재된 바와 같은 그의 길항제, 또는 항-PRO381, 항-PRO1269, 항-PRO1410, 항-PRO1755, 항-PRO1780, 항-PRO1788, 항-PRO3434, 항-PRO1927, 항-PRO3567, 항-PRO1295, 항-PRO1293, 항-PRO1303, 항-PRO4344, 항-PRO4354, 항-PRO4397, 항-PRO4407, 항-PRO1555, 항-PRO1096, 항-PRO2038 또는 항-PRO2262 항체의 용도에 관한 것이다.

본 발명의 다른 실시양태에서, 본 발명은 본원에 기재된 임의의 폴리펩티드를 코딩하는 DNA를 포함하는 벡터를 제공한다. 또한, 이와 같은 임의의 벡터를 포 함하는 숙주세포도 제공된다. 예를 들면, 숙주세포는 CHO 세포, 대장균(*E. coli*), 효모 또는 배큘로바이러스-감염 곤충 세포일 수 있다. 본원에 기재된 임의의 폴리펩티드를 제조하는 방법이 추가로 제공되며, 상기 방법은 원하는 폴리펩티드의 발현에 적합한 조건하에서 숙주세포를 배양하여, 그 세포 배양액으로부터 원하는 폴리펩티드를 회수하는 것을 포함한다.

다른 실시양태에서, 본 발명은 이종 폴리펩티드 또는 아미노산 서열에 융합된, 본원에 기재된 임의의 폴리펩티드를 포함하는 키메라 분자를 제공한다. 그러한 키메라 분자의 예에는 에피토프 태그 서열 또는 면역글로불린의 Fc 영역에 융합된, 본원에 기재된 임의의 폴리펩티드가 포함된다.

또다른 실시양태에서, 본 발명은 상기 또는 하기에 기재된 임의의 폴리펩티드에 특이적으로 결합하는 항체를 제공한다. 임의로, 상기 항체는 모노클로날 항체, 인간화 항체, 항체 단편 또는 단일쇄 항체일 수 있다.

또다른 실시양태에서, 본 발명은 상기 또는 하기에 기재된 임의의 뉴클레오티드 서열로부터 유도될 수 있는, 게놈 및 cDNA 뉴클레오티드 서열의 단리에 유용하거나 안티센스 프로브로서 유용한 올리고뉴클레오티드 프로브를 제공한다.

발명의 구성 및 작용

I. 정의

'유전자 증폭' 및 '유전자 복제'라는 어구는 서로 바꿔 사용할 수 있고, 특정 세포 또는 세포주에서 유전자 또는 유전자 단편의 복제본이 다수 형성되는 과정을 말한다. 복제된 영역(증폭된 DNA의 스트레치)는 종종 '앰플리콘(amplicon)'으 로 불린다. 통상, 생성되는 mRNA의 양, 즉 유전자 발현량은 발현되는 특정 유전자의 복제본 수에 비례하여 증가한다.

본원에 사용된 '종양'은 악성이든 양성이든 모든 신생물 세포 생장 및 증식, 및 모든 예비암성 및 암성 세포 및 조직을 말한다.

'암' 및 '암성'이란 용어는 비조절된 세포 증식이라는 전형적 특징을 갖는 포유동물의 생리 상태를 의미하거나 규정한다. 암의 예로는 암종, 림프종, 아세포종, 육종 및 백혈병이 포함되지만, 이에 제한되지는 않는다. 상기 암의 보다 구체

적인 예로는 유방암, 전립선암, 결장암, 편평세포암, 소세포 폐암, 비소세포 폐암, 위장암, 췌장암, 신경교아종, 자궁경부암, 난소암, 간암, 방광암, 간종양, 결장직장암, 자궁내막암, 침샘 암종, 신장암, 외음부암, 갑상선암, 간암종 및 여러 종류의 두부 및 경부암이 포함된다.

'치료'란 질병의 병리 상태의 발병 또는 변화를 예방하기 위해 수행하는 대책을 의미한다. 따라서, '치료'는 치료제를 사용한 치료 및 억제 또는 예방 조치모두를 가리킨다. 치료를 필요로 하는 인간에는 이미 질병에 걸린 인간 뿐만 아니라 질병을 예방해야하는 인간도 포함된다. 종양(예를 들어, 암) 치료에서, 치료제는 종양 세포의 병리를 직접 감소시킬 수 있거나, 종양 세포를 다른 치료제, 예를 들어, 방사선 및(또는) 화학요법제에 의한 처리에 보다 감응성이 되도록 만들 수 있다.

암의 '병리'에는 환자의 건강에 손상을 주는 모든 현상이 포함된다. 이러한 것으로는 비정상 또는 조절될 수 없는 세포 생장, 전이, 인접 세포의 정상적인 기 능 방해, 싸이토카인 또는 다른 분비물의 비정상적 수준에서의 분비, 염증 또는 면역 반응의 억제 또는 악화 등이 포함되지만, 이에 제한되지는 않는다.

치료 목적의 '포유동물'은 인간, 가축 및 사육 동물, 및 동물원용, 경기용 또는 애완 동물, 예를 들어, 개, 말, 고양이, 소, 돼지, 양 염소 등을 비롯하여 포유동물로 분류되는 모든 동물을 말한다. 바람직한 포유동물은 인간이다.

본원에서 사용된 '담체'는 사용되는 투여량 및 농도에서 노출되는 세포 또는 포유동물에 무독성인 제약상 허용되는 담체, 부형제, 또는 안정화제가 포함된다. 생리학상 허용되는 담체는 종종 pH 완충 수용액이다. 생리학상 허용되는 담체의 예로는 포스페이트, 시트레이트 및 다른 유기산과 같은 완충액; 아스코르브산을 비롯한 산화방지제; 저분자량 (약 10 잔기 미만) 폴리펩티드; 단백질, 예를 들어 혈청 알부민, 젤라틴 또는 면역글로불린; 친수성 중합체, 예를 들어 폴리비닐피롤리돈; 아미노산, 예를 들어 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 아르기닌 또는 리신; 글루코스, 만노스 또는 덱스트린을 비롯한 단당류, 이당류 및 기타 탄수화물; 킬레이트화제, 예를 들어 EDTA; 당 알콜, 예를 들어 만니톨 또는 소르비톨; 염 형성 카운터 이온, 예를 들어 나트륨; 및(또는) 비이온계 계면활성제, 예를 들어 트윈(TWEEN, 상표명), 폴리에틸렌 글리콜 (PEG) 및 플루로닉스(PLURONICS, 상표명)가 포함된다.

하나 이상의 다른 치료제와 '병용하여' 투여한다는 것은 동시에 (동시다발적으로) 투여하거나 어떤 순서로든 연속하여 투여하는 것이 포함된다.

본원에 사용된 '세포독성제'는 세포의 기능을 저해하거나 억제하고(하거나) 세포를 파괴시키는 물질을 말한다. 이 용어는 방사성 동위원소 (예를 들어 I^{131}, I^{125}, Y^{90} 및 Re^{186}), 화학요법제 및 독소(예를 들어 세균, 진균, 식물 또는 동물 기원의 효소 활성을 갖는 독소 또는 그의 단편)를 포함한다.

'화학요법제'는 암 치료에 유용한 화합물이다. 그의 예에는 아드리아마이신, 독소루비신, 에피루비신, 5-플루오로우라실, 시토신 아라비노시드 ('Ara-C'), 시클로포스파미드, 티오테파, 부술판, 시톡신, 탁소이드, 예를 들어 파클리탁셀 (상표명 탁솔(Taxol), 미국 뉴저지주 프린스톤 소재 브리스톨마이어스 스퀴브 온콜로지사 제품) 및 독세탁셀 (상표명 탁소테레(Taxotere), 프랑스 안토니 소재 롱플랑 로레아사 제품), 톡소테레, 메토트렉세이트, 시스플라틴, 멜팔란, 빈블라스틴, 블레오마이신, 에토포시드, 이포스파미드, 미토마이신 C, 미톡산트론, 빈크리스틴, 비노렐빈, 카르보플라틴, 테니포시드, 다우노마이신, 카르미노마이신, 아미노프테린, 닥티노마이신, 미토마이신, 에스페라미신 (미국 특허 제4,675,187호 참조), 5-FU, 6-티오구아닌, 악티노마이신 D, VP-16, 클로람부실, 멜팔란 및 관련된 기타 질소 머스타드가 포함된다. 또한, 타목시펜 및 오나프리스톤과 같이 종양에 대한 호르몬 작용을 조절하거나 억제하는 호르몬 제제도 상기 화학요법제의 정의에 포함된다.

본원에 사용된 '생장 억제제'는 특히 본원에서 확인된 어떠한 유전자이든지 그를 과다발현하는 암세포의 시험관내 또는 생체내 생장을 억제하는 화합물 또는 조성물을 말한다. 따라서, 생장 억제제는 S기에 그러한 유전자를 과다발현하는 세 포의 비율을 크게 감소시키는 물질이다. 생장 억제제의 예에는 세포 주기 진행을 (S기 이외의 시기에서) 차단하는 물질, 예를 들어 G1기 정지 및 M기 정지를 유도하는 물질이 포함된다. 전형적인 M기 차단제로는 빈카스 (빈크리스틴 및 빈블라스틴), 탁솔, 및 토포 II 억제제, 예를 들어 독소루비신, 에피루비신, 다우노루비신, 에토포시드 및 블레오마이신이 포함된다. 또한, G1기 정지 물질, 예를 들어 타목시펜, 프레드니손, 다카르바진, 메클로레타민, 시스플라틴, 메토트렉세이트, 5-플루오로우라실 및 ara-C와 같은 DNA 알킬화제는 S기 정지에도 작용한다. 추가 정보는 문헌 (Murakami et al., The Molecular Basis of Cancer, Mendelsohn and Israel, eds., 'Cell cycle regulation, oncogens, and antineoplastic drugs' (WB Saunders: Philadelphia, 1995), Chapter 1, 특히 13페이지)에 기재되어 있다.

'독소루비신'은 안트라시클린 항생제이다. 독소루비신의 완전한 화학명은 (8S-시스)-10-[(3-아미노-2,3,6-트리데옥시-α-L-릭소-헥사피라노실)옥시]-7,8,9,10-테트라히드로-6,8,11-트리히드록시-8-(히드록시아세틸)-1-메톡시-5,12-나프타센디온이다.

'싸이토카인'이란 하나의 세포 군집에 의해 방출되는, 세포간 매개체로서 다른 세포에 대해 작용하는 단백질의 포괄적

인 용어이다. 이러한 싸이토카인의 예로는 림포카인, 모노카인 및 전형적인 폴리펩티드 호르몬이 있다. 싸이토카인에는 생장 호르몬, 예를 들어, 인간 생장 호르몬, N-메티오닐 인간 생장 호르몬 및 소 생장 호르몬; 부갑상선 호르몬; 티록신; 인슐린; 프로인슐린; 릴랙신; 프로릴랙신; 여포 자극 호르몬(FSH), 갑상선 자극 호르몬(TSH) 및 황체 호르몬(LH) 등의 당단백 질 호르몬; 간 생장 인자; 섬유아세포 생장 인자; 프로락틴; 태반 락토젠; 종양 괴사 인자-α및 -β; 뮬러리안 억제 물질; 생쥐 고나도트로핀 관련 펩티드; 인히빈; 액티빈; 혈관 내피 생장 인자; 인테그린; 트롬보포이에틴(TPO); 신경 생장 인자, 예를 들어, NGF-β; 혈소판 생장 인자; 형질전환 생장 인자(TGF), 예를 들어, TGF-α및 -β; 인슐린 유사 생장 인자-Ⅰ 및 -Ⅱ; 에리트로포이에틴(EPO); 골유도 인자(osteoinductive factor); 인터페론, 예를 들어, 인터페론-α, -β및 -γ;콜로니 자극 인자(CSF), 예를 들어, 대식세포-CSF(M-CSF); 과립세포-대식세포-CSF(GM-CSF); 및 과립세포-CSF(G-CSF); 인터루킨(IL), 예를 들어, IL-1, IL-1a, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-11, IL-12; 종양 괴사 인자, 예를 들어, TNF-α또는 TNF-β; 및 LIF 및 키트 리간드(KL)를 비롯한 다른 폴리펩티드 인자가 포함된다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 싸이토카인이란 용어에는 천연 공급원 또는 재조합 세포 배양물로부터의 단백질 및 천연 서열 싸이토카인의 생물학적 활성 등가물이 포함된다.

본원에서 사용된 '전구약물'이란 모약물에 비해 종양 세포에 대한 세포독성이 덜하며 효소적으로 활성이거나 보다 활성인 모형태로 전환될 수 있는 제약상 활성 물질의 전구체 또는 유도체 형태를 말한다(문헌[Wilman, 'Prodrugs in Cancer Chemotherapy', Biochemical Society Transactions, 14:375-382, 615th Meeting, Belfast (1986)] 및 [Stella et al., 'Prodrugs: A Chemical Approach to Targeted Drug Delivery', Directed Drug Delivery, Borchardt et al., (ed.), pp. 147-276, Humana Press (1985)] 참조). 본 발명의 전구약물로는 보다 활성인 무세포독성 약 물로 전환될 수 있는 포스페이트 함유 전구약물, 티오포스페이트 함유 전구약물, 술페이트 함유 전구약물, 펩티드 함유 전구약물, D-아미노산 개질 전구약물, 글리코실화된 전구약물, β-락탐 함유 전구약물, 임의로 치환된 페녹시아세트아미드 함유 전구약물 또는 임의로 치환된 페닐아세트아미드 함유 전구약물, 5-플루오로시토신 및 기타 5-플루오로우리딘 전구약물이 포함되지만, 이에 제한되지는 않는다. 본 발명에 사용하기 위한 전구약물로 유도체화될 수 있는 세포독성 약물로는 상기 기재된 화학요법제가 포함되지만, 이에 제한되지는 않는다.

신생물 세포 생장, 종양 생장 또는 암 세포 생장과 관련하여 본원에 개시된 폴리펩티드 또는 그의 길항제의 '유효량'은 표적 세포의 생장을 어느 정도까지는 억제할 수 있는 양을 의미한다. 이 용어에는 표적 세포의 생장 억제, 세포 증식 억제성 및(또는) 세포 독성 효과 및(또는) 아팝토시스가 포함된다. 신생물 세포 생장, 종양 생장 또는 암 세포 생장을 억제하기 위한 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드 길항제의 '유효량'은 경험적으로 및 통상의 방식으로 결정할 수 있다.

종양의 치료와 관련하여 '치료 유효량'이란 (1) 종양 생장의 지연 및 완전한 생장 정지를 비롯한 종양 생장의 어느 정도까지의 억제, (2) 종양 세포 수의 감소; (3) 종양 크기의 감소; (4) 주위 기관으로의 종양 세포 침윤의 억제(즉, 감소, 지연 또는 완전한 정지); (5) 전이의 억제(즉, 감소, 지연 또는 완전한 정지); (6) 종양의 퇴행 또는 거부를 일으킬 수 있는(반드시 일으켜야 하는 것은 아님) 항종양 면역 반응의 증진; 및(또는) (7) 질환과 관련된 하나 이상의 증상의 어느 정도까지의 경감 중 하나 이상의 효과를 나타낼 수 있는 양을 가리킨다. 종양 치료를 위한 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드 길항제의 '치료 유효량'은 경험적으로 및 통상의 방식으로 결정할 수 있다.

PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 길항제의 '생장 억제량'은 세포, 특히 종양 세포(예를 들어, 암세포)의 생장을 시험관내 또는 생체내에서 억제할 수 있는 양이다. 신생물 세포 생장을 억제하기 위한 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 길항제의 '생장 억제량'은 경험적으로 및 통상의 방식으로 결정할 수 있다.

PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 길항제의 '세포독성량'은 세포, 특히 종양(예를 들어, 암세포)의 파괴를 시험관내 또는 생체내에서 일으킬 수 있는 양이다. 신생물 세포 생장을 억제하기 위한 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 길항제의 '세포독성량'은 경험적으로 및 통상의 방식으로 결정할 수 있다.

본원에 사용된 'PRO381', 'PRO1269', 'PRO1410', 'PRO1755', 'PRO1780', 'PRO1788', 'PRO3434', 'PRO1927', 'PRO3567', 'PRO1295', 'PRO1293', 'PRO1303', 'PRO4344', 'PRO4354', 'PRO4397', 'PRO4407', 'PRO1555', 'PRO1096', 'PRO2038' 또는 'PRO2262' 폴리펩티드 또는 단백질이란 용어는 천연 서열 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드, 및 PRO381, PRO1269,

PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드 변이체(본원에 추가로 정의된 바와 같음)를 포함한다. PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드는 인간 조직 유형 등의 각종 공급원 또는 또다른 공급원으로부터 단리할 수 있거나, 또는 재조합 및(또는) 합성 방법으로 제조할 수 있다.

'천연 서열 PRO381', '천연 서열 PRO1269', '천연 서열 PRO1410', '천연 서열 PRO1755', '천연 서열 PRO1780', '천연 서열 PRO1788', '천연 서열 PRO3434', ' 천연 서열 PRO1927', '천연 서열 PRO3567', '천연 서열 PRO1295', '천연 서열 PRO1293', '천연 서열 PRO1303', '천연 서열 PRO4344', '천연 서열 PRO4354', '천연 서열 PRO4397', '천연 서열 PRO4407', '천연 서열 PRO1555', '천연 서열 PRO1096', '천연 서열 PRO2038' 또는 '천연 서열 PRO2262'는 자연으로부터 유래된 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드와 동일한 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 포함한다. 그러한 천연 서열 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드는 자연으로부터 단리할 수 있거나, 재조합 및(또는) 합성 수단에 의해 제조할 수 있다. '천연 서열' PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드란 용어는 구체적으로 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 자연 발생 말단 절단형 또는 분비형(예를 들어, 세포외 도메인 서열), 자연 발생 변이체형(예를 들어, 스플라이싱된 형태) 및 자연 발생 대립유전자적 변이체를 포함한다. 본 발명의 한 실시양태에서, 천연 서열 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드는 각각 도 2 (서열 2), 도 4 (서열 7), 도 6 (서열 9), 도 8 (서열 11), 도 10 (서열 13), 도 12 (서열 18), 도 14 (서열 23), 도 16 (서열 25), 도 18 (서열 27), 도 20 (서열 29), 도 22 (서열 31), 도 24 (서열 33), 도 26 (서열 35), 도 28 (서열 40), 도 30 (서열 42), 도 32 (서열 47), 도 34 (서열 49), 도 36 (서열 51), 도 38 (서열 53) 또는 도 40 (서열 55)에 기재된 아미노산 서열 각각을 포함하는 성숙 또는 전장 천연 서열 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드이다. 또한, 각각 도 2 (서열 2), 도 4 (서열 7), 도 6 (서열 9), 도 8 (서열 11), 도 10 (서열 13), 도 12 (서열 18), 도 14 (서열 23), 도 16 (서열 25), 도 18 (서열 27), 도 20 (서열 29), 도 22 (서열 31), 도 24 (서열 33), 도 26 (서열 35), 도 28 (서열 40), 도 30 (서열 42), 도 32 (서열 47), 도 34 (서열 49), 도 36 (서열 51), 도 38 (서열 53) 또는 도 40 (서열 55)에 기재된 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 및 PRO2262 폴리펩티드는 아미노산 위치 1로서 지칭되는 메티오닌 잔기에서 시작하는 한편, 각각 도 2 (서열 2), 도 4 (서열 7), 도 6 (서열 9), 도 8 (서열 11), 도 10 (서열 13), 도 12 (서열 18), 도 14 (서열 23), 도 16 (서 열 25), 도 18 (서열 27), 도 20 (서열 29), 도 22 (서열 31), 도 24 (서열 33), 도 26 (서열 35), 도 28 (서열 40), 도 30 (서열 42), 도 32 (서열 47), 도 34 (서열 49), 도 36 (서열 51), 도 38 (서열 53) 또는 도 40 (서열 55)에서 아미노산 위치 1로부터 상류 또는 하류에 위치하는 다른 메티오닌 잔기가 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드에 대한 개시 아미노산 잔기로서 사용될 수 있다.

본원에 개시된 폴리펩티드의 '세포외 도메인' 또는 'ECD'란 본질적으로 막횡단 및 세포질 도메인이 없는 형태의 폴리펩티드를 의미한다. 일반적으로 폴리펩티드 ECD는 막횡단 및(또는) 세포질 도메인을 1 % 미만으로 포함할 것이며, 바람직하게는 상기 도메인들을 0.5 % 미만으로 포함할 것이다. 본 발명의 폴리펩티드에서 확인된 모든 막횡단 도메인은 당업계에서 소수성 도메인 유형을 밝히는데 통상적으로 사용되는 기준에 따라 확인된 것임을 이해해야 할 것이다. 막횡단 도메인의 정확한 경계선은 달라질 수 있지만, 대부분은 본원에서 처음 확인되고 첨부된 도면에 나타낸 바와 같이 막횡단 도메인의 어느쪽 말단이든지 약 5 개 아미노산 범위 내에 존재한다. 따라서, 본 발명의 한 실시양태에서, 본 발명 폴리펩티드의 세포외 도메인은 성숙 아미노산 서열의 아미노산 1 내지 X(X는 세포외 도메인과 막횡단 도메인의 경계에서 어느 쪽으로든 약 5 개 아미노산 이내의 임의의 아미노산임)를 포함한다.

본원에 기재된 다양한 PRO 폴리펩티드의 '신호 펩티드'의 대략적인 위치는 첨부된 도면에 나타나 있다. 그러나 염두에 두어야 할 것은, 신호 펩티드의 C-말단 경계가 달라질 수 있지만, 대부분은 본원에서 처음 확인된 신호 펩티드 C-말단의 어느쪽 경계면이든지 아미노산은 약 5 개 이하라는 점이며, 여기서 신호 펩티드의 C-말단 경계는 당업계에서 아미노산 서열 요소의 유형을 확인하는데 통상적으로 이용되는 기준에 따라 확인될 수 있다 (예를 들어, Nielsen et al., Prot. Eng. 10: 1-6 (1997) 및 von Heinje et al., Nucl. Acids. Res. 14: 4683-4690 (1986)). 게다가, 일부 경우에는 분비 폴리펩티드의 신호 서열의 절단이 전체적으로 동일하지 않아 1종 이상의 분비된 폴리펩티드를 생성시킨다

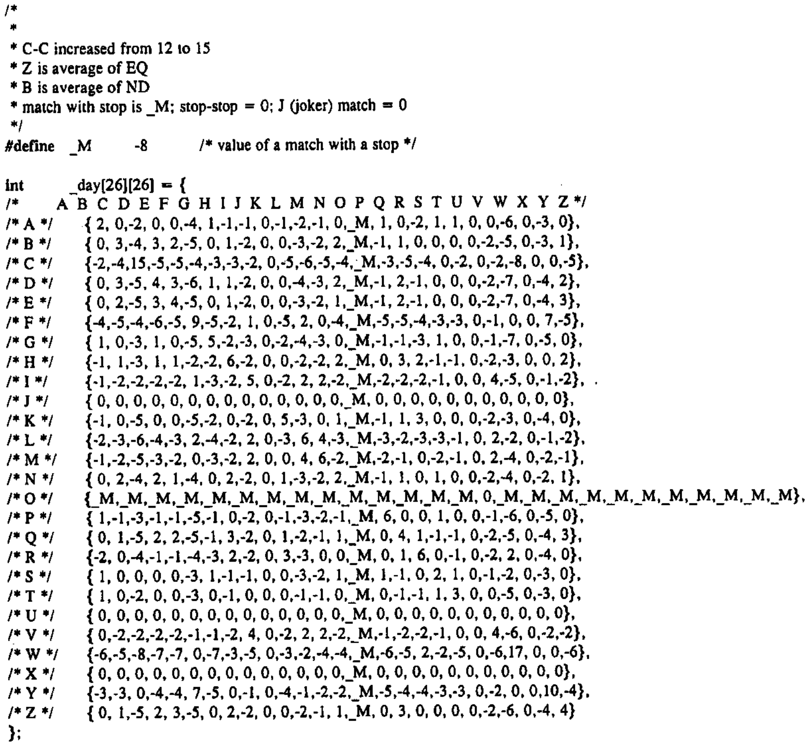
는 것을 알아야 한다. 본원에서 확인된 신호 펩티드의 C-말단의 어느쪽 경계면이든지에 있는 약 5 개 이하의 아미노산 범위 내에서 신호 펩티드가 절단된 이들 성숙 폴리펩티드, 및 이들을 코딩하는 폴리뉴클레오티드는 본 발명에 포함된다.

'PRO381 폴리펩티드 변이체', 'PRO1269 폴리펩티드 변이체', 'PRO1410 폴리펩티드 변이체', 'PRO1755 폴리펩티드 변이체', 'PRO1780 폴리펩티드 변이체', 'PRO1788 폴리펩티드 변이체', 'PRO3434 폴리펩티드 변이체', 'PRO1927 폴리펩티드 변이체', 'PRO3567 폴리펩티드 변이체', 'PRO1295 폴리펩티드 변이체', 'PRO1293 폴리펩티드 변이체', 'PRO1303 폴리펩티드 변이체', 'PRO4344 폴리펩티드 변이체', 'PRO4354 폴리펩티드 변이체', 'PRO4397 폴리펩티드 변이체', 'PRO4407 폴리펩티드 변이체', 'PRO1555 폴리펩티드 변이체', 'PRO1096 폴리펩티드 변이체', 'PRO2038 폴리펩티드 변이체' 또는 'PRO2262 폴리펩티드 변이체'는 본원에 개시된 바와 같은 전장의 천연 서열 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드 서열, 본원에 개시된 바와 같은 신호 펩티드를 포함하지 않는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드 서열, 본원에 개시된 바와 같은 신호 펩티드를 포함하거나 포함하지 않는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 세포외 도메인, 또는 본원에 개시된 바와 같은 전장 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드 서열의 임의의 기타 단편과 약 80% 이상의 아미노산 서열 동일성을 갖는, 상기 또는 하기에 정의된 바와 같은 활성 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드를 의미한다. 그러한 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드 변이체에는, 예를 들면 전장의 천연 아미노산 서열의 N- 또는 C-말단에서 1개 이상의 아미 노산 잔기가 부가되거나 결실된 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드가 포함된다. 통상, PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드 변이체는 본원에 개시된 바와 같은 전장의 천연 서열 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드 서열, 본원에 개시된 바와 같은 신호 펩티드를 포함하지 않는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드 서열, 본원에 개시된 바와 같은 신호 펩티드를 포함하거나 포함하지 않는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 세포외 도메인, 또는 본원에 개시된 바와 같은 전장 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 임의의 단편과 약 80% 이상의 아미노산 서열 동일성, 바람 직하게는 약 81% 이상의 아미노산 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 82% 이상의 아미노산 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 83% 이상의 아미노산 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 84% 이상의 아미노산 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 85% 이상의 아미노산 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 86% 이상의 아미노산 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 87% 이상의 아미노산 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 88% 이상의 아미노산 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 89% 이상의 아미노산 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 90% 이상의 아미노산 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 91% 이상의 아미노산 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 92% 이상의 아미노산 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 93% 이상의 아미노산 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 94% 이상의 아미노산 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 95% 이상의 아미노산 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 96% 이상의 아미노산 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 97% 이상의 아미노산 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 98% 이상의 아미노산 서열 동일성 및 가장 바람직하게는 약 99% 이상의 아미노산 서열 동일성을 가질 것이다. 통상, PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 변이체 폴리펩티드는 약 10개 이상의 아미노산 길이, 통상적으로 약 20개 이상의 아미노산 길이, 보다 통상적으로 약 30개 이상의 아미노산 길이, 보다 통상적으로 약 40개 이상의 아미노산 길이, 보다 통상적으로 약 50개 이상의 아미노산 길이, 보다 통상적으로 약 60개 이상의 아미노산 길이, 보다 통상적으로 약 70개 이상의 아미노산 길이, 보다 통상적으로 약 80개 이상의 아미노산 길이, 보다 통상적으로 약 90개 이상의 아미노산 길이, 보다 통상적으로 약 100개 이상의 아미노산 길이, 보다 통상적으로 약 150개 이상의 아미노산 길이, 보다 통상적으로 약 200개 이상의 아미노산 길이, 보다 통상적으로 약 300개 이상의 아미노산 길이, 또는 이를 초과하는 아미노산 길이로 이루어진다.

하기에 나타낸 바와 같이, 표 1은 ALIGN-2 서열 비교 컴퓨터 프로그램을 위한 완전한 소스 코드를 제공한다. 통상 UNIX 운용 체계에서 사용하기 위해 이 소스 코드를 컴파일링하여 ALIGN-2 서열 비교 컴퓨터 프로그램을 제공할 수 있다.

또한, 표 2a 내지 2d는 ALIGN-2 서열 비교 컴퓨터 프로그램을 이용하여 아미노산 서열 동일성 %(표 2a-2b) 및 핵산 서열 동일성 %(표 2c-2d)을 측정하기 위해 하기 기재된 방법을 이론상으로 예시한 것이다. 이 때, 'PRO'는 이론상의 해당 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 아미노산 서열을 나타내고, '비교 단백질'은 해당 'PRO' 폴리펩티드가 비교되는 폴리펩티드의 아미노산 서열을 나타내며, 'PRO-DNA'는 이론상의 해당 PRO381-, PRO1269-, PRO1410-, PRO1755-, PRO1780-, PRO1788-, PRO3434-, PRO1927-, PRO3567-, PRO1295-, PRO1293-, PRO1303-, PRO4344-, PRO4354-, PRO4397-, PRO4407-, PRO1555-, PRO1096-, PRO2038- 또는 PRO2262-코딩 핵산 서열을 나타내고, '비교 DNA'는 해당 'PRO-DNA' 핵산 분자가 비교되는 핵산 분자의 뉴클레오티드 서열을 나타내며, 'X', 'Y' 및 'Z'는 각각 상이한 이론상의 아미노산 잔기를 나타내고, 'N', 'L' 및 'V'는 각각 상이한 이론상의 뉴클레오티드를 나타낸다.

[표 1a]



```
/*
 *
 * C-C increased from 12 to 15
 * Z is average of EQ
 * B is average of ND
 * match with stop is _M; stop-stop = 0; J (joker) match = 0
 */
#define  _M      -8        /* value of a match with a stop */

int       _day[26][26] = {
/*      A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Y Z */
/* A */    { 2, 0,-2, 0, 0,-4, 1,-1,-1, 0,-1,-2,-1, 0,_M, 1, 0,-2, 1, 1, 0, 0,-6, 0,-3, 0},
/* B */    { 0, 3,-4, 3, 2,-5, 0, 1,-2, 0, 0,-3,-2, 2,_M,-1, 1, 0, 0, 0, 0,-2,-5, 0,-3, 1},
/* C */    {-2,-4,15,-5,-5,-4,-3,-3,-2, 0,-5,-6,-5,-4,_M,-3,-5,-4, 0,-2, 0,-2,-8, 0, 0,-5},
/* D */    { 0, 3,-5, 4, 3,-6, 1, 1,-2, 0, 0,-4,-3, 2,_M,-1, 2,-1, 0, 0, 0,-2,-7, 0,-4, 2},
/* E */    { 0, 2,-5, 3, 4,-5, 0, 1,-2, 0, 0,-3,-2, 1,_M,-1, 2,-1, 0, 0, 0,-2,-7, 0,-4, 3},
/* F */    {-4,-5,-4,-6,-5, 9,-5,-2, 1, 0,-5, 2, 0,-4,_M,-5,-5,-4,-3,-3, 0,-1, 0, 0, 7,-5},
/* G */    { 1, 0,-3, 1, 0,-5, 5,-2,-3, 0,-2,-4,-3, 0,_M,-1,-1,-3, 1, 0, 0,-1,-7, 0,-5, 0},
/* H */    {-1, 1,-3, 1, 1,-2,-2, 6,-2, 0, 0,-2,-2, 2,_M, 0, 3, 2,-1,-1, 0,-2,-3, 0, 0, 2},
/* I */    {-1,-2,-2,-2,-2, 1,-3,-2, 5, 0,-2, 2, 2,-2,_M,-2,-2,-2,-1, 0, 0, 4,-5, 0,-1,-2},
/* J */    { 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0,_M, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0},
/* K */    {-1, 0,-5, 0, 0,-5,-2, 0,-2, 0, 5,-3, 0, 1,_M,-1, 1, 3, 0, 0, 0,-2,-3, 0,-4, 0},
/* L */    {-2,-3,-6,-4,-3, 2,-4,-2, 2, 0,-3, 6, 4,-3,_M,-3,-2,-3,-3,-1, 0, 2,-2, 0,-1,-2},
/* M */    {-1,-2,-5,-3,-2, 0,-3,-2, 2, 0, 0, 4, 6,-2,_M,-2,-1, 0,-2,-1, 0, 2,-4, 0,-2,-1},
/* N */    { 0, 2,-4, 2, 1,-4, 0, 2,-2, 0, 1,-3,-2, 2,_M,-1, 1, 0, 1, 0, 0,-2,-4, 0,-2, 1},
/* O */    {_M,_M,_M,_M,_M,_M,_M,_M,_M,_M,_M,_M,_M,_M, 0,_M,_M,_M,_M,_M,_M,_M,_M,_M,_M,_M},
/* P */    { 1,-1,-3,-1,-1,-5,-1, 0,-2, 0,-1,-3,-2,-1,_M, 6, 0, 0, 1, 0, 0,-1,-6, 0,-5, 0},
/* Q */    { 0, 1,-5, 2, 2,-5,-1, 3,-2, 0, 1,-2,-1, 1,_M, 0, 4, 1,-1,-1, 0,-2,-5, 0,-4, 3},
/* R */    {-2, 0,-4,-1,-1,-4,-3, 2,-2, 0, 3,-3, 0, 0,_M, 0, 1, 6, 0,-1, 0,-2, 2, 0,-4, 0},
/* S */    { 1, 0, 0, 0, 0,-3, 1,-1,-1, 0, 0,-3,-2, 1,_M, 1,-1, 0, 2, 1, 0,-1,-2, 0,-3, 0},
/* T */    { 1, 0,-2, 0, 0,-3, 0,-1, 0, 0, 0,-1,-1, 0,_M, 0,-1,-1, 1, 3, 0, 0,-5, 0,-3, 0},
/* U */    { 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0,_M, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0},
/* V */    { 0,-2,-2,-2,-2,-1,-1,-2, 4, 0,-2, 2, 2,-2,_M,-1,-2,-2,-1, 0, 0, 4,-6, 0,-2,-2},
/* W */    {-6,-5,-8,-7,-7, 0,-7,-3,-5, 0,-3,-2,-4,-4,_M,-6,-5, 2,-2,-5, 0,-6,17, 0, 0,-6},
/* X */    { 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0,_M, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0},
/* Y */    {-3,-3, 0,-4,-4, 7,-5, 0,-1, 0,-4,-1,-2,-2,_M,-5,-4,-4,-3,-3, 0,-2, 0, 0,10,-4},
/* Z */    { 0, 1,-5, 2, 3,-5, 0, 2,-2, 0, 0,-2,-1, 1,_M, 0, 3, 0, 0, 0, 0,-2,-6, 0,-4, 4}
};
```

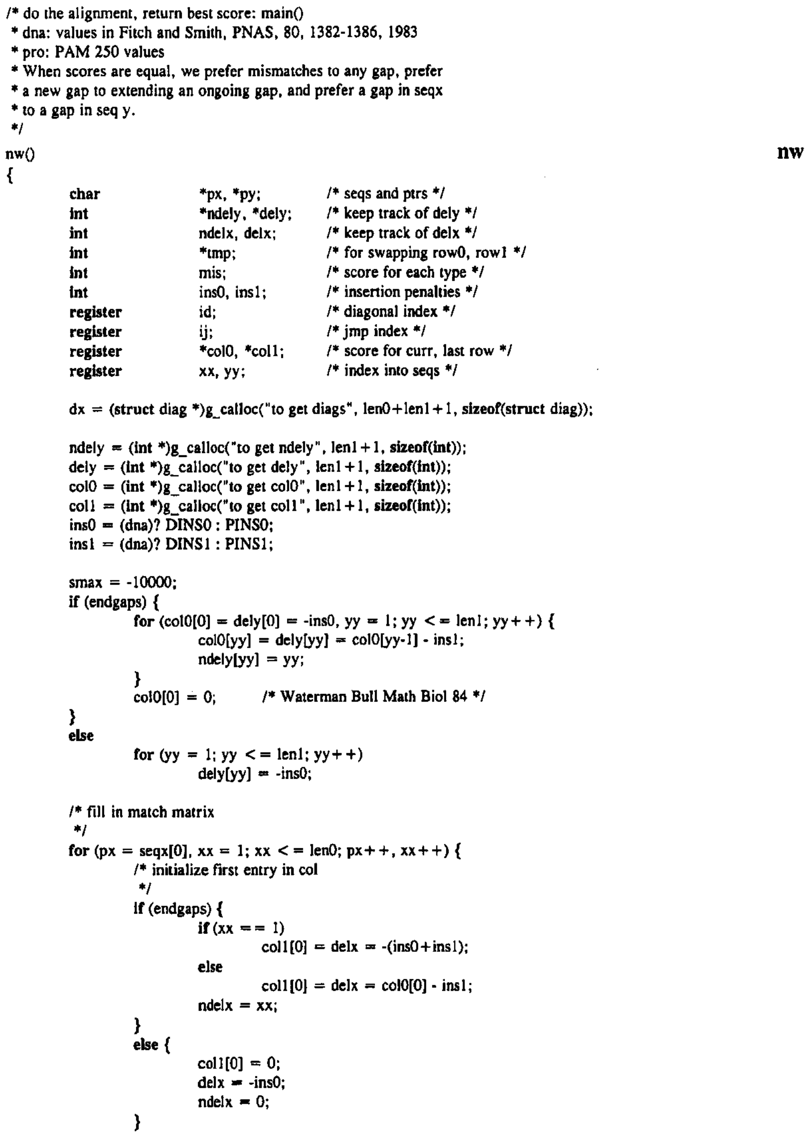
[표 1b]

```
/*
 */
#include <stdio.h>
#include <ctype.h>

#define  MAXJMP     16     /* max jumps in a diag */
#define  MAXGAP     24     /* don't continue to penalize gaps larger than this */
#define  JMPS       1024   /* max jmps in an path */
#define  MX         4      /* save if there's at least MX-1 bases since last jmp */

#define  DMAT       3      /* value of matching bases */
#define  DMIS       0      /* penalty for mismatched bases */
#define  DINS0      8      /* penalty for a gap */
#define  DINS1      1      /* penalty per base */
#define  PINS0      8      /* penalty for a gap */
#define  PINS1      4      /* penalty per residue */

struct jmp {
         short             n[MAXJMP];       /* size of jmp (neg for dely) */
         unsigned short    x[MAXJMP];       /* base no. of jmp in seq x */
};                                          /* limits seq to 2^16 -1 */

struct diag {
         int               score;           /* score at last jmp */
         long              offset;          /* offset of prev block */
         short             ijmp;            /* current jmp index */
         struct jmp        jp;              /* list of jmps */
};

struct path {
         int       spc;                /* number of leading spaces */
         short     n[JMPS]; /* size of jmp (gap) */
         int       x[JMPS]; /* loc of jmp (last elem before gap) */
};

char               *ofile;                  /* output file name */
char               *namex[2];               /* seq names: getseqs() */
char               *prog;                   /* prog name for err msgs */
char               *seqx[2];                /* seqs: getseqs() */
int                dmax;                    /* best diag: nw() */
int                dmax0;                   /* final diag */
int                dna;                     /* set if dna: main() */
int                endgaps;                 /* set if penalizing end gaps */
int                gapx, gapy;              /* total gaps in seqs */
int                len0, len1;              /* seq lens */
int                ngapx, ngapy;            /* total size of gaps */
int                smax;                    /* max score: nw() */
int                *xbm;                    /* bitmap for matching */
long               offset;                  /* current offset in jmp file */
struct   diag      *dx;                     /* holds diagonals */
struct   path      pp[2];                   /* holds path for seqs */

char               *calloc(), *malloc(), *index(), *strcpy();
char               *getseq(), *g_calloc();
```

[표 1c]

```
/* Needleman-Wunsch alignment program
 *
 * usage: progs file1 file2
 *   where file1 and file2 are two dna or two protein sequences.
 *   The sequences can be in upper- or lower-case an may contain ambiguity
 *   Any lines beginning with ';', '>' or '<' are ignored
 *   Max file length is 65535 (limited by unsigned short x in the jmp struct)
 *   A sequence with 1/3 or more of its elements ACGTU is assumed to be DNA
 *   Output is in the file "align.out"
 *
 * The program may create a tmp file in /tmp to hold info about traceback.
 * Original version developed under BSD 4.3 on a vax 8650
 */
#include "nw.h"
#include "day.h"

static    _dbval[26] = {
          1,14,2,13,0,0,4,11,0,0,12,0,3,15,0,0,0,5,6,8,8,7,9,0,10,0
};

static    _pbval[26] = {
          1, 2|(1<<('D'-'A'))|(1<<('N'-'A')), 4, 8, 16, 32, 64,
          128, 256, 0xFFFFFFF, 1<<10, 1<<11, 1<<12, 1<<13, 1<<14,
          1<<15, 1<<16, 1<<17, 1<<18, 1<<19, 1<<20, 1<<21, 1<<22,
          1<<23, 1<<24, 1<<25|(1<<('E'-'A'))|(1<<('Q'-'A'))
};

main(ac, av)                                                              main
          int       ac;
          char      *av[];
{
          prog = av[0];
          if (ac != 3) {
                    fprintf(stderr,"usage: %s file1 file2\n", prog);
                    fprintf(stderr,"where file1 and file2 are two dna or two protein sequences.\n");
                    fprintf(stderr,"The sequences can be in upper- or lower-case\n");
                    fprintf(stderr,"Any lines beginning with ';' or '<' are ignored\n");
                    fprintf(stderr,"Output is in the file \"align.out\"\n");
                    exit(1);
          }
          namex[0] = av[1];
          namex[1] = av[2];
          seqx[0] = getseq(namex[0], &len0);
          seqx[1] = getseq(namex[1], &len1);
          xbm = (dna)? _dbval : _pbval;

          endgaps = 0;                          /* 1 to penalize endgaps */
          ofile = "align.out";                  /* output file */

          nw();               /* fill in the matrix, get the possible jmps */
          readjmps();         /* get the actual jmps */
          print();            /* print stats, alignment */

          cleanup(0);         /* unlink any tmp files */
}
```

[표 1d]



```
/* do the alignment, return best score: main()
 * dna: values in Fitch and Smith, PNAS, 80, 1382-1386, 1983
 * pro: PAM 250 values
 * When scores are equal, we prefer mismatches to any gap, prefer
 * a new gap to extending an ongoing gap, and prefer a gap in seqx
 * to a gap in seq y.
 */
nw()                                                                                              nw
{
        char            *px, *py;          /* seqs and ptrs */
        int             *ndely, *dely;     /* keep track of dely */
        int             ndelx, delx;       /* keep track of delx */
        int             *tmp;              /* for swapping row0, row1 */
        int             mis;               /* score for each type */
        int             ins0, ins1;        /* insertion penalties */
        register        id;                /* diagonal index */
        register        ij;                /* jmp index */
        register        *col0, *col1;      /* score for curr, last row */
        register        xx, yy;            /* index into seqs */

        dx = (struct diag *)g_calloc("to get diags", len0+len1+1, sizeof(struct diag));

        ndely = (int *)g_calloc("to get ndely", len1+1, sizeof(int));
        dely = (int *)g_calloc("to get dely", len1+1, sizeof(int));
        col0 = (int *)g_calloc("to get col0", len1+1, sizeof(int));
        col1 = (int *)g_calloc("to get col1", len1+1, sizeof(int));
        ins0 = (dna)? DINS0 : PINS0;
        ins1 = (dna)? DINS1 : PINS1;

        smax = -10000;
        if (endgaps) {
                for (col0[0] = dely[0] = -ins0, yy = 1; yy <= len1; yy++) {
                        col0[yy] = dely[yy] = col0[yy-1] - ins1;
                        ndely[yy] = yy;
                }
                col0[0] = 0;        /* Waterman Bull Math Biol 84 */
        }
        else
                for (yy = 1; yy <= len1; yy++)
                        dely[yy] = -ins0;

        /* fill in match matrix
         */
        for (px = seqx[0], xx = 1; xx <= len0; px++, xx++) {
                /* initialize first entry in col
                 */
                if (endgaps) {
                        if (xx == 1)
                                col1[0] = delx = -(ins0+ins1);
                        else
                                col1[0] = delx = col0[0] - ins1;
                        ndelx = xx;
                }
                else {
                        col1[0] = 0;
                        delx = -ins0;
                        ndelx = 0;
                }
```

[표 1e]

```
                                                                        ...nw
for (py = seqx[1], yy = 1; yy <= len1; py++, yy++) {
        mis = col0[yy-1];
        if (dna)
                mis += (xbm[*px-'A']&xbm[*py-'A'])? DMAT : DMIS;
        else
                mis += _day[*px-'A'][*py-'A'];

        /* update penalty for del in x seq;
         * favor new del over ongong del
         * ignore MAXGAP if weighting endgaps
         */
        if (endgaps || ndely[yy] < MAXGAP) {
                if (col0[yy] - ins0 >= dely[yy]) {
                        dely[yy] = col0[yy] - (ins0+ins1);
                        ndely[yy] = 1;
                } else {
                        dely[yy] -= ins1;
                        ndely[yy]++;
                }
        } else {
                if (col0[yy] - (ins0+ins1) >= dely[yy]) {
                        dely[yy] = col0[yy] - (ins0+ins1);
                        ndely[yy] = 1;
                } else
                        ndely[yy]++;
        }

        /* update penalty for del in y seq;
         * favor new del over ongong del
         */
        if (endgaps || ndelx < MAXGAP) {
                if (col1[yy-1] - ins0 >= delx) {
                        delx = col1[yy-1] - (ins0+ins1);
                        ndelx = 1;
                } else {
                        delx -= ins1;
                        ndelx++;
                }
        } else {
                if (col1[yy-1] - (ins0+ins1) >= delx) {
                        delx = col1[yy-1] - (ins0+ins1);
                        ndelx = 1;
                } else
                        ndelx++;
        }

        /* pick the maximum score; we're favoring
         * mis over any del and delx over dely
         */
```

[표 1f]

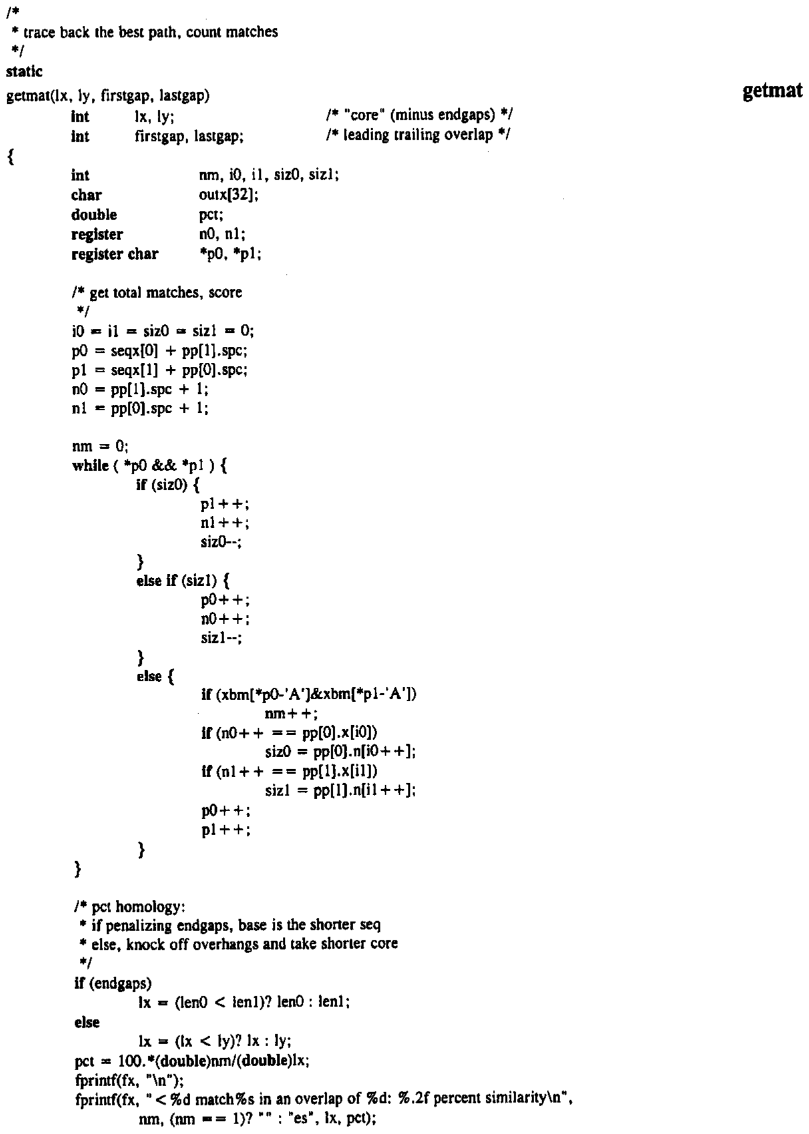
...nw

```
            id = xx - yy + lenl - 1;
            if (mis >= delx && mis >= dely[yy])
                col1[yy] = mis;
            else if (delx >= dely[yy]) {
                col1[yy] = delx;
                ij = dx[id].ijmp;
                if (dx[id].jp.n[0] && (!dna  || (ndelx >= MAXJMP
                && xx > dx[id].jp.x[ij]+MX) || mis > dx[id].score+DINS0)) {
                    dx[id].ijmp++;
                    if (++ij >= MAXJMP) {
                        writejmps(id);
                        ij = dx[id].ijmp = 0;
                        dx[id].offset = offset;
                        offset += sizeof(struct jmp) + sizeof(offset);
                    }
                }
                dx[id].jp.n[ij] = ndelx;
                dx[id].jp.x[ij] = xx;
                dx[id].score = delx;
            }
            else {
                col1[yy] = dely[yy];
                ij = dx[id].ijmp;

    if (dx[id].jp.n[0] && (!dna || (ndely[yy] >= MAXJMP
                && xx > dx[id].jp.x[ij]+MX) || mis > dx[id].score+DINS0)) {
                    dx[id].ijmp++;
                    if (++ij >= MAXJMP) {
                        writejmps(id);
                        ij = dx[id].ijmp = 0;
                        dx[id].offset = offset;
                        offset += sizeof(struct jmp) + sizeof(offset);
                    }
                }
                dx[id].jp.n[ij] = -ndely[yy];
                dx[id].jp.x[ij] = xx;
                dx[id].score = dely[yy];
            }
            if (xx == len0 && yy < len1) {
                /* last col
                 */
                if (endgaps)
                    col1[yy] -= ins0+ins1*(len1-yy);
                if (col1[yy] > smax) {
                    smax = col1[yy];
                    dmax = id;
                }
            }
        }
        if (endgaps && xx < len0)
            coll[yy-1] -= ins0+ins1*(len0-xx);
        if (coll[yy-1] > smax) {
            smax = coll[yy-1];
            dmax = id;
        }
        tmp = col0; col0 = coll; coll = tmp;
    }
    (void) free((char *)ndely);
    (void) free((char *)dely);
    (void) free((char *)col0);
    (void) free((char *)coll);
}
```

[표 1g]

```
/*
 *
 * print() -- only routine visible outside this module
 *
 * static:
 * getmat() -- trace back best path, count matches: print()
 * pr_align() -- print alignment of described in array p[]: print()
 * dumpblock() -- dump a block of lines with numbers, stars: pr_align()
 * nums() -- put out a number line: dumpblock()
 * putline() -- put out a line (name, [num], seq, [num]): dumpblock()
 * stars() - -put a line of stars: dumpblock()
 * stripname() -- strip any path and prefix from a seqname
 */

#include "nw.h"

#define SPC        3
#define P_LINE     256        /* maximum output line */
#define P_SPC      3          /* space between name or num and seq */

extern     _day[26][26];
int        olen;              /* set output line length */
FILE       *fx;               /* output file */

print()                                                                                  print
{
           int        lx, ly, firstgap, lastgap;      /* overlap */

           if ((fx = fopen(ofile, "w")) == 0) {
                      fprintf(stderr,"%s: can't write %s\n", prog, ofile);
                      cleanup(1);
           }
           fprintf(fx, "<first sequence: %s (length = %d)\n", namex[0], len0);
           fprintf(fx, "<second sequence: %s (length = %d)\n", namex[1], len1);
           olen = 60;
           lx = len0;
           ly = len1;
           firstgap = lastgap = 0;
           if (dmax < len1 - 1) {        /* leading gap in x */
                      pp[0].spc = firstgap = len1 - dmax - 1;
                      ly -= pp[0].spc;
           }
           else if (dmax > len1 - 1) {   /* leading gap in y */
                      pp[1].spc = firstgap = dmax - (len1 - 1);
                      lx -= pp[1].spc;
           }
           if (dmax0 < len0 - 1) {       /* trailing gap in x */
                      lastgap = len0 - dmax0 -1;
                      lx -= lastgap;
           }
           else if (dmax0 > len0 - 1) { /* trailing gap in y */
                      lastgap = dmax0 - (len0 - 1);
                      ly -= lastgap;
           }
           getmat(lx, ly, firstgap, lastgap);
           pr_align();
}
```

[표 1h]



```
/*
 * trace back the best path, count matches
 */
static
getmat(lx, ly, firstgap, lastgap)                                               getmat
        int     lx, ly;                 /* "core" (minus endgaps) */
        int     firstgap, lastgap;      /* leading trailing overlap */
{
        int             nm, i0, i1, siz0, siz1;
        char            outx[32];
        double          pct;
        register        n0, n1;
        register char   *p0, *p1;

        /* get total matches, score
         */
        i0 = i1 = siz0 = siz1 = 0;
        p0 = seqx[0] + pp[1].spc;
        p1 = seqx[1] + pp[0].spc;
        n0 = pp[1].spc + 1;
        n1 = pp[0].spc + 1;

        nm = 0;
        while ( *p0 && *p1 ) {
                if (siz0) {
                        p1++;
                        n1++;
                        siz0--;
                }
                else if (siz1) {
                        p0++;
                        n0++;
                        siz1--;
                }
                else {
                        if (xbm[*p0-'A']&xbm[*p1-'A'])
                                nm++;
                        if (n0++ == pp[0].x[i0])
                                siz0 = pp[0].n[i0++];
                        if (n1++ == pp[1].x[i1])
                                siz1 = pp[1].n[i1++];
                        p0++;
                        p1++;
                }
        }

        /* pct homology:
         * if penalizing endgaps, base is the shorter seq
         * else, knock off overhangs and take shorter core
         */
        if (endgaps)
                lx = (len0 < len1)? len0 : len1;
        else
                lx = (lx < ly)? lx : ly;
        pct = 100.*(double)nm/(double)lx;
        fprintf(fx, "\n");
        fprintf(fx, "<%d match%s in an overlap of %d: %.2f percent similarity\n",
                nm, (nm == 1)? "" : "es", lx, pct);
```

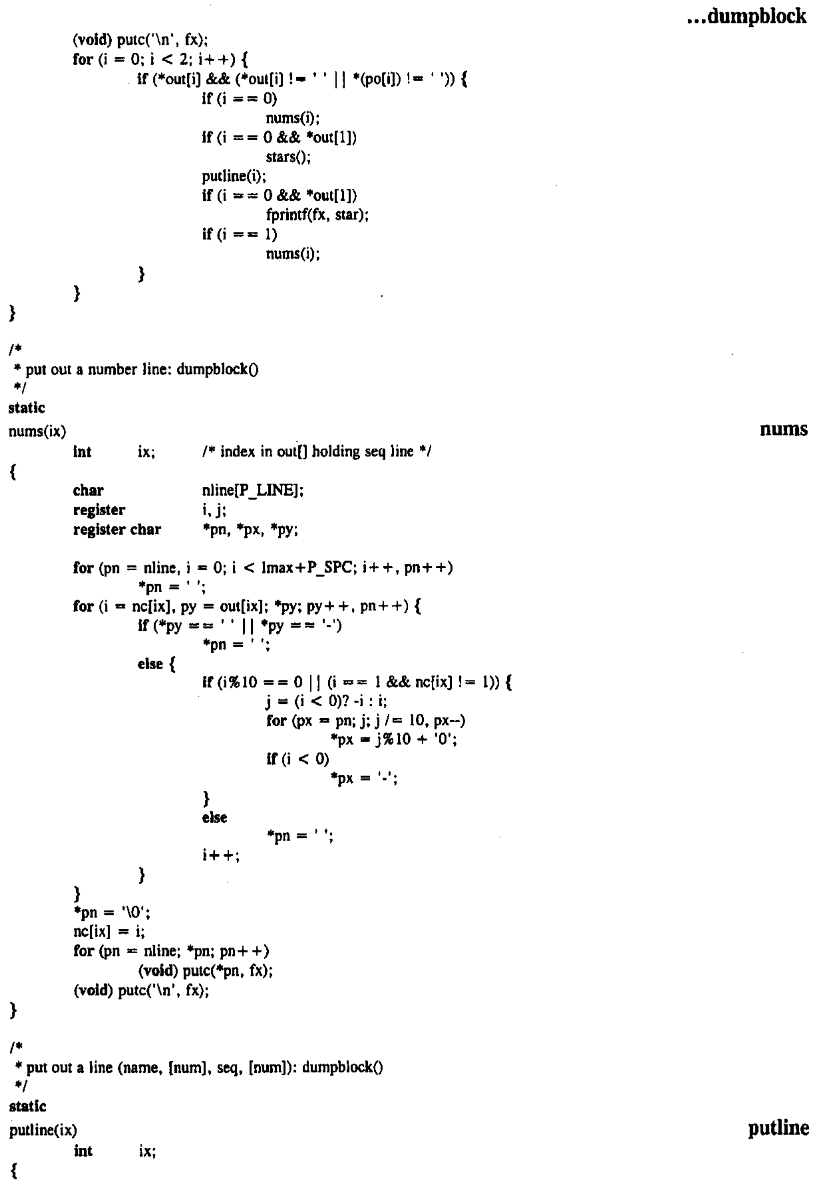
[표 1i]

```
        fprintf(fx, "<gaps in first sequence: %d", gapx);                                   ...getmat
        if (gapx) {
                (void) sprintf(outx, " (%d %s%s)",
                        ngapx, (dna)? "base":"residue", (ngapx == 1)? "":"s");
                fprintf(fx,"%s", outx);

        fprintf(fx, ", gaps in second sequence: %d", gapy);
        if (gapy) {
                (void) sprintf(outx, " (%d %s%s)",
                        ngapy, (dna)? "base":"residue", (ngapy == 1)? "":"s");
                fprintf(fx,"%s", outx);
        }
        if (dna)
                fprintf(fx,
                "\n<score: %d (match = %d, mismatch = %d, gap penalty = %d + %d per base)\n",
                smax, DMAT, DMIS, DINS0, DINS1);
        else
                fprintf(fx,
                "\n<score: %d (Dayhoff PAM 250 matrix, gap penalty = %d + %d per residue)\n",
                smax, PINS0, PINS1);
        if (endgaps)
                fprintf(fx,
                "<endgaps penalized. left endgap: %d %s%s, right endgap: %d %s%s\n",
                firstgap, (dna)? "base" : "residue", (firstgap == 1)? "" : "s",
                lastgap, (dna)? "base" : "residue", (lastgap == 1)? "" : "s");
        else
                fprintf(fx, "<endgaps not penalized\n");
}

static          nm;             /* matches in core -- for checking */
static          lmax;           /* lengths of stripped file names */
static          ij[2];          /* jmp index for a path */
static          nc[2];          /* number at start of current line */
static          ni[2];          /* current elem number -- for gapping */
static          siz[2];
static char     *ps[2];         /* ptr to current element */
static char     *po[2];         /* ptr to next output char slot */
static char     out[2][P_LINE]; /* output line */
static char     star[P_LINE];   /* set by stars() */

/*
 * print alignment of described in struct path pp[]
 */
static
pr_align()                                                                                  pr_align
{
        int             nn;     /* char count */
        int             more;
        register        i;

        for (i = 0, lmax = 0; i < 2; i++) {
                nn = stripname(namex[i]);
                if (nn > lmax)
                        lmax = nn;

                nc[i] = 1;
                ni[i] = 1;
                siz[i] = ij[i] = 0;
                ps[i] = seqx[i];
                po[i] = out[i];
        }
```

[표 1j]

```
        for (nn = nm = 0, more = 1; more; ) {                                   ...pr_align
                for (i = more = 0; i < 2; i++) {
                        /*
                         * do we have more of this sequence?
                         */
                        if (!*ps[i])
                                continue;

                        more++;

                        if (pp[i].spc) {        /* leading space */
                                *po[i]++ = ' ';
                                pp[i].spc--;
                        }
                        else if (siz[i]) {      /* in a gap */
                                *po[i]++ = '-';
                                siz[i]--;
                        }
                        else {                  /* we're putting a seq element
                                                 */
                                *po[i] = *ps[i];
                                if (islower(*ps[i]))
                                        *ps[i] = toupper(*ps[i]);
                                po[i]++;
                                ps[i]++;

                                /*
                                 * are we at next gap for this seq?
                                 */
                                if (ni[i] == pp[i].x[ij[i]]) {
                                        /*
                                         * we need to merge all gaps
                                         * at this location
                                         */
                                        siz[i] = pp[i].n[ij[i]++];
                                        while (ni[i] == pp[i].x[ij[i]])
                                                siz[i] += pp[i].n[ij[i]++];
                                }
                                ni[i]++;
                        }
                }
                if (++nn == olen || !more && nn) {
                        dumpblock();
                        for (i = 0; i < 2; i++)
                                po[i] = out[i];
                        nn = 0;
                }
        }
}

/*
 * dump a block of lines, including numbers, stars: pr_align()
 */
static
dumpblock()                                                                     dumpblock
{
        register   i;

        for (i = 0; i < 2; i++)
                *po[i]-- = '\0';
```

[표 1k]



...dumpblock

```
        (void) putc('\n', fx);
        for (i = 0; i < 2; i++) {
                if (*out[i] && (*out[i] != ' ' || *(po[i]) != ' ')) {
                        if (i == 0)
                                nums(i);
                        if (i == 0 && *out[1])
                                stars();
                        putline(i);
                        if (i == 0 && *out[1])
                                fprintf(fx, star);
                        if (i == 1)
                                nums(i);
                }
        }
}

/*
 * put out a number line: dumpblock()
 */
static
```

nums

```
nums(ix)
        int     ix;     /* index in out[] holding seq line */
{
        char            nline[P_LINE];
        register        i, j;
        register char   *pn, *px, *py;

        for (pn = nline, i = 0; i < lmax+P_SPC; i++, pn++)
                *pn = ' ';
        for (i = nc[ix], py = out[ix]; *py; py++, pn++) {
                if (*py == ' ' || *py == '-')
                        *pn = ' ';
                else {
                        if (i%10 == 0 || (i == 1 && nc[ix] != 1)) {
                                j = (i < 0)? -i : i;
                                for (px = pn; j; j /= 10, px--)
                                        *px = j%10 + '0';
                                if (i < 0)
                                        *px = '-';
                        }
                        else
                                *pn = ' ';
                        i++;
                }
        }
        *pn = '\0';
        nc[ix] = i;
        for (pn = nline; *pn; pn++)
                (void) putc(*pn, fx);
        (void) putc('\n', fx);
}

/*
 * put out a line (name, [num], seq, [num]): dumpblock()
 */
static
```

putline

```
putline(ix)
        int     ix;
{
```

[표 1l]

```
                                                                        ...putline
          int                 i;
          register char       *px;

          for (px = namex[ix], i = 0; *px && *px != ':'; px++, i++)
                    (void) putc(*px, fx);
          for (; i < lmax+P_SPC; i++)
                    (void) putc(' ', fx);

          /* these count from 1:
           * ni[] is current element (from 1)
           * nc[] is number at start of current line
           */
          for (px = out[ix]; *px; px++)
                    (void) putc(*px&0x7F, fx);
          (void) putc('\n', fx);
}


/*
 * put a line of stars (seqs always in out[0], out[1]): dumpblock()
 */
static
stars()                                                                      stars
{
          int                 i;
          register char       *p0, *p1, cx, *px;

          if (!*out[0] || (*out[0] == ' ' && *(po[0]) == ' ') ||
             !*out[1] || (*out[1] == ' ' && *(po[1]) == ' '))
                    return;
          px = star;
          for (i = lmax+P_SPC; i; i--)
                    *px++ = ' ';

          for (p0 = out[0], p1 = out[1]; *p0 && *p1; p0++, p1++) {
                    if (isalpha(*p0) && isalpha(*p1)) {

                              if (xbm[*p0-'A']&xbm[*p1-'A']) {
                                        cx = '*';
                                        nm++;
                              }
                              else if (!dna && _day[*p0-'A'][*p1-'A'] > 0)
                                        cx = '.';
                              else
                                        cx = ' ';
                    }
                    else
                              cx = ' ';
                    *px++ = cx;
          }
          *px++ = '\n';
          *px = '\0';
}
```

[표 1m]

```
/*
 * strip path or prefix from pn, return len: pr_align()
 */
static
stripname(pn)                                                            stripname
          char      *pn;      /* file name (may be path) */
{
          register char       *px, *py;

          py = 0;
          for (px = pn; *px; px++)
                    if (*px == '/')
                              py = px + 1;
          if (py)
                    (void) strcpy(pn, py);
          return(strlen(pn));

}
```

[표 1n]

```
/*
 * cleanup() -- cleanup any tmp file
 * getseq() -- read in seq, set dna, len, maxlen
 * g_calloc() -- calloc() with error checkin
 * readjmps() -- get the good jmps, from tmp file if necessary
 * writejmps() -- write a filled array of jmps to a tmp file: nw()
 */
#include "nw.h"
#include <sys/file.h>

char    *jname = "/tmp/homgXXXXXX";          /* tmp file for jmps */
FILE    *fj;

int     cleanup();                           /* cleanup tmp file */
long    lseek();

/*
 * remove any tmp file if we blow
 */
cleanup(i)                                                                 cleanup
        int     i;
{
        if (fj)
                (void) unlink(jname);
        exit(i);
}

/*
 * read, return ptr to seq, set dna, len, maxlen
 * skip lines starting with ';', '<', or '>'
 * seq in upper or lower case
 */
char    *
getseq(file, len)                                                          getseq
        char    *file;  /* file name */
        int     *len;   /* seq len */
{
        char            line[1024], *pseq;
        register char   *px, *py;
        int             natgc, tlen;
        FILE            *fp;

        if ((fp = fopen(file,"r")) == 0) {
                fprintf(stderr,"%s: can't read %s\n", prog, file);
                exit(1);
        }
        tlen = natgc = 0;
        while (fgets(line, 1024, fp)) {
                if (*line == ';' || *line == '<' || *line == '>')
                        continue;
                for (px = line; *px != '\n'; px++)
                        if (isupper(*px) || islower(*px))
                                tlen++;
        }
        if ((pseq = malloc((unsigned)(tlen+6))) == 0) {
                fprintf(stderr,"%s: malloc() failed to get %d bytes for %s\n", prog, tlen+6, file);
                exit(1);
        }
        pseq[0] = pseq[1] = pseq[2] = pseq[3] = '\0';
```

[표 1o]

```
                                                                        ...getseq
        py = pseq + 4;
        *len = tlen;
        rewind(fp);

        while (fgets(line, 1024, fp)) {
                if (*line == ';' || *line == '<' || *line == '>')
                        continue;
                for (px = line; *px != '\n'; px++) {
                        if (isupper(*px))
                                *py++ = *px;
                        else if (islower(*px))
                                *py++ = toupper(*px);
                        if (index("ATGCU",*(py-1)))
                                natgc++;
                }
        }
        *py++ = '\0';
        *py = '\0';
        (void) fclose(fp);
        dna = natgc > (tlen/3);
        return(pseq+4);
}

char    *
g_calloc(msg, nx, sz)                                                   g_calloc
        char    *msg;           /* program, calling routine */
        int     nx, sz;         /* number and size of elements */
{
        char            *px, *calloc();

        if ((px = calloc((unsigned)nx, (unsigned)sz)) == 0) {
                if (*msg) {
                        fprintf(stderr, "%s: g_calloc() failed %s (n=%d, sz=%d)\n", prog, msg, nx, sz);
                        exit(1);
                }
        }
        return(px);
}

/*
 * get final jmps from dx[] or tmp file, set pp[], reset dmax: main()
 */
readjmps()                                                              readjmps
{
        int             fd = -1;
        int             siz, i0, i1;
        register  i, j, xx;

        if (fj) {
                (void) fclose(fj);
                if ((fd = open(jname, O_RDONLY, 0)) < 0) {
                        fprintf(stderr, "%s: can't open() %s\n", prog, jname);
                        cleanup(1);
                }
        }
        for (i = i0 = i1 = 0, dmax0 = dmax, xx = len0; ; i++) {
                while (1) {
                        for (j = dx[dmax].ijmp; j >= 0 && dx[dmax].jp.x[j] >= xx; j--)
                                ;
```

[표 1p]

...readjmps

```
                        if (j < 0 && dx[dmax].offset && fj) {
                                (void) lseek(fd, dx[dmax].offset, 0);
                                (void) read(fd, (char *)&dx[dmax].jp, sizeof(struct jmp));
                                (void) read(fd, (char *)&dx[dmax].offset, sizeof(dx[dmax].offset));
                                dx[dmax].ijmp = MAXJMP-1;
                        }
                        else
                                break;
                }
                if (i > = JMPS) {
                        fprintf(stderr, "%s: too many gaps in alignment\n", prog);
                        cleanup(1);
                }
                if (j > = 0) {
                        siz = dx[dmax].jp.n[j];
                        xx = dx[dmax].jp.x[j];
                        dmax + = siz;
                        if (siz < 0) {                  /* gap in second seq */
                                pp[1].n[i1] = -siz;
                                xx + = siz;

                                /* id = xx - yy + len1 - 1
                                 */
                                pp[1].x[i1] = xx - dmax + len1 - 1;
                                gapy++;
                                ngapy -= siz;
/* ignore MAXGAP when doing endgaps */
                                siz = (-siz < MAXGAP || endgaps)? -siz : MAXGAP;
                                i1++;
                        }
                        else if (siz > 0) {  /* gap in first seq */
                                pp[0].n[i0] = siz;
                                pp[0].x[i0] = xx;
                                gapx++;
                                ngapx + = siz;
/* ignore MAXGAP when doing endgaps */
                                siz = (siz < MAXGAP || endgaps)? siz : MAXGAP;
                                i0++;
                        }
                }
                else
                        break;
        }

        /* reverse the order of jmps
         */
        for (j = 0, i0--; j < i0; j++, i0--) {
                i = pp[0].n[j]; pp[0].n[j] = pp[0].n[i0]; pp[0].n[i0] = i;
                i = pp[0].x[j]; pp[0].x[j] = pp[0].x[i0]; pp[0].x[i0] = i;
        }
        for (j = 0, i1--; j < i1; j++, i1--) {
                i = pp[1].n[j]; pp[1].n[j] = pp[1].n[i1]; pp[1].n[i1] = i;
                i = pp[1].x[j]; pp[1].x[j] = pp[1].x[i1]; pp[1].x[i1] = i;
        }
        if (fd > = 0)
                (void) close(fd);
        if (fj) {
                (void) unlink(jname);
                fj = 0;
                offset = 0;
        }
}
```

[표 1q]

writejmps

```
/*
 * write a filled jmp struct offset of the prev one (if any): nw()
 */
writejmps(ix)
        int     ix;
{
        char    *mktemp();

        if (!fj) {
                if (mktemp(jname) < 0) {
                        fprintf(stderr, "%s: can't mktemp() %s\n", prog, jname);
                        cleanup(1);
                }
                if ((fj = fopen(jname, "w")) = = 0) {
                        fprintf(stderr, "%s: can't write %s\n", prog, jname);
                        exit(1);
                }
        }
        (void) fwrite((char *)&dx[ix].jp, sizeof(struct jmp), 1, fj);
        (void) fwrite((char *)&dx[ix].offset, sizeof(dx[ix].offset), 1, fj);
}
```

[표 2a]

PRO	XXXXXXXXXXXXXXX	(아미노산 15개 길이)
비교 단백질	XXXXXYYYYYYY	(아미노산 12개 길이)

아미노산 서열 동일성(%) =

(ALIGN-2에 의해 두 폴리펩티드 서열 사이에서 동일하게 매치되는 것으로 결정된 아미노산 잔기의 수)÷(PRO 폴리펩티드의 아미노산 잔기의 총수)

5 ÷ 15 = 33.3%

[표 2b]

PRO	XXXXXXXXXX	(아미노산 10개 길이)
비교 단백질	XXXXXYYYYYYZZYZ	(아미노산 15개 길이)

아미노산 서열 동일성(%) =

(ALIGN-2에 의해 두 폴리펩티드 서열 사이에서 동일하게 매치되는 것으로 결정된 아미노산 잔기의 수)÷(PRO 폴리펩티드의 아미노산 잔기의 총수)

5 ÷ 10 = 50%

[표 2c]

PRO-DNA	NNNNNNNNNNNNNN	(뉴클레오티드 14개 길이)
비교 DNA	NNNNNNLLLLLLLLLL	(뉴클레오티드 16개 길이)

핵산 서열 동일성(%) =

(ALIGN-2에 의해 두 핵산 서열 사이에서 동일하게 매치되는 것으로 결정된 뉴클레오티드의 수)÷(PRO-DNA 핵산 서열의 총 뉴클레오티드수)

6 ÷ 14 = 42.9%

[표 2d]

PRO-DNA	NNNNNNNNNNNN	(뉴클레오티드 12개 길이)
비교 DNA	NNNNLLLVV	(뉴클레오티드 9개 길이)

핵산 서열 동일성(%) =

(ALIGN-2에 의해 두 핵산 서열 사이에서 동일하게 매치되는 것으로 결정된 뉴클레오티드의 수)÷(PRO-DNA 핵산 서열의 총 뉴클레오티드수)

4 ÷ 12 = 33.3%

본원에서 확인된 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드 서열에 대한 '아미노산 서열 동일성 퍼센트(%)'는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드 서열과 후보 서열을 정렬하고, 필요한 경우 서열 동일성 퍼센트의 최대치 를 얻기 위해 갭을 도입한 후 어떠한 보존적 치환도 서열 동일성의 일부로서

간주하지 않은 상태에서 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 서열의 아미노산 잔기와 동일한, 후보 서열에 존재하는 아미노산 잔기의 비율로서 정의된다. 아미노산 서열 동일성 퍼센트를 측정하기 위한 정렬법은 당업계에 공지된 다양한 방법, 예를 들어 BLAST, BLAST-2, ALIGN, ALIGN-2 또는 Megalign (DNASTAR) 소프트웨어와 같은 쉽게 구할 수 있는 컴퓨터 소프트웨어를 사용하여 수행할 수 있다. 당업자는 비교되는 서열들의 전체 길이에 걸쳐 최대로 정렬시키기 위해 필요한 임의의 연산법을 비롯하여 정렬을 측정하기에 적합한 파라미터를 정할 수 있다. 그러나, 본 발명의 목적상 아미노산 서열 동일성 값(%)은 하기에 기재된 바와 같이 서열 비교 컴퓨터 프로그램 ALIGN-2를 이용하여 얻을 수 있는데, 상기 ALIGN-2 프로그램에 대한 완전한 소스 코드는 표 1에 기재되어 있다. ALIGN-2 서열 비교 컴퓨터 프로그램은 제넨테크 인크사가 개발하였으며, 표 1에 나타낸 소스 코드는 미국 저작권청 (미국 20559 워싱톤 D.C. 소재)의 사용자 문서로 보관되어 있는데, 상기 코드는 미국 저작권 등록 제TXU510087호로 등록되어 있다. ALIGN-2 프로그램은 제넨테크 인크사 (캘리포니아주 사우스 샌 프란시스코 소재)를 통해 쉽게 구할 수 있거나, 표 1에 기재된 소스 코드로부터 컴파일링될 수 있다. ALIGN-2 프로그램은 UNIX 운용 체계, 바람직하게는 디지탈 UNIX V4.0D에서 사용하기 위해 편집될 수 있다. 모든 서열 비교 파라미터는 ALIGN-2 프로그램에 의해 설정되며, 다양하지 않다.

본 발명에 이용하기 위해, 주어진 아미노산 서열 B에의, B와의, 또는 B에 대한 주어진 아미노산 서열 A의 아미노산 서열 동일성 (%)(주어진 아미노산 서열 B에의, B와의, 또는 B에 대한 특정 아미노산 서열 동일성 (%)을 갖거나 포함하는 주어진 아미노산 서열 A라는 어구로 달리 표현할 수 있음)은 하기와 같이 계산한다:

X/Y ×100

여기서, X는 A와 B의 프로그램 정렬에서 서열 정렬 프로그램 ALIGN-2에 의해 동일하게 매치되는 것으로 기록되는 아미노산 잔기의 수이고, Y는 B에 있는 아미노산 잔기의 총 수이다. 아미노산 서열 A의 길이가 아미노산 서열 B의 길이와 같지 않은 경우, B에 대한 A의 아미노산 서열 동일성(%)은 A에 대한 B의 아미노산 서열 동일성(%)과 같지 않음을 인지해야 할 것이다. 이 방법을 이용한 아미노산 서열 동일성 계산의 예로서, 표 2a 내지 2b는 'PRO'로 지칭되는 아미노산 서열에 대한 '비교 단백질'로 지칭되는 아미노산 서열의 아미노산 서열 동일성(%)을 계산하는 방법을 나타낸다.

달리 언급하지 않는 한, 본원에 사용된 모든 아미노산 서열 동일성 값(%)은 상기 ALIGN-2 서열 비교 컴퓨터 프로그램을 이용하여 상기 기재된 바와 같이 얻었다. 그러나, 아미노산 서열 동일성(%)은 서열 비교 프로그램 NCBI-BLAST2(Altschul et al., Nucleic Acids Res., 25:3389-3402 (1997))를 이용하여 계산할 수도 있다. NCBI-BLAST2 서열 비교 프로그램은 웹 사이트 (http://www.ncbi.nlm.nih.gov)로부터 다운로드 받을 수 있다. NCBI-BLAST2는 여러 가지 검색 파라미터를 이용하는데, 이러한 모든 검색 파라미터는 예를 들어, 언마스크 = 예, 가닥 = 모두, 기대 발생 = 10, 최소 저복합성 길이 = 15/5, 다중-통과 e-값 = 0.01, 다중-통과에 대한 상수 = 25, 최종 갭 정렬에 대한 드롭오프 = 25 및 점수 매트릭스 = BLOSUM62를 포함하는 디폴트값으로 설정되어 있다.

NCBI-BLAST2가 아미노산 서열 비교에 사용되는 경우, 주어진 아미노산 서열 B에의, B와의, 또는 B에 대한 주어진 아미노산 서열 A의 아미노산 서열 동일성(%)(주어진 아미노산 서열 B에의, B와의, 또는 B에 대한 특정 아미노산 서열 동일성(%)을 갖거나 포함하는 주어진 아미노산 서열 A라는 어구로 달리 표현할 수 있음)은 하기와 같이 계산한다:

X/Y ×100

여기서, X는 NCBI-BLAST2 프로그램 정렬에서 서열 정렬 프로그램 NCBI-BLAST2에 의해 동일하게 매치되는 것으로 기록되는 아미노산 잔기의 수이고, Y는 B에 있는 아미노산 잔기의 총 수이다. 아미노산 서열 A의 길이가 아미노산 서열 B의 길이와 같지 않는 경우, B에 대한 A의 아미노산 서열 동일성(%)은 A에 대한 B의 아미노산 서열 동일성(%)과 같지 않음을 인지해야 할 것이다.

또한, 아미노산 서열 동일성 페센트(%)는 WU-BLAST-2 컴퓨터 프로그램(Altschul et al., Methods in Enzymology 266:460-80 (1996))을 이용하여 얻을 수 있다. WU-BLAST-2 검색 파라미터 대부분은 디폴트값으로 설정하였다. 디폴트 값으로 설정하지 않은 것들, 즉 조정가능한 파라미터는 다음 값으로 설정하였다. 오버랩 스팬 = 1, 오버랩 분획 = 0.125, 워드 한계 (T) = 11, 점수 매트릭스 = BLOSUM62. 본 발명의 목적상, 아미노산 서열 동일성 값(%)은 (a) 천연 PRO 폴리펩티드로부터 유도된 서열을 갖는 관심있는 PRO 폴리펩티드의 아미노산 서열과 비교되는 관심있는 아미노산 서열(즉, 관심있는 PRO 폴리펩티드와 비교되는 서열로서 PRO 변이체 폴리펩티드일 수 있음)과의 사이에 매치되는 동일한 아미노산 잔기의 수를 WU-BLAST-2로 결정하여 얻고, (b) 이를 관심있는 PRO 폴리펩티드의 아미노산 총 잔기수로 나누어 측정한다. 예를 들어, '아미노산 서열 B와 80% 이상의 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열 A를 포함하는 폴리펩티드'라는 말에서, 아미노산 서열 A는 비교하는 관심있는 아미노산 서열이고, 아미노산 서열 B는 관심있는 PRO 폴리펩티드의 아미노산 서열이다.

'PRO381 변이체 폴리펩티드', 'PRO1269 변이체 폴리펩티드', 'PRO1410 변이체 폴리펩티드', 'PRO1755 변이체 폴리펩티드', 'PRO1780 변이체 폴리펩티드', 'PRO1788 변이체 폴리펩티드', 'PRO3434 변이체 폴리펩티드', 'PRO1927 변이체 폴리펩티드', 'PRO3567 변이체 폴리펩티드', 'PRO1295 변이체 폴리펩티드', 'PRO1293 변이체 폴리펩티드', 'PRO1303 변이체 폴리펩티드', 'PRO4344 변이체 폴리펩티드', 'PRO4354 변이체 폴리펩티드', 'PRO4397 변이체 폴리펩티드', 'PRO4407 변이체 폴리펩티드', 'PRO1555 변이체 폴리펩티드', 'PRO1096 변이체 폴리펩티드', 'PRO2038 변이체 폴리펩티드' 및 'PRO2262 변이체 폴리펩티드', 또는 'PRO381 변이체 핵산 서열', 'PRO1269 변이체 핵산 서열', 'PRO1410 변이체 핵산 서열', 'PRO1755 변이체 핵산 서열', 'PRO1780 변이체 핵산 서열', 'PRO1788 변이체 핵산 서열', 'PRO3434 변이체 핵산 서열', 'PRO1927 변이체 핵산 서열', 'PRO3567 변이체 핵산 서열', 'PRO1295 변이체 핵산 서열', 'PRO1293 변이체 핵산 서열', 'PRO1303 변이체 핵산 서열', 'PRO4344 변이체 핵산 서열', 'PRO4354 변이체 핵산 서열', 'PRO4397 변이체 핵산 서열', 'PRO4407 변이체 핵산 서열', 'PRO1555 변이체 핵산 서열', 'PRO1096 변이체 핵산 서열', 'PRO2038 변이체 핵산 서열' 및 'PRO2262 변이체 핵산 서열'은, 본원에 개시된 바와 같은 전장 천연 서열의 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드 서열, 본원에 개시된 바와 같은 신호 펩티드를 포함하지 않는 전장 천연 서열의 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드 서열, 본원에 개시된 바와 같은 신호 펩티드를 포함하거나 포함하지 않는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 세포외 도메인, 또는 본원에 개시된 바와 같은 전장 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드 서열의 임의의 기타 단편을 코딩하는 뉴클레오티드 서열과 80% 이상의 핵산 서열 동일성을 가지며, 하기 정의된 바와 같은 활성 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 분자를 의미한다.

일반적으로, PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 및 PRO2262 변이체 폴리뉴클레오티드는 본원에 개시된 바와 같은 전장 천연 서열의 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드 서열, 본원에 개시된 바와 같은 신호 펩티드를 포함하지 않는 전장 천연 서열의 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드 서열, 본원에 개시된 바와 같은 신호 펩티드를 포함하거나 포함하지 않는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 세포외 도메인, 또는 본원에 개시된 바와 같은 전장 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드 서열의 임의의 기타 단편을 코딩하는 핵산 서열과 약 80% 이상의 핵산 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 81% 이상의 핵산 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 82% 이상의 핵산 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 83% 이상의 핵산 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 84% 이상의 핵산 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 85% 이상의 핵산 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 86% 이상의 핵산 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 87% 이상의 핵산 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 88% 이상의 핵산 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 89% 이상의 핵산 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 90% 이상의 핵산 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 91% 이상의 핵산 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 92% 이상의 핵산 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 93% 이상의 핵산 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 94% 이상의 핵산 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 95% 이상의 핵산 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 96% 이상의 핵산 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 97% 이상의 핵산 서열 동일성, 보다 바람직하게는 약 98% 이상의 핵산 서열 동일성 및 보다 바람직하게는 약 99% 이상의 핵산 서열 동일성을 가질 것이다. 변이체는 천연 뉴클레오티드 서열을 포함하지 않는다.

일반적으로, PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 변이체 폴리뉴클레오티드는 약 30개 이상의 뉴클레오티드 길이, 통상적으로 약 60개 이상의 뉴클레오티드 길이, 보다 통상적으로 약 90개 이상의 뉴클레오티드 길이, 보다 통상적으로 약 120개 이상의 뉴클레오티드 길이, 보다 통상적으로 약 150개 이상의 뉴클레오티드 길이, 보다 통상적으로 약 180개 이상의 뉴클레오티드 길이, 보다 통상적으로 약 210개 이상의 뉴클레오티드 길이, 보다 통상적으로 약 240개 이상의 뉴클레오티드 길이, 보다 통상적으로 약 270개 이상의 뉴클레오티드 길이, 보다 통상적으로 약 300개 이상의 뉴클레오티드 길이, 보다 통상적으로 약 450개 이상의 뉴클레오티드 길이, 보다 통상적으로 약 600개 이상의 뉴클레오티드 길이, 보다 통상적으로 약 900개 이상의 뉴클레오티드 길이, 또는 이를 초과하는 뉴클레오티드 길이로 이루어진다.

본원에서 확인된 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드 코딩 핵산 서열에 대한 '핵산 서열 동일성 퍼센트(%)'는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드 코딩 핵산 서열과 후보 서열을 정렬하고, 필요한 경우 서열 동일성 퍼센트의 최대치를 얻기 위해 갭을 도입한 후, PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드 코딩 핵산 서열의 뉴클레오티드와 동일한, 후보 서열에 존재하는 뉴클레오티드의 비율로서 정의된다. 핵산 서열 동일성 퍼센트를 측정하기 위한 정렬법은 당업계에 공지된 다양한 방법, 예를 들어 BLAST, BLAST-2, ALIGN, ALIGN-2 또는 Megalign (DNASTAR) 소프트웨어와 같은 쉽게 구할 수 있는 컴퓨터 소프트웨어를 사용하여 수행할 수 있다. 당업자는 비교되는 서열들의 전체 길이에 걸쳐 최대로 정렬시키기 위해 필요한 임의의 연산법을 비롯하여 정렬을 측정하기에 적합한 파라미터를 정할 수 있다. 그러나, 본원의 목적상 핵산 서열 동일성 값(%)은 하기에 기재된 바와 같이 서열 비교 컴퓨터 프로그램 ALIGN-2를 이용하여 얻을 수 있는데, 상기 ALIGN-2 프로그램에 대한 완전한 소스 코드는 표 1에 기재되어 있다. ALIGN-2 서열 비교 컴퓨터 프로그램은 제넨테크 인크사가 개발하였으며, 표 1에 나타낸 소스 코드는 미국 저작권청 (미국 20559 워싱톤 D.C. 소재)의 사용자 문서로 보관되어 있는데, 상기 코드는 미국 저작권 등록 제TXU510087호로 등록되어 있다. ALIGN-2 프로그램은 제넨테크 인크사 (캘리포니아주 사우스 샌 프란시스코 소재)를 통해 쉽게 구할 수 있거나, 표 1에 기재된 소스 코드로부터 컴파일링될 수 있다. ALIGN-2 프로그램은 UNIX 운용 체계, 바람직하게는 디지탈 UNIX V4.0D에서 사용하기 위해 컴파일링될 수 있다. 모든 서열 비교 파라미터는 ALIGN-2 프로그램에 의해 설정되며, 다양하지 않다.

본 발명의 목적상, 주어진 핵산 서열 D에의, D와의, 또는 D에 대한 주어진 핵산 서열 C의 핵산 서열 동일성 (%)(주어진 핵산 서열 D에의, D와의, 또는 D에 대한 특정 핵산 서열 동일성 (%)을 갖거나 포함하는 주어진 핵산 서열 C라는 어구로 달리 표현할 수 있음)은 하기와 같이 계산한다:

W/Z ×100

여기서, W는 C와 D의 프로그램 정렬에서 서열 정렬 프로그램 ALIGN-2에 의해 동일하게 매치되는 것으로 기록되는 뉴클레오티드의 수이고, Z는 D에 있는 뉴클레오티드의 총 수이다. 핵산 서열 C의 길이가 핵산 서열 D의 길이와 같지 않는 경우, D에 대한 C의 핵산 서열 동일성(%)은 C에 대한 D의 핵산 서열 동일성(%)과 같지 않음을 인지해야 할 것이다. 이 방법을 이용한 핵산 서열 동일성 계산의 예로서, 표 2c 내지 2d는 'PRO-DNA'로 지칭되는 핵산 서열에 대한 '비교 DNA'로 지칭되는 핵산 서열의 핵산 서열 동일성(%)을 계산하는 방법을 나타낸다.

달리 언급하지 않는 한, 본원에 사용된 모든 핵산 서열 동일성 값(%)은 상기 ALIGN-2 서열 비교 컴퓨터 프로그램을 이용하여 상기 기재된 바와 같이 얻었다. 그러나, 핵산 서열 동일성(%)은 서열 비교 프로그램 NCBI-BLAST2(Altschul et al., Nucleic Acids Res. 25:3389-3402 (1997))를 이용하여 계산할 수도 있다. NCBI-BLAST2 서열 비교 프로그램은 웹 사이트 (http://www.ncbi.nlm.nih.gov)로부터 다운로드 받을 수 있다. NCBI-BLAST2는 여러 가지 검색 파라미터를 이용하는데, 이러한 모든 검색 파라미터는 예를 들어, 언마스크 = 예, 가닥 = 모두, 기대 발생 = 10, 최소 저복합성 길이 = 15/5, 다중-통과 e-값 = 0.01, 다중-통과에 대한 상수 = 25, 최종 갭 정렬에 대한 드롭오프 = 25 및 점수 매트릭스 = BLOSUM62를 포함하는 디폴트값으로 설정되어 있다.

NCBI-BLAST2가 서열 비교에 사용되는 경우, 주어진 핵산 서열 D에의, D와의, 또는 D에 대한 주어진 핵산 서열 C의 핵산 서열 동일성(%)(주어진 핵산 서열 D에의, D와의, 또는 D에 대한 특정 핵산 서열 동일성(%)을 갖거나 포함하는 주어진 핵산 서열 C라는 어구로 달리 표현할 수 있음)은 하기와 같이 계산한다:

W/Z ×100

여기서, W는 C 및 D의 프로그램 정렬에서 서열 프로그램 NCBI-BLAST2에 의해 동일하게 매치되는 것으로 기록되는 뉴클레오티드의 수이고, Z는 D에 있는 뉴클레오티드의 총 수이다. 핵산 서열 C의 길이가 핵산 서열 D의 길이와 같지 않는 경우, D에 대한 C의 핵산 서열 동일성(%)은 C에 대한 D의 핵산 서열 동일성(%)과 같지 않음을 인지해야 할 것이다.

또한, 핵산 서열 동일성 값(%)은 WU-BLAST-2 컴퓨터 프로그램 (Altschul et al., Methods in Enzymology 266:460-480 (1996))을 이용하여 얻을 수 있다. WU-BLAST-2 검색 파라미터 대부분은 디폴트값으로 설정하였다. 디폴트값으로 설정되지 않은, 즉 조정가능한 파라미터는 다음 값으로 설정하였다. 오버랩 스팬 = 1, 오버랩 분획 = 0.125, 워드 한계 (T) = 11, 점수 매트릭스 = BLOSUM62. 본 발명의 목적상, 핵산 서열 동일성 값(%)은 (a) 천연 PRO 폴리펩티드로부터 유도된 서열을 갖는 관심있는 PRO 폴리펩티드 코딩 핵산 분자와 비교되는 관심있는 핵산 서열 (즉, 관심있는 PRO 폴리펩티드 코딩 핵산 분자와 비교되는 서열로서 변이체 PRO 폴리뉴클레오티드일 수 있음)과의 사이에

매치되는 동일한 뉴클레오티드의 수를 WU-BLAST-2로 측정하여 얻고, (b) 이를 관심있는 PRO 폴리펩티드 코딩 핵산 분자의 총 뉴클레오티드 수로 나누어 측정한다. 예를 들어, '핵산 서열 B와 80% 이상의 핵산 서열 동일성을 갖는 핵산 서열 A를 포함하는 단리된 핵산 분자'라는 말에서, 핵산 서열 A는 비교하는 관심있는 핵산 분자이고 핵산 서열 B는 관심있는 PRO 폴리 펩티드 코딩 핵산 분자의 핵산 서열이다.

다른 실시양태에서, PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 변이체 폴리뉴클레오티드는 바람직하게는 엄격한 혼성화 및 세척 조건하에서 도 2 (서열 2), 도 4 (서열 7), 도 6 (서열 9), 도 8 (서열 11), 도 10 (서열 13), 도 12 (서열 18), 도 14 (서열 23), 도 16 (서열 25), 도 18 (서열 27), 도 20 (서열 29), 도 22 (서열 31), 도 24 (서열 33), 도 26 (서열 35), 도 28 (서열 40), 도 30 (서열 42), 도 32 (서열 47), 도 34 (서열 49), 도 36 (서열 51), 도 38 (서열 53) 또는 도 40 (서열 55)에 기재된 전장의 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드를 각각 코딩하는 뉴클레오티드 서열에 혼성화될 수 있는, 활성 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 분자이다. PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 변이체 폴리펩티드는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 변이체 폴리뉴클레오티드에 의해 코딩되는 것들일 수 있다.

상기한 바와 같이 수행되는 아미노산 서열 동일성 서열 비교와 관련하여 '양성'이란 용어는 동일하지는 않으나 성질이 유사한, 비교되는 서열에서의 아미노산 잔기를 포함한다. 관심있는 아미노산 잔기에 대해 양성값을 나타내는 아미노산 잔기는 관심있는 아미노산 잔기와 동일한 것이거나 관심있는 아미노산 잔기의 바람직한 치환 (하기 표 3에 기재되어 있음)이다.

본 발명의 목적상, 주어진 아미노산 서열 B에의, B와의, 또는 B에 대한 주어진 아미노산 서열 A의 양성값 (%)(주어진 아미노산 서열 B에의, B와의, 또는 B에 대한 특정 양성값 (%)을 갖거나 포함하는 주어진 아미노산 서열 A라는 어구로 달리 표현할 수 있음)은 하기와 같이 계산한다:

$X/Y \times 100$

여기서, X는 A 및 B의 프로그램 정렬에서 서열 정렬 프로그램 ALIGN-2에 의해 상기에서 정의된 양성값을 나타내는 아미노산 잔기의 수이고, Y는 B에 있는 아미노산 잔기의 총 수이다. 아미노산 서열 A의 길이가 아미노산 서열 B의 길이와 같지 않는 경우, B에 대한 A의 양성값 (%)은 A에 대한 B의 양성값 (%)과 같지 않음을 인지해야 할 것이다.

본원에 개시된 다양한 폴리펩티드를 기술하기 위해 사용된 '단리된'은 폴리펩티드가 확인되어 그의 자연 환경 성분으로부터 분리 및(또는) 회수되었음을 의미한다. 바람직하게는, 단리된 폴리펩티드는 자연 상태에서 결합되어 있는 모든 성 분과 결합되어 있지 않다. 자연 환경의 오염 성분은 이 폴리펩티드의 진단 또는 치료적 사용을 일반적으로 방해하는 물질로서, 효소, 호르몬, 및 다른 단백질성 또는 비단백질성 용질 등이 있을 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 폴리펩티드는 (1) 스피닝컵 서열분석기를 사용하여 N-말단 또는 내부 아미노산 서열의 15개 이상의 잔기를 얻기에 충분한 정도로 정제되거나, 또는 (2) 쿠마시 블루 또는 바람직하게는 은 염색을 사용하여 비환원 또는 환원 조건 하에 SDS-PAGE에서 하나의 밴드만 나타날 정도로 정제될 것이다. 단리된 폴리펩티드는 1 종 이상의 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 자연 환경 성분이 존재하지 않을 것이기 때문에 이는 재조합 세포 내의 원래 위치에 존재하는 폴리펩티드를 포함한다. 그러나, 일반적으로 단리된 폴리펩티드는 하나 이상의 정제 단계에 의해 제조될 것이다.

PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드를 코딩하는 '단리된' 핵산 분자 또는 항-PRO381, 항-PRO1269, 항-PRO1410, 항-PRO1755, 항-PRO1780, 항-PRO1788, 항-PRO3434, 항-PRO1927, 항-PRO3567, 항-PRO1295, 항-PRO1293, 항-PRO1303, 항-PRO4344, 항-PRO4354, 항-PRO4397, 항-PRO4407, 항-PRO1555, 항-PRO1096, 항-PRO2038 또는 항-PRO2262 항체를 코딩하는 '단리된' 핵산은, PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 코딩 핵산 또는 항-PRO381, 항-PRO1269, 항-PRO1410, 항-PRO1755, 항-PRO1780, 항-PRO1788, 항-PRO3434, 항-PRO1927, 항-PRO3567, 항-PRO1295, 항-PRO1293, 항-PRO1303, 항-PRO4344, 항-PRO4354, 항-PRO4397, 항-PRO4407, 항-PRO1555, 항-PRO1096, 항-PRO2038 또는 항-PRO2262

코딩 핵산의 천연 공급원에서 통상적으로 결합되어 있는 1종 이상의 오염 핵산 분자로부터 확인 및 분리된 핵산 분자라는 의미이다. 바람직하게는, 단리된 핵산은 자연 상태에서 결합되어 있는 모든 성분과 결합되어 있지 않다. 단리된 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 코딩 핵산 분자, 또는 항-PRO381, 항-PRO1269, 항-PRO1410, 항-PRO1755, 항-PRO1780, 항-PRO1788, 항-PRO3434, 항-PRO1927, 항-PRO3567, 항-PRO1295, 항-PRO1293, 항-PRO1303, 항-PRO4344, 항-PRO4354, 항-PRO4397, 항-PRO4407, 항-PRO1555, 항-PRO1096, 항-PRO2038 또는 항-PRO2262 코딩 핵산 분자는 자연에서 발견되는 형태 또는 상태와 다르게 존재한다. 따라서, 단리된 핵산 분자는 천연 세포에 존재하는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 코딩 핵산 분자, 또는 항-PRO381, 항-PRO1269, 항-PRO1410, 항-PRO1755, 항-PRO1780, 항-PRO1788, 항-PRO3434, 항-PRO1927, 항-PRO3567, 항-PRO1295, 항-PRO1293, 항- PRO1303, 항-PRO4344, 항-PRO4354, 항-PRO4397, 항-PRO4407, 항-PRO1555, 항-PRO1096, 항-PRO2038 또는 항-PRO2262 코딩 핵산 분자와 구별된다. 그러나, 예를 들어, PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드 또는 항-PRO381, 항-PRO1269, 항-PRO1410, 항-PRO1755, 항-PRO1780, 항-PRO1788, 항-PRO3434, 항-PRO1927, 항-PRO3567, 항-PRO1295, 항-PRO1293, 항-PRO1303, 항-PRO4344, 항-PRO4354, 항-PRO4397, 항-PRO4407, 항-PRO1555, 항-PRO1096, 항-PRO2038 또는 항-PRO2262 항체를 코딩하는 단리된 핵산 분자는, 예를 들어 천연 세포와 상이한 염색체 위치에 존재하며 통상적으로 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드를 발현하거나 항-PRO381, 항-PRO1269, 항-PRO1410, 항-PRO1755, 항-PRO1780, 항-PRO1788, 항-PRO3434, 항-PRO1927, 항-PRO3567, 항-PRO1295, 항-PRO1293, 항-PRO1303, 항-PRO4344, 항-PRO4354, 항-PRO4397, 항-PRO4407, 항-PRO1555, 항-PRO1096, 항-PRO2038 또는 항-PRO2262 항체를 발현하는 세포에 함유된, PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드 코딩 핵산 분자 또는 항-PRO381, 항-PRO1269, 항-PRO1410, 항-PRO1755, 항-PRO1780, 항-PRO1788, 항-PRO3434, 항-PRO1927, 항-PRO3567, 항-PRO1295, 항-PRO1293, 항-PRO1303, 항-PRO4344, 항-PRO4354, 항-PRO4397, 항-PRO4407, 항-PRO1555, 항-PRO1096, 항-PRO2038 또는 항-PRO2262 항체 코딩 핵산 분자를 포함한다.

'조절 서열'이란 용어는 특정 숙주 유기체에서 작동가능하게 연결된 코딩 서열의 발현에 필요한 DNA 서열을 지칭한다. 원핵생물에 적합한 조절 서열로는 예컨데 프로모터, 경우에 따라 오퍼레이터 서열, 및 리보솜 결합 부위를 들 수 있다. 진핵세포는 프로모터, 폴리아데닐화 신호 및 인핸서를 이용하는 것으로 알려져 있다.

핵산은 다른 핵산 서열과 기능적 관계로 배치될 때 '작동가능하게 연결'된다. 예를 들어, 프리서열 또는 분비 리더 (leader)의 DNA는 해당 폴리펩티드의 분비에 관여하는 프리단백질로서 발현되는 경우에 그 폴리펩티드의 DNA에 작동가능하게 연결된 것이고, 프로모터 또는 인핸서는 서열의 전사에 영향을 끼치는 경우에 코딩 서열에 작동가능하게 연결된 것이며, 리보솜 결합 부위는 번역을 촉진하도록 배치되는 경우에 코딩 서열에 작동가능하게 연결된 것이다. 일반적으로 '작동가능하게 연결된'다는 것은 연결될 DNA 서열들이 인접하여 위치함을 의미하며, 분비 리더의 경우 인접하여 위치할 뿐만 아니라 동일한 리딩 프레임 내에 존재하는 것을 의미한다. 그러나, 인핸서가 반드시 인접하여 위치해야 하는 것은 아니다. 연결은 편리한 제한 효소 부위에서 라이게이션에 의해 달성된다. 이러한 부위가 존재하지 않는 경우, 합성 올리고뉴클레오티드 어댑터 또는 링커를 종래의 방법에 따라 사용한다.

'항체'라는 용어는 가장 넓은 의미로 사용되며, 구체적으로는 하나의 항-PRO381, 항-PRO1269, 항-PRO1410, 항-PRO1755, 항-PRO1780, 항-PRO1788, 항-PRO3434, 항-PRO1927, 항-PRO3567, 항-PRO1295, 항-PRO1293, 항-PRO1303, 항-PRO4344, 항-PRO4354, 항-PRO4397, 항-PRO4407, 항-PRO1555, 항-PRO1096, 항-PRO2038 또는 항-PRO2262 모노클로날 항체 (길항제 및 중화 항체 포함), 폴리에피토프 특이성이 있는 항-PRO381, 항-PRO1269, 항-PRO1410, 항-PRO1755, 항-PRO1780, 항-PRO1788, 항-PRO3434, 항-PRO1927, 항-PRO3567, 항-PRO1295, 항-PRO1293, 항-PRO1303, 항-PRO4344, 항-PRO4354, 항-PRO4397, 항-PRO4407, 항-PRO1555, 항-PRO1096, 항-PRO2038 또는 항-PRO2262 항체 조성물, 단일쇄 항-PRO381, 항-PRO1269, 항-PRO1410, 항-PRO1755, 항-PRO1780, 항-PRO1788, 항-PRO3434, 항-PRO1927, 항-PRO3567, 항-PRO1295, 항-PRO1293, 항-PRO1303, 항-PRO4344, 항-PRO4354, 항-PRO4397, 항-PRO4407, 항-PRO1555, 항-PRO1096, 항-PRO2038 또는 항-PRO2262 항체, 및 항-PRO381, 항-PRO1269, 항-PRO1410, 항-PRO1755, 항-PRO1780, 항-PRO1788, 항-PRO3434, 항-PRO1927, 항-PRO3567, 항-PRO1295, 항-PRO1293, 항-PRO1303, 항-PRO4344, 항-PRO4354, 항-PRO4397, 항-PRO4407, 항-PRO1555, 항-PRO1096, 항-PRO2038 또는 항-PRO2262 항체의 단편(하기 참조) 등을 통칭한다. 본원에서 사용된 '모노클로날 항체'라는 용어는 실질적으로 동종 항체들의 집단으로부터 얻은 항체, 즉 소량으로 존재할 수 있는 가능한 자연발생적 돌연변이를 제외한, 한 집단을 이루는 동일한 개별 항체를 의미한다.

혼성화 반응의 '엄격도'는 당업자가 용이하게 결정할 수 있으며, 일반적으로 프로브 길이, 세척 온도 및 염 농도에 따라 달라지는 실험적 계산값이다. 일반적으로 보다 긴 프로브일수록 적합한 어닐링에 보다 높은 온도를 필요로 하며, 보다 짧은 프로브일수록 보다 낮은 온도를 필요로 한다. 혼성화는 일반적으로 상보적 가닥이 용융 온도보다 낮은 환경에 존재할 때 재어닐링되는 변성된 DNA의 능력에 따라 달라진다. 프로브와 혼성화가능한 서열 사이의 목적하는 상동성의 정도가 높을수록, 사용할 수 있는 적당한 온도가 높아진다. 따라서, 적당한 온도가 높아질수록 반응 조건은 더욱 엄격해지는 한편, 적당한 온도가 낮아질수록 반응조건은 덜 엄격해진다. 혼성화 반응의 엄격도와 관련한 더 자세한 정보 및 설명은 문헌 (Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology, Wiley Interscience Publishers (1995))을 참조한다.

본원에서 정의된 '엄격 조건' 또는 '고도의 엄격 조건'이란 (1) 세척시 이온 강도가 낮고 온도가 높은 조건, 예를 들어 50℃에서 0.015M 염화나트륨/0.0015M 시트르산 나트륨/0.1% 나트륨 도데실 술페이트를 사용하는 조건, (2) 혼성화시에 42℃에서 포름아미드, 예를 들어 0.1% 소혈청 알부민/0.1% 피콜/0.1% 폴리비닐피롤리돈/50mM 인산나트륨 완충액 (pH 6.5)과 함께 750mM 염화나트륨, 75mM 시트르산 나트륨을 함유하는 50%(부피/부피) 포름아미드와 같은 변성제를 사용하는 조건, 또는 (3) 42℃에서 50% 포름아미드, 5x SSC (0.75M NaCl, 0.075M 시트르산 나트륨), 50mM 인산나트륨 (pH 6.8), 0.1% 피로인산나트륨, 5x 덴하르트(Denhardt) 용액, 초음파처리된 연어 정자 DNA (50㎍/ml), 0.1% SDS, 및 10% 덱스트란 술페이트를 사용하여 혼성화한 후, 42℃에서 0.2x SSC (염화나트륨/ 시트르산 나트륨), 그리고 55℃에서 50% 포름아미드로 세척하고, 55℃에서 EDTA가 함유된 0.1x SSC를 이용한 고도로 엄격한 세척을 수행하는 조건에 의해 확인될 수 있다.

'적당한 엄격 조건'이란 문헌(Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, New York: Cold Spring Harbor Press 1989)에 기재된 바와 같이 확인될 수 있고, 상기한 것보다 엄격성이 낮은 혼성화 조건 (예를 들어 온도, 이온 강도 및 SDS %)의 이용을 포함한다. 적당한 엄격 조건의 예로는 20% 포름아미드, 5x SSC (150mM 염화나트륨, 15mM 시트르산삼나트륨), 50mM 인산나트륨 (pH 7.6), 5x 덴하르트 용액, 10% 덱스트란 술페이트 및 20mg/ml의 변성되어 잘린 연어 정자 DNA를 포함하는 용액 중에서 37℃로 밤새 인큐베이션한 후, 필터를 약 37 내지 50℃에서 1x SSC로 세척하는 조건을 들 수 있다. 당업자는 프로브 길이 등과 같은 인자에 맞추기 위해 필요한 온도, 이온 강도 등을 조정하는 방법을 잘 알 것이다.

본원에 사용된 '에피토프 태그가 부착된'이란 '태그 폴리펩티드'에 융합된 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드를 포함하는 키메라 폴리펩티드를 지칭한다. 태그 폴리펩티드는 항체가 만들어질 수 있을 정도의 에피토프를 제공하기에 충분한 잔기를 갖지만 융합되는 폴리펩티드의 활성을 방해하지 않을 정도로 충분히 짧다. 태그 폴리펩티드는 매우 독특해서 자신에 대한 항체가 다른 에피토프와는 실질적으로 교차반응하지 않는 것이 바람직하다. 적합한 태그 폴리펩티드는 일반적으로 6개 이상의 아미노산 잔기를 가지며, 통상 약 8 내지 50개의 아미노산 잔기를 갖는다(약 10 내지 20개의 잔기가 바람직함).

본원에서 사용된 '활성의' 또는 '활성'은 천연 또는 자연 발생 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 생물학적 및(또는) 면역학적 활성(특징)을 보유하는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 형태(들)을 말하는데, 여기서 '생물학적' 활성이란 천연 또는 자연 발생 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드가 갖는 항원성 에피토프에 대한 항체 생성을 유도하는 능력이외에 천연 또는 자연 발생 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드에 의한 생물학적 기능 (억제 또는 촉진 능력)을 말하며, '면역학적' 활성이란 천연 또는 자연 발생 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드가 갖는 항원성 에피토프에 대한 항체 생성을 유도하는 능력을 말한다.

본원에 개시된 스크리닝 분석에 의해 확인될 수 있는 항체 또는 다른 길항제(예를 들어, 유기 또는 무기 소분자, 펩티드 등)와 관련된 '생물학적 활성'은 상기 분자가 본원에서 확인된 증폭 유전자에 의해 코딩되는 폴리펩티드와 결합하거나 결합체를 이루는 능력을 말하는데 사용하거나, 다르게는 코딩된 폴리펩티드와 다른 세포 단백질과의 상호작용을 방해하거나 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 전사 또는 번역을 방해하는 능력을 말한다. 바람직한 생물학적 활성은 표적 종양 세포의 생장을 억제하는 것이다. 생물학적 활성으로서 다른 바람직한 것은 표적 종양 세포의 사멸을 일으키는 세포독성 활성이다.

본원에서 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드와 관련하여 '생물학적 활성'이란 용어는 신생물 세포 생장 또는 비조절된 세포 생장을 유도하는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 능력을 의미한다.

'면역학적 활성'이란 어구는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 하나 이상의 에피토프와의 면역학적 교차 반응성을 의미한다.

본원에서 사용된 '면역학적 교차 반응성'은 후보 폴리펩티드가 공지된 활성 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드에 대해 생성된 모노클로날 항혈청에 대한 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 정성적인 생물학적 활성을 경쟁적으로 억제할 수 있음을 의미한다. 그러한 항혈청은 염소 또는 토끼에, 예를 들어 완전 프로인트 면역보강제 중의 공지된 활성 유사체로 피하 주사한 후 불완전 프로인트 면역보강제 중의 것을 복강내 또는 피하 주사하여 면역화시키는 통상적인 방식으로 제조할 수 있다. 면역학적 교차 반응성은 특이적인것이 바람직한데, 이는 확인된 면역학적 교차 반응성 분자 (예를 들어, 항체)의 상응하는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드에 대한 결합 친화성이 다른 어떠한 공지된 천연 폴리펩티드의 결합 친화성 보다도 훨씬 (바람직하게는 약 2 배 이상, 더 바람직하게는 약 4 배 이상, 훨씬 더 바람직하게는 약 8배 이상, 가 장 바람직하게는 약 10배 이상) 크다는 것을 의미한다.

'길항제'라는 용어는 가장 넓은 의미로 사용되며, 본원에 개시된 천연 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 생물학적 활성, 또는 그의 전사 또는 번역을 부분적으로 또는 완전히 차단, 억제 또는 중화시키는 모든 분자를 통칭한다. 적합한 길항제 분자로는 구체적으로 길항제 항체 또는 항체의 단편, 펩티드, 작은 유기 분자, 안티센스 핵산 등이 포함된다. PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 길항제를 확인하는 방법은 상기 폴리펩티드를 후보 길항제 분자와 접촉시키고, PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드와 정상적으로 관련된 하나 이상의 생물학적 활성에서의 검출가능한 변화를 측정하는 방법을 포함한다.

'소분자'는 본원에서 분자량이 약 500 달톤 미만인 것으로 정의된다.

'항체(Ab)' 및 '면역글로불린(Ig)'은 동일한 구조 특성을 갖는 당단백질이다. 항체는 특이 항원에 특이적으로 결합하는 반면, 면역글로불린은 항체 및 항원 특이성이 없는 다른 항체 유사 분자 둘 다를 포함한다. 면역글로불린 등의 폴리펩티드는 예를 들어, 림프계에 의해서는 낮은 농도로 생성되며 골수종에 의해서는 증가된 농도로 생성된다. '항체'라는 용어는 넓은 의미로, 구체적으로는 온전한 모노클로날 항체, 폴리클로날 항체, 2개 이상의 온전한 항체에 의해 형성되는 다중특이성 항체(예를 들어, 이중특이성 항체) 및 목적하는 생물학적 활성을 가진다면 항체 단편까지 통칭하지만, 이에 제한되지는 않는다.

'천연 항체' 및 '천연 면역글로불린'은 일반적으로 2개의 동일한 경쇄(L) 및 2개의 동일한 중쇄(H)로 구성되는 약 150,000 달톤의 헤테로테트라머 당단백질이다. 각각의 경쇄는 하나의 디술피드 공유결합에 의해 중쇄에 연결되고, 디술피드 결합의 개수는 상이한 면역글로불린 이소형의 중쇄에 따라 달라진다. 또한, 각각의 중쇄 및 경쇄는 규칙적 간격으로 쇄 내부의 디술피드 결합을 갖는다. 각각의 중쇄는 한 말단에 가변 도메인(V_H) 및 이 도메인에 후속하는 많은 불변 도메인을 갖는다. 각각의 경쇄는 한 말단에 가변 도메인(V_L) 및 다른 말단에 불변 도메인을 갖고, 경쇄의 불변 도메인은 중쇄의 제1 불변 도메인과 나란히 배열되고, 경쇄 가변 도메인은 중쇄의 가변 도메인과 나란히 배열된다. 특정 아미노산 잔기들이 경쇄 와 중쇄 가변 도메인 사이의 경계면을 형성하는 것으로 생각된다.

'가변'이란 용어는 항체들 간에 가변 도메인의 특정 영역의 서열이 크게 상이하고 그 특정 항원에 대한 각각의 특정 항체의 결합 및 특이성에 사용된다는 사실을 말한다. 그러나, 가변성은 항체의 가변 도메인 전체에 걸쳐 균일하게 분포되지는 않는다. 가변성은 경쇄 및 중쇄 가변 도메인 모두의 상보성 결정 영역 (CDR) 또는 고도 가변 영역으로 불리는 3개의 세그먼트에 집중된다. 가변 도메인에서 보존도가 보다 높은 부분은 프레임워크 영역(FR)이라 불린다. 천연 중쇄 및 경쇄의 가변 도메인은 루프 연결을 형성하며 어떤 경우에는 β-시트 구조의 일부를 이루는 3개의 CDR에 의해

연결되는, 주로 β-시트의 입체형태인 프레임워크 영역 4개를 포함한다. 각 쇄 내의 CDR은 FR 영역에 의해 서로 매우 근접하게 유지되고, 다른 쇄의 CDR과 함께 항체의 항원 결합 부위의 형성에 기여한다 (Kabat et al., NIH Publ. No. 91-3242, Vol. Ⅰ, pages 647-669 (1991) 참조). 불변 도메인은 항체의 항원 결합시에 직접 관여하지 않지만, 항체 의존적 세포의 세포독성에서 항체의 관여와 같은 다양한 작용기 기능을 보인다.

본원에 사용된 '고도 가변 영역'이란 항원 결합을 담당하는 항체의 아미노산 잔기를 말한다. 고도 가변 영역은 '상보성 결정 영역', 즉 'CDR'(경쇄 가변 도메인의 잔기 24 내지 34(L1), 50 내지 56(L2) 및 89 내지 97(L3), 및 중쇄 가변 도메인의 잔기 31 내지 35(H1), 50 내지 65(H2) 및 95 내지 102(H3); Kabar et al., Sequences of Proteins of Immunological Interests, 5th Ed. Public Health Services, National Institute of Health, Bethesda, MD. [1990])로부터의 아미노산 잔기 및(또는) '고도 가변 루프'(경쇄 가변 도메인의 잔기 26 내지 32(L1), 50 내지 52(L2) 및 91 내지 96(L3), 및 중쇄 가변 도메인의 잔기 26 내지 32(H1), 53 내지 55(H2) 및 96 내지 101(H3); Clothia and Lesk, J. Mol. Biol., 196:901-917[1987])로부터의 아미노산 잔기를 포함한다. '프레임워크', 즉 'FR' 잔기는 본원에 정의된 고도 가변 영역 잔기이외의 가변 도메인 잔기이다.

'항체 단편'은 온전한 항체의 일부, 바람직하게는 온전한 항체의 항원 결합 영역 또는 가변 영역을 포함한다. 항체 단편의 예로는 Fab, Fab', $F(ab')_2$ 및 Fv 단편; 디아바디(diabody); 선형 항체 (Zapata et al., Protein Eng. 8(10):1057-1062 (1995); 단일쇄 항체 분자; 및 항체 단편으로부터 형성된 다중특이성 항체 등이 포함된다.

항체를 파파인(papain)으로 분해하면 2개의 동일한 항원 결합 단편, 즉 단일 항원 결합 부위가 있는 각 'Fab' 단편, 및 쉽게 결정화되는 능력을 반영하여 이름 붙여진 나머지 'Fc' 단편이 생성된다. 펩신을 처리하면, 2개의 항원 결합 부위가 있으며 여전히 항원에 교차결합할 수 있는 $F(ab')_2$ 단편이 생성된다.

'Fv'는 완전한 항원 인식 및 항원 결합 부위를 포함하는 최소 항체 단편이다. 이 영역은 단단하게 비공유결합된 하나의 중쇄 가변 도메인과 하나의 경쇄 가변 도메인으로 이루어진 이량체로 구성된다. 이 구조에서는 각 가변 도메인의 CDR 3개가 상호작용하여 V_H-V_L 이량체의 표면에 항원 결합 부위를 형성한다. 결론적으로 보면, 6개의 CDR이 항체에 항원 결합 특이성을 부여한다. 그러나, 단일 가변 도메인 (또는 항원에 특이적인 단지 3개의 CDR만을 포함하는 Fv의 절반) 조차도 전체 결합 부위보다 친화성은 낮지만 항원을 인식하여 항원에 결합하는 능력을 갖는다.

또한, Fab 단편은 경쇄의 불변 도메인 및 중쇄의 제1 불변 도메인(CH1)을 함유한다. Fab 단편은 항체 힌지(hinge) 영역으로부터 유래한 하나 이상의 시스테인 을 포함하는 중쇄 CH1 도메인의 카르복시 말단에 몇 개의 잔기가 첨가되었다는 점에서 Fab' 단편과 상이하다. 본원에서 Fab'-SH는 불변 도메인의 시스테인 잔기(들)이 유리 티올기를 보유하는 Fab'을 지칭한다. $F(ab')_2$ 항체 단편은 본래 그들 사이에 힌지 시스테인이 있는 Fab' 단편의 쌍으로 생성되었다. 항체 단편의 다른 화학적 커플링도 공지되어 있다.

임의의 척추동물 종으로부터 유래한 항체(면역글로불린)의 '경쇄'는 그의 불변 도메인의 아미노산 서열을 기초로 하여 카파(κ) 및 람다(λ)로 불리는 2개의 명백하게 상이한 유형 중의 하나로 분류될 수 있다.

면역글로불린은 중쇄의 불변 도메인의 아미노산 서열에 따라 상이한 클래스로 분류될 수 있다. 면역글로불린에는 IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM의 5개 주요 클래스가 있고, 이들 중 몇 개는 서브클래스(이소형), 예를 들어 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA 및 IgA2로 더 분류될 수 있다. 상이한 클래스의 면역글로불린에 상응하는 중새 불변 도메인은 각각 α, δ, ε, γ 및 μ라 불리운다. 상이한 클래스의 면역글로불린에 대한 서브유닛 구조와 3차원 구조는 잘 공지되어 있다.

본원에서 사용된 '모노클로날 항체'라는 용어는 실질적으로 동종 항체들의 집단으로부터 얻은 항체, 즉, 소량으로 존재할 수 있는 가능한 자연발생적 돌연변이를 제외한, 한 집단을 이루는 동일한 개별 항체를 의미한다. 모노클로날 항체는 단일 항원 부위에 대해 유도된 매우 특이적인 항체이다. 또한, 전형적으로 상이한 결정군(에피토프)에 대한 상이한 항체를 포함하는 통상의 (폴리클로날) 항체 제제 와 달리, 각 모노클로날 항체는 항원상의 단일 결정군에 대한 것이다. 모노클로날 항체는 그 특이성 이외에 다른 면역글로불린에 의해 오염되지 않은 하이브리도마 배양액으로 합성할 수 있다는 장점이 있다. 수식어 '모노클로날'은 실질적으로 동종인 항체 집단으로부터 얻었다는 항체 특성을 가리키는 것이며, 임의의 특별한 방법으로 항체를 제조하는데 요구되는 것으로 여겨지지는 않는다. 예를 들어, 본 발명에 따라 사용될 모노클로날 항체는 먼저 문헌(Kohler et al., Nature, 256:495[1975])에 기재된 하이브리도마 방법으로 제조할 수 있거나, 또는 재조합 DNA 방법(예를 들어, 미국 특허 제4,816,576호 참조)으로 제조할 수 있다. '모노클로날 항체'는 또한 예를 들어, 문헌(Clackson et al., Nature, 352:624-628[1991] 및 Marks et al., J. Mol. Biol., 222:581-597(1991))에 기재된 기술을 이용하여 파지 항체 라이브러리로부터 단리할 수 있다.

본원에서의 모노클로날 항체는 구체적으로, 목적하는 활성을 발휘한다면 중쇄 및(또는) 경쇄의 일부분이 특정 종으로부터 유래된 항체 또는 특정 항체 클래스 또는 서브클래스에 속하는 항체의 상응하는 서열과 동일하거나 상동성이 있지만, 쇄(들)의 나머지는 다른 종으로부터 유래된 항체 또는 다른 항체 클래스 또는 서브클래스에 속하는 항체 또는 그러한 항체의 단편과 동일하거나 상동성이 있는 '키메라' 항체(면역글로불린)를 포함한다(미국 특허 제4,816,567호;

Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855[1984]).

비-인간(예를 들어, 쥐과 동물) 항체의 '인간화' 형태는 비-인간 면역글로불린으로부터 유도된 최소 서열을 포함하는 키메라 면역글로불린, 면역글로불린 쇄 또는 그의 단편 (예를 들어, Fv, Fab, Fab', $F(ab')_2$ 또는 항체의 다른 항원 결합 서열)이다. 대부분의 경우 인간화 항체는 수용자의 상보성 결정 영역 (CDR)의 잔기를 원하는 특이성, 친화도 및 능력을 갖는 생쥐, 쥐 또는 토끼와 같은 인간 이외의 종 (공여자 항체)의 CDR로부터의 잔기로 치환시킨 인간 면역글로불린 (수용자 항체)을 포함한다. 몇몇 경우에, 인간 면역글로불린의 Fv FR 잔기는 상응하는 비-인간 잔기에 의해 치환된다. 또한, 인간화 항체는 수용 항체에서도 또는 도입되는 CDR 또는 프레임워크 서열에서도 발견되지 않는 잔기를 포함할 수 있다. 이러한 변형은 추가로 항체를 정제하고 항체 특성을 최대화시키기 위해 수행된다. 일반적으로, 인간화 항체는 하나 이상, 일반적으로 두개의 가변 도메인을 실질적으로 모두 포함할 것이며, 여기서 모든 또는 실질적으로 모든 CDR 영역은 비-인간 면역글로불린의 영역에 상응하며, 모든 또는 실질적으로 모든 FR 영역은 인간 면역글로불린 서열의 영역에 해당한다. 또한, 인간화 항체는 면역글로불린 불변 영역 (Fc)의 적어도 일부, 일반적으로 인간 면역글로불린 영역의 일부를 포함할 것이다 (Jones et al., Nature, 321: 522-525 (1986); Riechmann et al., Nature, 332: 323-329 (1988); 및 Presta, Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-596 (1992)). 인간화 항체는, 항체의 항원 결합 영역이 짧은 꼬리 원숭이를 목적 항원으로 면역화시켜 제조한 항체에서 유래한 PRIMATIZED(상표명) 항체를 포함한다.

'단일쇄 Fv' 또는 'sFv' 항체 단편은 단일 폴리펩티드 쇄에 존재하는 항체의 V_H 및 V_L 도메인을 포함한다. 바람직하게는, Fv 폴리펩티드는 sFv가 항원 결합에 필요한 구조를 형성하도록 하는 V_H 및 V_L 도메인 사이에 폴리펩티드 링커도 포함한다(sFv에 관해서는 문헌 (Pluckthun in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenburg 및 Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994)) 참조).

'디아바디(diabody)'라는 용어는 동일한 폴리펩티드 쇄 내에서 경쇄 가변 도메인(V_L)에 연결된 중쇄 가변 도메인 (V_H)을 포함(V_H-V_L)하는, 2개의 항원 결합 부위가 있는 작은 항체 단편을 말한다. 동일한 쇄에 있는 2개의 도메인을 결합시키기에는 너무 짧은 링커를 사용함으로써, 도메인을 다른 쇄의 상보성 도메인과 강제로 결합시켜 2개의 항원 결합 부위를 생성시킨다. 디아바디는 예를 들어, 유럽 특허 제404,097호, 국제 공개 제WO93/11611호 및 문헌 (Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993))에 보다 상세하게 기재되어 있다.

'단리된' 항체는 자신의 자연 환경 성분으로부터 확인 및 분리 및(또는) 회수된 항체이다. 자연 환경의 오염 성분은 항체의 진단 또는 치료적 사용을 방해하는 물질로서, 효소, 호르몬 및 다른 단백질성 또는 비단백질성 용질이 있을 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 항체는 (1) 로우리(Lowry) 방법에 의해 측정시 95 중량% 초과, 가장 바람직하게는 99 중량% 초과의 항체로, (2) 스피닝 컵(spinning cup) 서열분석기를 사용하여 N-말단 또는 내부 아미노산의 잔기 15개 이상을 수득하기에 충분한 정도로, 또는 (3) 쿠마시 블루, 또는 바람직하게는 은 염색을 사용하여 환원 또는 비환원 조건하에서 SDS-PAGE에 의해 하나의 밴드로 정제될 것이다. 단리된 항체는 그 항체의 자연 환경의 하나 이상의 성분이 존재하지 않을 것이기 때문에, 재조합 세포 내의 원래 위치에 존재하는 항체를 포함한다. 그러나, 단리된 항체는 일반적으로 하나 이상의 정제 단계에 의해 정제될 것이다.

'표지(label)'라는 단어는 본 명세서에 사용될 때, 항체에 직간접적으로 접합되어 '표지된' 항체를 생성시키는 검출가능한 화합물 또는 조성물을 말한다. 표지는 그 자체로 (방사성 동위원소 표지 또는 형광 표지) 검출될 수 있거나, 효소 표지인 경우에는 검출가능한 기질 화합물 또는 조성물의 화학적 변화를 촉매할 수 있다. 검출가능한 표지로 작용할 수 있는 방사성핵종으로는 예를 들어, I-131, I-123, I-125, Y-90, Re-188, Re-186, At-211, Cu-67, Bi-212 및 Pd-109가 있다. 또한, 표지는 독소와 같이 그 실체를 검출할 수 없는 경우도 있다.

'고상(solid phase)'은 본 발명의 항체가 부착될 수 있는 비수성 매트릭스를 의미한다. 본원에 포함된 고상의 예에는 부분적으로 또는 완전하게 형성된 유리 (예를 들어, 세공 조절된 유리), 폴리사카라이드 (예를 들어, 아가로스), 폴리아크릴아미드, 폴리스티렌, 폴리비닐 알콜 및 실리콘 등이 포함된다. 특정 실시양태에서, 내용에 따라 고상은 분석 플레이트의 웰을 포함할 수 있으며, 다른 실시양태에서 고상은 정제 컬럼 (예를 들어, 친화 크로마토그래피 컬럼)이다. 이 용어는 또한 미국 특허 제4,275,149호에 기재된 것과 같은 별개 입자의 비연속적 고상도 포함한다.

'리포좀'은 약물 (예를 들어, PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드 또는 이에 대한 항체, 및 임의로 화학요법제)을 포유동물에게 전달하는데 유용한 여러 형태의 지질, 인지질 및(또는) 계면활성제로 이루어진 소낭(小囊)이다. 리포좀의 성분들은 통상적으로 생체막의 지질 배열과 유사하게 이중층 형태로 배열되어 있다.

본원에 사용된 '이뮤노어드헤신'이란 면역글로불린 불변 도메인의 작용기 기능과 이종 단백질(어드헤신)의 결합 특이성을 겸비한 항체 유사 분자를 지칭한다. 구조적으로 보면 이뮤노어드헤신은 항체의 항원 인식 및 결합 부위가 아닌(즉, '이종'임), 원하는 결합 특이성을 갖는 아미노산 서열과 면역글로불린 불변 도메인 서열의 융합체를 포함한다. 이

뮤노어드헤신 분자의 어드헤신 부분은 전형적으로 적어도 수용체 또는 리간드의 결합 부위를 포함하는 인접 아미노산 서열이다. 이뮤노어드헤신 중의 면역글로불린 불변 도메인 서열은 IgG-1, IgG-2, IgG-3, IgG-4 아형, IgA(IgA-1 및 IgA-2 포함), IgE, IgD 또는 IgM 등 어떠한 면역글로불린으로부터든지 얻을 수 있다.

II. 본 발명의 조성물 및 방법

A. 전장 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 및 PRO2262 폴리펩티드

본 발명은 본원에서 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 및 PRO2262로 언급된 폴리펩티드를 코딩하는 새로이 확인되고 단리된 뉴클레오티드 서열을 제공한다. 특히, 하기 실시예에 보다 상세히 기재된 바와 같이, PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 및 PRO2262 폴리펩티드를 코딩하는 cDNA를 확인하고 단리하였다. 별도의 발현 주기에서 생성된 단백질은 그의 PRO 숫자는 다를 수 있지만 UNQ 숫자는 임의의 주어진 DNA 및 코딩된 단백질 특유의 것이며 변하지 않을 것임을 알아야 한다. 그러나, 본원에서는 명료성을 위해, 본원에 개시된 전장의 천연 핵산 분자에 의해 코딩된 단백질, 및 상기 정의에 포함된 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 및 PRO2262의 다른 천연 동족체 및 변이체를 이들의 출처 및 제조 방식과 상관없이 'PRO381', 'PRO1269', 'PRO1410', 'PRO1755', 'PRO1780', 'PRO1788', 'PRO3434', 'PRO1927', 'PRO3567', 'PRO1295', 'PRO1293', 'PRO1303', 'PRO4344', 'PRO4354', 'PRO4397', 'PRO4407', 'PRO1555', 'PRO1096', 'PRO2038' 또는 PRO2262'로 언급할 것이다.

하기 실시예에 기재된 바와 같이, 공지된 클론인 PRO1096, PRO2038 및 PRO2262를 제외한 cDNA 클론을 ATCC에 기탁하였다. 당업자라면 당업계의 일반적인 방법을 이용하여 기탁된 클론의 서열을 분석함으로써 상기 클론의 실제 뉴클레오티 드 서열을 쉽게 결정할 수 있다. 일반적인 기술을 사용하여 뉴클레오티드 서열로부터 예상된 아미노산 서열을 결정할 수 있다. 본원에 기재된 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드 및 이를 코딩하는 핵산의 경우, 본 발명자들은 당시 이용할 수 있었던 서열 정보를 사용하여 가장 잘 확인할 수 있는 리딩 프레임으로 여겨지는 것을 확인하였다.

B. PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 및 PRO2262 변이체

본원에서 설명되는 전장 천연 서열 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 및 PRO2262 폴리펩티드 이외에, PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 및 PRO2262 변이체를 제조할 수 있는 것으로 생각된다. PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 및 PRO2262 변이체는 적합한 뉴클레오티드 변화를 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드 DNA에 도입하고(하거나) 원하는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드를 합성함으로써 제조할 수 있다. 당업자라면 글리코실화 부위의 수 또는 위치의 변경 또는 세포막 부착 특성의 변화와 같은 아미노산 변화가 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드 번역후 프로세싱을 변화시킬 수 있다는 것을 이해할 것이다.

본원에서 설명된 전장 천연 서열 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262, 또는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262의 다양한 도메인에서의 변이는 예를 들어 미국 특허 제5,364,934호에 개시된 보존적

및 비보존적 돌연변이 기술과 지침을 사용하여 제조할 수 있다. 변이는 천연 서열 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262와 비교했을 때, PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262의 아미노산 서열 변화를 초래하는, PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262를 코딩하는 하나 이상의 코돈의 치환, 결실 또는 삽입일 수 있다. 임의로, 변이는 하나 이상의 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 도메인에서 하나 이상의 아미노산을 임의의 다른 아미노산으로 치환함으로써 생성된다. 목적 활성에 유해한 효과를 주지 않으면서 삽입, 치환 또는 결실될 수 있는 아미노산 잔기는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 서열을 공지의 상동 단백질 분자의 서열과 비교하고 상동성이 높은 영역에서 생성된 아미노산 서열 변화의 수를 최소화함으로써 결정할 수 있다. 아미노산 치환은 하나의 아미노산을 유사한 구조 및(또는) 화학적 특성을 갖는 다른 아미노산으로 치환(예를 들어, 루이신의 세린으로의 치환), 즉 아미노산의 보존적 치환의 결과일 수 있다. 삽입 또는 결실은 임의로 약 1 내지 5개의 아미노산에서 발생할 수 있다. 허용되는 변이는 서열 내에 아미노산을 체계적으로 삽입, 결실 또는 치환시키고, 전장 또는 성숙 천연 서열에 의해 나타나는 생성된 변이체의 활성을 시험함으로써 정할 수 있다.

본원은 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 및 PRO2262 폴리펩티드의 단편들을 제공한다. 예를 들어 전장 천연 단백질과 비교하는 경우, 이 단편들은 N-말단 또는 C-말단이 잘릴 수 있으며 내부 잔기가 결손될 수 있다. 몇몇 단편은 본 발명의 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 목적 생물학적 활성에 필수적이지 않은 아미노산 잔기가 결손되어 있다.

PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 단편은 많은 종래의 기술 중 어떠한 기술에 의해서도 제조할 수 있다. 목적 펩티드의 단편은 화학적으로 합성할 수 있다. 다른 방법으로는 효소적 분해 방법, 예를 들어 단백질을 특정 아미노산 잔기에 의해 정해진 부위에서 단백질을 자르는 것으로 알려진 효소로 처리하거나 또는 DNA를 적합한 제한 효소로 잘라냄으로써 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 단편을 생성하고 이 목적 단편을 단리하는 것이 포함된다. 그러나, 또다른 적합한 기술은 중 합효소 연쇄 반응(PCR)에 의해 목적 폴리펩티드의 단편을 코딩하는 DNA 단편을 증폭하고 단리하는 것을 포함한다. DNA 단편의 목적 말단부를 정하는 올리고뉴클레오티드는 PCR에서 5' 및 3' 프라이머로 사용된다. 바람직하게는, PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 단편은 본원에서 개시된 천연 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드와 한가지 이상의 생물학적 및(또는) 면역학적 활성을 공유한다.

구체적인 실시양태에서, 목적물의 보존적 치환은 바람직한 치환이라는 표제로 표 3에 나타내었다. 이러한 치환에 의해 생물학적 활성이 변화하는 경우, 하기 표 3에서 치환예로서 명명되거나 아미노산 종류에 대해서 하기에서 보다 상세하게 설명된 보다 실질적인 변화를 도입하고 생성물을 스크리닝하였다.

[표 3]

원래 잔기	치환체의 예	바람직한 치환체
Ala(A)	val, leu, ile	val
Arg(R)	lys, gln, asn	lys
Asn(N)	gln, his, lys, arg	gln
Asp(D)	glu	glu

Cys(C)	ser	ser
Gln(Q)	asn	asn
Glu(E)	asp	asp
Gly(G)	pro, ala	ala
His(H)	asn, gln, lys, arg	arg
Ile(I)	leu, val, met, ala, phe, 노르루이신	leu
Leu(L)	노르루이신, ile, val, met, ala, phe	ile
Lys(K)	arg, gln, asn	arg
Met(M)	leu, phe, ile	leu
Phe(F)	leu, val, ile, ala, tyr	leu
Pro(P)	ala	ala
Ser(S)	thr	thr
Thr(T)	ser	ser
Trp(W)	tyr, phe	tyr
Tyr(Y)	trp, phe, thr, ser	phe
Val(V)	ile, leu, met, phe, ala, 노르루이신	leu

폴리펩티드의 기능 또는 면역학적 동일성에서의 실질적인 변형은 (a) 치환 영역에서의 폴리펩티드 골격의 구조를, 예를 들어 시트 또는 나선 구조로서 유지하거나, (b) 표적 부위에서 분자의 전하 또는 소수성을 유지하거나, 또는 (c) 대부분의 측쇄를 유지하는 그의 효과를 상당히 변화시키는 치환을 선택함으로써 수행된다. 자연 발생 잔기는 공통적인 측쇄 특성에 따라 다음과 같은 군으로 구분된다:

(1) 소수성: 노르루이신, met, ala, val, leu, ile;

(2) 중성 친수성: cys, ser, thr;

(3) 산성: asp, glu;

(4) 염기성: asn, gln, his, lys, arg;

(5) 쇄 배향에 영향을 미치는 잔기: gly, pro; 및

(6) 방향족; trp, tyr, phe.

비보존적 치환은 상기 한 종류의 구성 성분을 다른 종류의 것으로 치환하는 것이다. 또한, 이렇게 치환되는 잔기는 보존적 치환 부위에 도입될 수 있거나 또는 보다 바람직하게는 나머지 (비보존) 부위에 도입될 수 있다.

변이는 올리고뉴클레오티드 매개(부위 지정) 돌연변이 유발법, 알라닌 스캐닝법 및 PCR 돌연변이 유발법과 같은 당업계에 공지된 방법을 사용하여 제조할 수있다. 부위 지정 돌연변이 유발법(Carter et al., Nucl. Acids Res.,13:4331 (1986); Zoller et al., Nucl. Acids Res.,10:6487 (1987)), 카세트 돌연변이 유발법(Wells et al., Gene,34:315 (1985)), 제한 선택 돌연변이 유발법(Wells et al., Philos. Trans. R. Soc. London SerA,317:415 (1986)) 또는 다른 공지 기술을 클로닝된 DNA에 실시하여 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 변이체 DNA를 제조할 수 있다.

또한, 스캐닝 아미노산 분석법을 사용하여 인접 서열을 따라 하나 이상의 아미노산을 확인할 수 있다. 바람직한 스캐닝 아미노산은 비교적 작은 중성 아미노산이다. 이러한 아미노산에는 알라닌, 글리신, 세린 및 시스테인이 포함된다. 통상, 알라닌은 베타-탄소 밖의 측쇄를 제거하고 변이체의 주쇄 배열을 변화시킬 가능성이 적기 때문에 바람직한 스캐닝 아미노산이다(Cunningham and Wells, Science, 244: 1081-1085 (1989)). 또한, 알라닌은 통상 가장 흔한 아미노산이기 때문에 바람직하다. 또한, 알라닌은 단백질 구조의 내부 위치 및 노출된 위치 모 두에서 빈번하게 발견된다(Creighton, The Proteins, (W.H. Freeman & Co., N.Y.); Chothia, J. Mol. Biol., 150:1 (1976)). 알라닌 치환이 적당한 양의 변이체를 생성시키지 않으면, 동배체(isoteric) 아미노산을 사용할 수 있다.

C. PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 및 PRO2262의 변형

PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 및 PRO2262의 공유결합 변형은 본 발명의 범위에 포함된다. 공유결합 변형의 한 유형으로는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 선택된 측쇄 또는 N-말단 또는 C-말단 잔기와 반응할 수 있는 유기 유도체화제와 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 표적 아미노산 잔기를 반응시키는 것이 포함된다. 이관능성 작용제를 사용한 유도체화는, 예를 들어 항-PRO381, 항-PRO1269, 항-PRO1410, 항-PRO1755, 항-PRO1780, 항-PRO1788, 항-PRO3434, 항-PRO1927, 항-PRO3567, 항-PRO1295, 항-PRO1293, 항-PRO1303, 항-PRO4344, 항-PRO4354, 항-PRO4397, 항-PRO4407, 항-PRO1555, 항-PRO1096, 항- PRO2038 또는 항-PRO2262 항체 정제 방법에 사용하기 위해 수불용성 지지체 매트릭스 또는 표면에 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262를 가교결합시키거나, 또는 그 반대로 가교결합시키는데 유용하다. 통상 사용되는 가교결합제에는, 예를 들어 1,1-비스(디아조아세틸)-2-페닐에탄, 글루타르알데히드, N-히드록시숙신이미드 에스테르, 예를 들어 4-아지도살리실산과의 에스테르, 3,3'-디티오비스(숙신이미딜프로피오네이트)와 같은 디숙신이미딜 에스테르를 포함하는 동종이관능성 이미도에스테르, 비스-N-말레이미도-1,8-옥탄과 같은 이관능성 말레이미드, 및 메틸-3-[(p-아지도페닐)디티오]프로피오이미데이트와 같은 물질이 포함된다.

다른 변형으로는 글루타미닐 및 아스파라기닐 잔기의 각각 대응하는 글루타밀 및 아스파르틸 잔기로의 탈아미드화, 프롤린 및 리신의 히드록실화, 세릴 또는 트레오닐 잔기의 히드록실기의 인산화, 리신, 아르기닌 및 히스티딘 측쇄의 α-아미노기의 메틸화(T.E. Creighton, Proteins: Structure and Molecular Properties, W.H. Freeman & Co., San Francisco, pp. 79-86(1983)), N-말단 아민의 아세틸화, 및 C-말단 카르복실기의 아미드화가 포함된다.

본 발명의 범위 내에 포함되는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 공유결합 변형의 다른 유형에는 폴리펩티드의 천연 글리코실화 패턴을 변화시키는 것이 포함된다. 본원에서 '천연 글리코실화 패턴의 변화'는 천연 서열 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262에서 발견되는 하나 이상의 탄수화물 잔기의 결실(기본적인 글리코실화 부위를 제거하거나 화학적 및(또는) 효소적 방법에 의해 글리코실화를 결실시킴으로써) 및(또는) 천연 서열 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262에 존재하지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위의 부가를 의미한다. 또한, 이 용어는 존재하는 다양한 탄수화물 잔기의 특성 및 비율의 변화를 비롯한 천연 단백질의 글리코실화에 있어서의 질적 변화를 포함한다.

PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드에 대한 글리코실화 부위의 부가는 아미노산 서열의 변화에 의해 달성될 수 있다. 이 변화는, 예를 들어 천연서열 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262에 하나 이상의 세린 또는 트레오닌 잔기의 부가 또는 치환에 의해 이루어질 수 있다 (O-결합 글리코실화 부위의 경우). PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 아미노산 서열은 특히 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드를 코딩하는 DNA를 미리 선택된 염기에서 목적 아미노산으로 번역되는 코돈을 생성시키도록 돌연변이시킴으로써 DNA 수준에서의 변화를 통하여 임의로 변화시킬 수 있다.

PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드 상의 탄수화물 잔기의 수를 증가시키는 다른 수단은 글리코시드를 폴리펩티드에 화학적으로 또는 효소에 의해 결합시키는 것이다. 이러한 방법은, 예를 들어 1987년 9월 11일 공개된 국제 공개 제WO87/05330호 및 문헌(Aplin and Wriston, CRC Crit. Rev. Biochem., pp. 259-306 (1981))에 기재되어 있다.

PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드에 존재하는 탄수화물 잔기의 제거는 화학적으로 또는 효소에 의해 또는 글리코실화 표적으로 기능하는 아미노산 잔기를 코딩하는 코돈의 돌연변이에 의한 치환에 의해 달성될 수 있다. 화학적 탈글리코실화 기술은 당업계에 공지되어 있고, 예를 들어 문헌(Hakimuddin, et al., Arch. Biochem. Biophys., 259:52(1987) 및 Edge et al., Anal. Biochem., 118:131(1981))에 기재되어 있다. 폴리펩티드 상의 탄수화물 잔기의 효소에 의한 절단은 다양한 엔도글리코시다제 및 엑소글리코시다제를 사용하여 달성할 수 있다(Thotakura et al., Meth. Enzymol., 138:350(1987)).

PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262의 공유결합 변형의 다른 유형에는 미국 특허 제4,640,835호, 동 제4,496,689호, 동 제4,301,144호, 동 제4,670,417호, 동 제4,791,192호 또는 동 제4,179,337호에 기재된 방식으로 다양한 비단백질성 중합체, 예를 들어 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 폴리프로필렌 글리콜 또는 폴리옥시알킬렌 중의 하나에 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드를 연결시키는 것이 포함된다.

또한, 본 발명의 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262는 다른 이종 폴리펩티드 또는 아미노산 서열에 융합된 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262를 포함하는 키메라 분자를 형성하는 방식으로 변형될 수 있다.

본 발명의 한 실시양태에서, 이러한 키메라 분자는 항-태그 항체가 선택적으로 결합할 수 있는 에피토프를 제공하는 태그 폴리펩티드와 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262의 융합체를 포함한다. 에피토프 태그는 일반적으로 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262의 아미노 또는 카르복실 말단에 위치한다. 상기 에피토프 태그가 부착된 형태의 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262의 존재는 태그 폴리펩티드에 대한 항체를 사용하여 검출할 수 있다. 또한, 에피토프 태그를 도입하면 항-태그 항체 또는 에피토프 태그에 결합하는 다른 종류의 친화성 매트릭스를 사용한 친화성 정제에 의해 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262를 용이하게 정제할 수 있다. 다양한 태그 폴리펩티드 및 이들 각각의 항체는 당업계에 공지되어 있다. 그 예로는 폴리-히스티딘(poly-His) 또는 폴리-히스티딘-글리신 (poly-His-gly) 태그, flu HA 태그 폴리펩티드 및 그의 항체 12CA5 (Field et al., Mol. Cell. Biol., 8:2159-2165 (1988)), c-myc 태그 및 이에 대한 8F9, 3C7, 6E10, G4, B7 및 9E10 항체 (Evan et al., Molecular and Cellular Biology, 5:3610-3636 (1985)), 및 허피스 심플렉스 바이러스 당단백질 D (gD) 태그 및 그의 항체 (Paborsky et al., Protein Engineering, 3(6):547-553 (1990))를 들 수 있다. 다른 태그 폴리펩티드에는 Flag-펩티드 (Hopp et al., BioTechnology, 6:1204-1210 (1988)), KT3 에피토프 펩티드 (Martin et al., Science, 255:192-194 (1992)), α-튜불린 에피토프 펩티드 (Skinner et al., J. Biol. Chem., 266:15163-15166 (1991)) 및 T7 유전자 10 단백질 펩티드 태그 (Lutz-Freyermuth et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87:6393-6397 (1990))가 포함된다.

다른 한 실시양태에서, 키메라 분자는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262와 면역글로불린 또는 면역글로불린의 특정 영역의 융합체를 포함할 수 있다. 키메라 분자의 2가 형태('이뮤노어드헤신'으로 언급하기도 함)의 경우, 융합은 IgG 분자의 Fc 영역에 대한 융합일 수 있다. 이 Ig 융합은 바람직하게는 Ig 분자내 가변 영역의 적어도 일부를 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 가용성(막횡단 도메인이 결실 또는 불활성화됨) 형태로 치환하는 것을 포함한다. 특히 바람직한 실시양태에서, 면역글로불린 융합체는 IgG1 분자의 힌지, CH2 및 CH3, 또는 힌지, CH1, CH2 및 CH3 영역을 포함한다. 면역글로불린 융합체를 생산하는 방법으로는, 1995년 6월 27일 간행된 미국 특허 제5,428,130호를 참조한다.

D. PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 및 PRO2262의 폴리펩티드의 제조

이하에 설명되는 내용은 주로 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 핵산을 함유하는 벡터로 형질전환 또는 형질감염된 세포를 배양함으로써 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262를 제조하는 방법에 관한 것이다. 물론, 당업계에 공지된 다른 방법을 사용하여 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262를 제조하는 것도 고려된다. 예를 들어, PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 서열, 또는 그의 일부분은 고상 기술을 사용하는 직접 펩티드 합성법에 의해 제조할 수 있다(Stewart et al., Solid -Phase Peptide Synthesis, W.H. Freeman Co., San Francisco, CA (1969); Merrifield, J. Am. Chem. Soc., 85:2149-2154 (1963)). 시험관내 단백질 합성은 수동 기술 또는 자동화를 이용하여 수행될 수 있다. 자동화 합성법은, 예를 들어 어플라이드 바이오시스템즈 펩티드 합성기(Applied Biosystems Peptide Synthesizer)(미국 캘리포니아주 포스터시티 소재)를 제조사의 지시에 따라 사용하여 수행할 수 있다. PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262의 여러 부분을 별도로 화학적으로 합성한 후, 화학적 또는 효소적 방법을 사용하여 조합함으로써 전장 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262를 제조할 수 있다.

a. PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262를 코딩하는 DNA의 단리

PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262를 코딩하는 DNA는, PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 mRNA를 보유하며 이들을 검출가능한 수준으로 발현할 것으로 생각되는 조직으로부터 제조한 cDNA 라이브러리로부터 수득할 수 있다. 따라서, 인간 PRO381, 인간 PRO1269, 인간 PRO1410, 인간 PRO1755, 인간 PRO1780, 인간 PRO1788, 인간 PRO3434, 인간 PRO1927, 인간 PRO3567, 인간 PRO1295, 인간 PRO1293, 인간 PRO1303, 인간 PRO4344, 인간 PRO4354, 인간 PRO4397, 인간 PRO4407, 인간 PRO1555, 인간 PRO1096, 인간 PRO2038 또는 인간 PRO2262 DNA는 실시예에서 설명되는 바와 같이 인체 조직으로부터 제조된 cDNA 라이브러리로부터 편리하게 수득할 수 있다. PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 코딩 유전자는 또한 게놈 라이브러리로부터 수득하거나 또는 올리고뉴클레오티드 합성법에 의해 수득할 수 있다.

라이브러리는 목적 유전자 또는 이 유전자에 의해 코딩되는 단백질을 확인하기 위해 고안된 프로브 (예를 들어, 목적하는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262에 대한 항체 또는 약 20 내지 80개 이상의 염기로 구성된 올리고뉴클레오티드)를 사용하여 스크리닝할 수 있다. 선택된 프로브를 사용한 cDNA 또는 게놈 라이브러리의 스크리닝은 예를 들어 문헌 (Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual (New York: Cold Spring Haror Laboratory Press, 1989))에 기재된 바와 같은 표준 방법을 사용하여 수행할 수 있다. PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262를 코딩하는 유전자를 단리하는 다른 수단은 PCR 방법을 사용하는 것이다 (Sambrook et al., 상기 문헌; Dieffenbach et al., PCR Primer: A Laboratory Manual (Cold Spring Haror Laboratory Press, 1995)).

하기 실시예는 cDNA 라이브러리를 스크리닝하는 기술을 설명한다. 프로브로서 선택된 올리고뉴클레오티드 서열은 가양성(false positive) 결과를 최소화하기 위해서 충분한 길이를 갖고 충분히 분명한 서열이어야 한다. 올리고뉴클레오티드는 스크리닝되는 라이브러리에서 DNA에 혼성화시에 검출될 수 있도록 표지되는 것이 바람직하다. 표지 방법은 당업계에 공지되어 있고, ^{32}P-표지된 ATP와 같은 방사성 표지, 비오티닐화 또는 효소 표지의 사용을 포함한다. 적당한 엄격성 및 고도의 엄격성을 포함하는 혼성화 조건은 문헌(Sambrook et al., 상기 문헌)에 제공된다.

상기 라이브러리 스크리닝 방법에서 확인된 서열은 GenBank와 같은 공개 데이타베이스 또는 다른 비공개 서열 데이타베이스에 기탁되고 입수될 수 있는 다른 공지의 서열과 비교하여 정렬시킬 수 있다. 분자의 한정된 영역 내 또는 전

장 서열에 걸친 서열 동일성 (아미노산 또는 뉴클레오티드 수준에서)은 당업계에 공지된 방법 및 본원에서 설명된 방법을 이용하여 결정할 수 있다.

단백질 코딩 서열을 갖는 핵산은 먼저 본원에서 개시된 추정 아미노산 서열 을 사용하고 필요하다면 전구체를 검출하기 위해 문헌 (Sambrook et al., 상기 문헌)에 기재된 통상의 프라이머 신장 방법을 사용하여, 선택된 cDNA 또는 게놈 라이브러리를 스크리닝하고, cDNA로 역전사되지 않은 mRNA의 중간체를 프로세싱함으로써 수득할 수 있다.

b. 숙주세포의 선택 및 형질전환

숙주세포는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 생성을 위해 본원에서 설명한 발현 또는 클로닝 벡터로 형질감염 또는 형질전환되고 프로모터 유도, 형질전환체 선별 또는 목적 서열을 코딩하는 유전자 증폭에 적합하게끔 개질된 통상의 영양 배지 중에서 배양된다. 당업자라면 불필요한 실험을 수행하지 않고서도 배지, 온도, pH 등과 같은 배양 조건을 선택할 수 있다. 일반적으로, 세포 배양물의 생산성을 최대화하기 위한 원칙, 프로토콜 및 실시되는 기술은 문헌(Mammalian Cell Biotechnology: a Practical Approach, M. Butler, ed. (IRL Press, 1991) 및 Sambrook et al., 상기 문헌)에서 찾을 수 있다.

진핵세포 형질감염 방법 및 원핵세포 형질전환 방법, 예를 들어 $CaCl_2$, $CaPO_4$, 리포솜-매개 방법 및 전기천공법(electroporation)은 당업자에게 공지되어 있다. 사용되는 숙주세포에 따라, 형질전환은 상기 세포에 적합한 표준 기술을 사용하여 수행된다. 문헌(상기 Sambrook et al.,)에 기재된 염화칼슘법을 이용하는 칼슘 처리, 또는 전기천공법은 일반적으로 원핵세포에 대해 사용된다. 아그로박테리움 투메파시엔스(*Agrobacterium tumefaciens*)를 사용한 감염은 문헌(Shaw et al., Gene , 23 :315(1983) 및 1989년 6월 29일 공개된 국제 공개 제WO89/05859호)에 기재된 바와 같이 특정 식물 세포의 형질전환에 사용된다. 세포벽이 없는 포유동물 세포의 경우, 문헌(Graham and van der Eb, Virology, 52:456-457 (1978))의 인산칼슘 침전법을 사용할 수 있다. 포유동물 세포 숙주 시스템 형질감염의 일반적인 특징은 미국 특허 제4,399,216호에 기재되어 있다. 효모 내로의 형질전환은 일반적으로 문헌(Van Solingen et al., J. Bact., 130:949(1977) 및 Hsiao et al., Proc. Natl. Acad. Sci.(USA), 76:3829(1979))의 방법에 따라 수행된다. 그러나, 세포 내로 DNA를 도입하는 다른 방법, 예를 들어 핵내 미세주입, 전기천공법, 원형 세포와 세균 원형질체의 융합, 또는 다가양이온(예를 들어 폴리브렌, 폴리오르니틴)도 사용할 수 있다. 포유동물 세포의 형질전환을 위한 여러 기술에 대해서는 문헌(Keown et al., Methods in Enzymology, 185:527-537 (1990) 및 Mansour et al., Nature, 336:348-352 (1988))을 참조한다.

본원에서 벡터 내의 DNA를 클로닝 또는 발현하기에 적합한 숙주세포에는 원핵세포, 효모 또는 고등 진핵세포가 포함된다. 적합한 원핵세포에는 진정세균, 예를 들어 그람 음성 또는 그람 양성 생물, 예를 들어 대장균(*E. coli*)과 같은 장내세균과(Enterobacteriaceae)를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 다양한 대장균 균주, 예를 들어 대장균 K12 균주 MM294 (ATCC 31,446), 대장균 X1776(ATCC 31,537), 대장균 균주 W3110(ATCC 27,325) 및 대장균 균주 K5 772(ATCC 53,635)는 용이하게 입수할 수 있다. 다른 적합한 원핵생물 숙주세포에는 에셔리키아(*Eshcerichia*), 예를 들어 대장균, 엔테로박터(*Enterobacter*), 에르위니아(*Erwinia*), 클렙시엘라(*Klebsiella*), 프로테우스(*Proteus*), 살모넬라 (*Salmonella*)(예를 들어, 살모넬라 티피무리움(*Salmonella typhimurium*)), 세라티아(*Serratia*)(예를 들어, 세라티아 마르세스칸스(*Serratia marcescans*)) 및 시겔라(*Shigella*) 등의 장내세균과(*Enterobacteriaceae*), 및 바실러스(*Bacillus*)(예를 들어, 비. 서브틸리스 (*B. subtilis*) 및 비. 리체니포르미스(*B. licheniformis* ; 예를 들어, 1989년 4월 12일자로 공고된 DD 266,710호에 기재된 비. 리체니포르미스(*B. licheniformis*) 41P), 슈도모나스(*Pseudomonas*)(예를 들어, 피. 아에루기노사(*P. aeruginosa*)) 및 스트렙토마이세스(*Streptomyces*)가 포함된다. 이러한 예는 단지 예시적인 것으로서 이에 제한되는 것은 아니다. 균주 W3110은 재조합 DNA 산물 발효에 공통적인 숙주 균주이기 때문에 특히 바람직한 숙주 또는 모 숙주이다. 바람직하게는, 숙주세포는 최소량의 단백질 분해 효소를 분비한다. 예를 들어, 균주 W3110은 숙주의 내생 단백질을 코딩하는 유전자의 돌연변이를 초래하도록 변형될 수 있고, 이러한 숙주의 예에는 완전한 유전자형 *tonA* 를 갖는 대장균 W3110 균주 1A2, 완전한 유전자형 *tonA ptr3* 을 갖는 대장균 W3110 균주 9E4, 완전한 유전자형 *tonA ptr3 phoA E15(argF-lac)169 degP ompT kan* ^{r} 를 갖는 대장균 W3110 균주 27C7(ATCC 55,244), 완전한 유전자형 *tonA ptr3 phoA E15 (argF-lac)169 degP ompT rbs7 ilvG kan* ^{r} 를 갖는 대장균 W3110 균주 37D6, 비-카나마이신 내성 *degP* 결실 돌 연변이를 갖는 균주 37D6인 대장균 W3110 균주 40B4 및 1990년 8월 7일 공포된 미국 특허 제4,946,783호에 개시된 페리플라즘 프로테아제 변이체를 갖는 대장균 균주가 포함된다. 별법으로, 시험관내 클로닝 방법, 예를 들어 PCR 또는 다른 핵산 중합효소 반응이 적합하다.

원핵세포 외에, 섬유상 진균 또는 효모와 같은 진핵 미생물이 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 코딩 벡터의 클로닝 또는 발현 숙주로서 적합하다. 사카로마이세스 세레비지애 (*Saccharomyces cerevisiae*)가 일반적으로 사용되는 하등 진핵 숙주 미생물이다. 다른 미생물에는 시조사카로마이세스 폼베(*Schizosaccharomyces pombe*) (Beach and Nurse, Nature, 290: 140 [1981]; 1985년 5월 2일 공고된 EP 139,383); 클루이베로마이세스(*Kluyveromyces*) 숙주(미국 특허 제4,943,529호; Flee r et al., Bio/Technology, 9:968-975 (1991)), 예를 들어 케이. 락티스(*K. lactis*) (MW98-8C, CBS683, CBS4574 ; Louvencourt et al., J. Bacteriol., 737 [1983]), 케이. 프라길리스 (*K. fragilis*)(ATCC 12,424), 케이. 불가리쿠스(*K. bulgaricus*)(ATCC 16,045), 케이. 위케라미 (*K. wickeramii*)(ATCC 24,178), 케이. 왈티이 (*K. waltii*)(ATCC 56,500), 케이. 드로소필라룸 (*K. drosophilarum*)(ATCC 36,906; Vanden Berg et al., Bio/Technology, 8:135(1990)), 케이. 써모톨레란스 (*K. thermotolerans*) 및 케이. 막시아누스 (*K. marxianus*); 야로위아 (*yarrowia*)(유럽 특허 402,226); 피치아 파스토리스 (*Pichia pastoris*) (유럽 특허 183,070; Sreekrishna et al., J. Basic Microbiol., 28:265-278 [1988]); 칸디다(*Candida*); 트리코데르마 레에시아(*Trichoderma reesia*)(유럽 특허 244,234); 뉴로스포라 크라사(*Neurospora crassa* ; Case et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 76:5259-5263 [1979]); 시와니오마이세스(*Schwanniomyces*), 예를 들어 시와니오마이세스 옥시덴탈리스 (*Schwanniomyces occidentalis*)(1990년 10월 31일 공고된 유럽 특허 394,538); 및 섬유상 진균, 예를 들어 뉴로스포라(*Neurospora*), 페니실리움(*Penicillium*), 톨리포클라디움(*Tolypocladium*) (1991년 1월 10일 공고된 국제 공개 제WO91/00357호) 및 아스퍼길러스(*Aspergillus*) 숙주, 예를 들어 에이. 니둘란스 (*A. nidulans*)(Ballance et al,, Biochem. Biophys. Res. Commun., 112:284-289 [1983]; Tilburn et al., Gene, 26:205-221 [1983]; Yelton et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81: 1470-1474 [1984]) 및 에이. 나이거 (*A. niger*) (Kelly and Hynes, EMBO J., 4: 475-479 [1985])가 포함된다. 메틸 영양 요구성 효모가 적합하고, 한세눌라(*Hansenula*), 칸디다(*Candida*), 클로엑케라 (*Kloeckera*), 피치아(*Pichia*), 사카로마이세스(*Saccharomyces*), 토룰롭시스(*Torulopsis*) 및 로도토룰라(*Rhodotorula*)로 이루어지는 속으로부터 선택된, 메탄올 상에서 생장할 수 있는 효모를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 이들 종류의 효모의 예인 구체적인 종 목록은 문헌(C. Anthony, The Biochemistry of Methylotrophs, 269 (1982))에 기재되어 있다.

글리코실화 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262의 발현에 적합한 숙주세포는 다세포 생물로부터 유래한다. 무척추동물 세포의 예에는 드로소필라 S2 및 스포도프테라 Sf9와 같은 곤충 세포, 및 식물 세포가 포함된다. 유용한 포유동물 숙주세포주의 예에는 차이니즈 햄스터 난소 (CHO) 세포 및 COS 세포가 포함된다. 보다 구체적인 예에는 SV40에 의해 형질전환된 원숭이 신장 CV1 세포주(COS-7, ATCC CRL 1651), 인간 배아 신장 세포주(293 세포 또는 현탁 배양에서의 생장을 위해 서브클로닝된 293 세포, Graham et al., J. Gen Virol., 36:59(1997)), 차이니즈 햄스터 난소 세포/-DHFR (CHO, Urlaub and Chasin, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:4216(1980)), 생쥐 세르톨리 세포 (TM4, Mather, Biol. Reprod., 23:243-251(1980)), 인간 폐 세포(W138, ATCC CCL 75), 인간 간세포(Hep G2, HB 8065), 및 생쥐 유방 종양(MMT 060562, ATCC CCL51)이 포함된다. 당업자라면 적합한 숙주세포를 선택할 수 있다.

c. 복제가능 벡터의 선택 및 사용

PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262를 코딩하는 핵산(예를 들어, cDNA 또는 게놈 DNA)은 클로닝 (DNA의 증폭) 또는 발현을 위한 복제가능 벡터에 삽입할 수 있다. 다양한 벡터를 용이하게 구할 수 있다. 예를 들어, 벡터는 플라스미드, 코스미드, 바이러스 입자 또는 파지의 형태일 수 있다. 적합한 핵산 서열은 다양한 방 법에 의해 벡터 내에 삽입될 수 있다. 일반적으로, 당업계에 공지된 기술을 사용하여 DNA를 적합한 제한효소 부위(들) 내에 삽입한다. 벡터 성분은 일반적으로 하나 이상의 신호 서열, 복제 개시점, 하나 이상의 마커 유전자, 인핸서 성분, 프로모터 및 전사 종결 서열을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 상기 성분을 하나 이상 포함하는 적합한 벡터는 당업자에게 공지된 표준 라이게이션 기술을 사용하여 제작한다.

PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262는 직접 재조합 방법에 의해 생산될 수 있을 뿐만 아니라 성숙 단백질 또는 폴리펩티드의 N-말단에서 특이적 절단 부위를 갖는 다른 폴리펩티드 또는 신호 서열일 수 있는 이종 폴리펩티드와의 융합 폴리펩티드로서 생산될 수 있다. 일반적으로, 신호 서열은 벡터의 성분일 수 있거나 또는 벡터 내로 삽입된 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 코딩 DNA의 일부일 수 있다. 신호 서열은, 예를 들어 알칼리 포스파타제, 페니실리나제, lpp 또는 열안정성 엔테로톡신 II 리더의 군으로부터 선택된 원핵생물 신호 서열일 수 있다. 효모에서의 분비를 위해, 신호 서열은 예를 들어 효모 인버타제 리더, 알파 인자 리더(사카로마이세스 (*Saccharomyces*) α-인자 리더 및 클루이베로마이세스 (*Kluyveromyces*) α-인자 리더(미국 특허 제5,010,182호)를 포함) 또는 산 포스파 타제 리더, 씨. 알비칸스(*C. albicans*) 글루코아밀라제 리더(1990년 4월 4일 공고된 유럽 특허 362,179) 또는 1990년 11월 15일 공개된 국제 공개 제WO90/13646호에 기재된 신호 서열일 수 있다. 포유동물 세포 발현에서, 포유동물 신호 서열, 예를 들어 동일하거나 관련된 종의 분비 폴리펩티드로부터의 신호 서열 및 바이러스 분비 리더를 사용하여 단백질의 분비를 유도할 수 있다.

발현 및 클로닝 벡터 모두는 벡터가 1 종 이상의 선택된 숙주세포에서 복제할 수 있도록 만드는 핵산 서열을 함유한다. 이러한 서열은 다양한 세균, 효모 및 바이러스에 대해 공지되어 있다. 플라스미드 pBR322로부터의 복제 개시점은

대부분의 그람 음성 세균에 적합하고, 2μ 플라스미드 복제 개시점은 효모에 적합하고, 다양한 바이러스 복제 개시점(SV40, 폴리오마, 아데노바이러스, VSV 또는 BPV)은 포유동물 세포에서 벡터를 클로닝하는데 유용하다.

발현 및 클로닝 벡터는 통상적으로 선별가능 마커로도 불리우는 선별 유전자를 함유할 것이다. 대표적인 선별 유전자(예를 들어, 바실러스의 경우 D-알라닌 라세마제를 코딩하는 유전자)는 (a) 항생제 또는 기타 독소, 예를 들어 앰피실린, 네오마이신, 메토트렉세이트 또는 테트라싸이클린에 내성을 부여하는 단백질, (b) 영양요구성 결함을 보완하는 단백질, 또는 (c) 복합 배지에서 입수할 수 없는 필수 영양물질을 공급하는 단백질을 코딩한다.

포유동물 세포에 적합한 선별가능 마커의 예에는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 코딩 핵산을 수용할 수 있는 세포를 확인할 수 있게 하는 것, 예를 들어 DHFR 또는 티미딘 키나아제가 있다. 야생형 DHFR이 이용될 경우, 적합한 숙주세포는 DHFR 활성이 결여된 CHO 세포주이고, 이는 문헌(Urlaub et al, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:4216(1980))에 기재된 바와 같이 제조 및 증식된다. 효모에 사용하는데 적합한 선별 유전자는 효모 플라스미드 YRp7에 존재하는 *trp1* 유전자이다(Stinchcomb et al., Nature, 282:39(1979); Kingsman et al., Gene, 7:141(1979); Tschemper et al., Gene, 10:157(1980)). *trp1* 유전자는 트립토판 존재시 생장능이 결여된 효모의 변이주(예를 들어, ATCC 44076 또는 PEP4-1[Jones, Genetics, 85: 12 (1977)])에 대한 선별 마커를 제공한다.

발현 및 클로닝 벡터는 일반적으로 mRNA 합성을 유도하는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 코딩 핵산 서열에 작동가능하게 연결된 프로모터를 함유한다. 다양한 숙주세포에 의해 인식되는 프로모터는 공지되어 있다. 원핵생물 숙주에 사용하기에 적합한 프로모터에는 β-락타마제 및 락토스 프로모터 시스템(Chang et al., Nature, 275:615 (1978); Goeddel et al., Nature, 281:544 (1979)), 알칼리 포스파타제, 트립토판 (trp) 프로모터 시스템(Goeddel, Nucleic acid Res., 8:4057 (1980); EP 제36,776호), 및 tac 프로모터(deBoer et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 80:21-25 (1983))와 같은 하이브리드 프로모터가 포함된다. 또한, 세균 시스템에서 사용되는 프로모터는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262를 코딩하는 DNA에 작동가능하게 연결된 샤인-달가노(S.D.) 서열을 함유할 것이다.

효모 숙주에 사용하기 적합한 프로모터 서열의 예에는 3-포스포글리세레이트 키나아제(Hitzeman et al., J. Biol. Chem., 255:2073 (1980)) 또는 다른 당분해 효소(Hess et al., J. Adv. Enzyme Reg., 7:149(1968); Holland, Biochemistry, 17:4900 (1978)), 예를 들어 에놀라제, 글리세르알데히드-3-포스페이트 데히드로게나제, 헥소키나아제, 피루베이트 디카르복실라제, 포스포프럭토키나아제, 글루코스-6-포스페이트 이소머라제, 3-포스포글리세레이트 뮤타아제, 피루베이트 키나아제, 트리오스포스페이트 이소머라제, 포스포글루코스 이소머라제 및 글루코키나아제에 대한 프로모터가 포함된다.

생장 조건에 의해 전사가 조절된다는 추가의 이점을 갖는 유도가능한 프로모터인 기타 효모 프로모터로는 알코올 데히드로게나제 2, 이소시토크롬 C, 산 포스파타제, 질소 대사에 관련된 분해 효소, 메탈로티오네인, 글리세르알데히드-3-포스페이트 데히드로게나제, 및 말토스 및 갈락토스 이용에 작용하는 효소에 대한 프로모터 영역이 있다. 효모에서의 발현에 사용하기 적합한 벡터 및 프로모터는 추가로 EP 제73,657호에 기재되어 있다.

포유동물 숙주세포내 벡터로부터의 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 전 사는 바이러스, 예를 들어 폴리오마 바이러스, 포울폭스 바이러스 (1989년 7월 5일 공고된 UK 제2,211,504호), 아데노바이러스(예를 들어, 아데노바이러스 2), 소 파필로마 바이러스, 조류 육종 바이러스, 싸이토메갈로바이러스, 레트로바이러스, B형 간염 바이러스 및 원숭이 바이러스 40 (SV40)의 게놈으로부터 얻어진 프로모터, 이종 포유동물 프로모터(예를 들어, 액틴 프로모터 또는 면역글로불린 프로모터)로부터 얻어진 프로모터, 및 열-충격 프로모터로부터 얻어진 프로모터에 의해, 숙주세포 시스템에 적합하다는 조건하에 조절된다.

고등 진핵세포에 의한 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262를 코딩하는 DNA의 전사는 인핸서 서열을 벡터에 삽입함으로써 증가될 수 있다. 인핸서는 일반적으로 전사를 증가시키기 위해 프로모터에 대해 작용하는, 약 10 내지 300 bp의 시스-액팅 DNA 성분이다. 많은 인핸서 서열은 포유동물 유전자(글로빈, 엘라스타제, 알부민, α-페토단백질 및 인슐린)로부터 유래하는 것으로 알려져 있다. 그러나, 통상적으로는 진핵세포 바이러스로부터 유래한 인핸서를 사용한다. 그 예에는 복제 개시점의 뒷부분에 있는 SV40 인핸서(bp 100-270), 싸이토메갈로바이러스 초기 프로모터 인핸서, 복제 개시점의 뒷부분에 있는 폴리오마 인핸서, 및 아데노바이러스 인핸서가 포함된다. 인핸서는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, P

RO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 코 딩 서열의 5' 또는 3' 위치에서 벡터로 스플라이싱될 수 있지만, 프로모터의 5' 부위에 위치하는 것이 바람직하다.

또한, 진핵생물 숙주세포(효모, 진균, 곤충, 식물, 동물, 인간 또는 다른 다세포 생물로부터 유래한 다핵 세포)에 사용되는 발현 벡터는 전사 종결 및 mRNA 안정화에 필요한 서열을 포함할 수 있다. 그러한 서열은 통상적으로 진핵세포 또는 바이러스의 DNA 또는 cDNA의 5' 및 때로는 3' 비번역 영역으로부터 입수된다. 이들 영역은 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262를 코딩하는 mRNA의 비번역 부분에서 폴리아데닐화 단편으로서 전사되는 뉴클레오티드 세그먼트를 포함한다.

재조합 척추동물 세포 배양에서 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262의 합성에 적용하는데 적합한 다른 방법, 벡터 및 숙주세포는 문헌(Gething et al., Nature, 293:620-625 (1981); Mantei et al., Nature, 281:40-46 (1979); 유럽 특허 제117,060호 및 동 제117,058호)에 기재되어 있다.

d. 유전자 증폭 및 발현의 검출

유전자 증폭 및(또는) 발현은 본원에서 제공된 서열을 기초로 하여 적절하게 표지된 프로브를 사용하여, 예를 들어 종래의 서던 블롯팅, mRNA의 전사를 정량하기 위한 노던 블롯팅(Thomas, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:5201-5205 (1980)), 도트 블롯팅(DNA 분석) 또는 원래 위치에서의(*in situ*) 혼성화에 의해 샘플에서 직접 측정할 수 있다. 별법으로, DNA 이중체(duplex), RNA 이중체, 및 DNA-RNA 하이브리드 이중체 또는 DNA-단백질 이중체를 비롯한 특정 이중체를 인식할 수 있는 항체를 사용할 수 있다. 바꾸어 말하면, 항체를 표지하고, 상기 이중체를 표면에 결합시켜, 표면 상에 결합체가 형성될 때 이중체에 결합한 항체의 존재를 검출할 수 있는 분석을 수행할 수 있다.

별법으로, 유전자 발현은 세포 또는 조직 단면의 면역조직화학적 염색과 같은 면역학적 방법, 및 유전자 산물의 발현을 직접 정량하기 위한 세포 배양액 또는 체액의 분석에 의해 측정할 수 있다. 면역조직화학적 염색 및(또는) 샘플 유체의 분석에 유용한 항체는 모노클로날 또는 폴리클로날 항체일 수 있고, 이들은 임의의 포유동물에서 제조할 수 있다. 편리하게는, 천연 서열 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드, 본원에서 제공된 DNA 서열 기재의 합성 펩티드, 또는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 DNA에 융합된 특정 항체 에피토프를 코딩하는 외래 서열에 대한 항체를 제조할 수 있다.

e. 폴리펩티드의 정제

PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262의 형태는 배양 배지 또는 숙주세포 용해액으로부터 회수될 수 있다. 세포막에 결합된 경우, 적합한 세제 용액 (예를 들어, Triton-X 100)을 사용하거나 효소를 이용한 절단에 의해 세포막으로부터 분리될 수 있다. PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262의 발현에 사용된 세포는 동결-해동 싸이클, 초음파 처리, 기계적 분쇄 또는 세포 용해제와 같은 다양한 물리적 또는 화학적 수단에 의해 분쇄시킬 수 있다.

재조합 세포 단백질 또는 폴리펩티드로부터 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262를 정제하는 것이 바람직할 수 있다. 적합한 정제 방법의 예로는 이온 교환 컬럼 상에서의 분획화, 에탄올 침전, 역상 HPLC, 실리카 또는 양이온 교환 수지(예를 들어, DEAE) 상에서의 크로마토그래피, 크로마토포커싱, SDS-PAGE, 황산암모늄 침전, 세파덱스(Sephadex) G-75를 사용한 겔 여과, IgG와 같은 오염물질을 제거하기 위한 단백질 A 세파로스 컬럼, 및 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262의 에피토프 태그 형태를 결합시키기 위한 금속 킬레이팅 컬럼이 있다. 다양한 단백 질 정제 방법을 사용할 수 있고, 이러한 방법은 당업계에 공지되어 있으며, 예를 들어 문헌(Deutscher, Methods in Enzymology, 182 (1990); Scopes, Protein Purification: Principles and Practice, Springer-Verlag, New York (1982))에 기재되어 있다. 선택되는 정제 단계(들)은, 예를 들어 사용되는 생산 방법 및 생산되는 특정 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, P

RO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262의 특성에 따라 결정될 것이다.

E. 종양 조직 및 세포주에서 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드를 코딩하는 유전자의 증폭

본 발명은 특정 암 세포에서 증폭되는 유전자의 확인 및 특성 분류에 기초한 것이다.

원핵생물 및 진핵생물의 게놈은 표면상 모순되는 두 요구조건하에 놓인다. 하나는 여러 세대를 거치면서 안정한 유전성이 보존되도록 유전 정보인 DNA를 원형대로 보존 및 증식시켜야 한다는 것이며, 다른 하나는 세포 또는 유기체가 환경 변화를 견딜 수 있어야 한다는 것이다. 환경 변화를 견디는 메카니즘으로는 유전 물질의 정성 또는 정량적 변화가 있다. 정성적 변화로는 코딩 서열이 변형되어 구조적 및(또는) 기능적으로 상이한 단백질을 생성시키는 DNA 돌연변이가 있다. 유전자 증폭은 완전한 코딩 서열, 즉 유전자의 실질적인 수가 증가하여 전사에 이용될 수 있는 주형의 수가 증가하고, 변역가능한 전사물 수가 증가하여 결국에는 증폭 유전자에 의해 코딩되는 단백질이 풍부해지는 정량적 변화이다.

유전자 증폭의 현상 및 그의 주요 메카니즘은 다수의 원핵생물 및 진핵생물 배양 시스템에서 시험관내 연구하였다. 유전자의 증폭의 가장 전형적인 예로는 세포독성 약물인 메토트렉세이트(MTX)의 농도를 달리하여 함유하는 배지중의 진핵세포 배양액이 포함된다. MTX는 폴산 유사체이며, 효소인 디히드로폴레이트 리덕타제(DHFR)를 블록킹하여 DNA 합성을 방해하는 물질이다. 낮은 농도의 MTX에 초기 노출되는 동안, 대부분의 세포(99.9%를 넘음)가 사멸된다. 소수의 세포만이 살아남고, 이들은 다량의 DFHR-RNA 및 단백질을 생성하여 증가되는 MTX 농도에서 생장할 수 있다. 이러한 과다생성은 단일 DHFR 유전자의 증폭을 기초로 한다. 추가의 유전자 복제본은 작은 형태의 염색체외 복제본, 과잉 염색체(이중 음성 가닥) 또는 통합된 염색체 복제본으로 발견된다.

유전자 증폭은 거의 대부분 세포독성 약물(세균의 경우에는 항생제이고, 원핵세포의 경우에는 화학요법제)에 대한 내성의 발현 및 신생물 형질전환 중에 일어난다. 자발적인 사건으로서, 또는 바이러스나 화학 및 환경적 손상으로 인한 원핵세포의 형질전환은 통상 그 세포의 유전 물질의 변화와 관련되어 있다. 인간 악성질환에서 관찰되는 가장 통상적인 유전적 변화중 하나는 p53 단백질의 돌연변이이다. p53은 세포가 정지기(G1)에서 복제기(S)로 전이되는 것을 조절하며, DNA가 손상된 상태에서는 이러한 전이가 저해된다. 즉, p53 돌연변이를 무력하게한 결과로 주요한 것은 DNA 손상의 축적 및 증가, 즉 유전적 변화이다. 점 돌연변이외에, 신 생물 세포에서 유전적 변화의 통상적인 유형은 증폭 및 전체적 구조 변형, 예를 들어 전좌이다.

DNA 서열의 증폭은 DHFR 실험계에서 예시된 바와 같이 특정 기능적 요구조건을 나타낼 수 있다. 따라서, 악성에서의 특정 종양유전자의 증폭은 악성 형질전환 및 형질전환된 표현형의 유지 과정에서 원인이 되는 상기 유전자의 역할에 대한 것이다. 이 이론은 최근 연구에 의해 지지되고 있다. 예를 들어, *bcl-2* 단백질은 특정 유형의 비-호지킨 림프종에서 증폭되는 것으로 밝혀졌다. 이 단백질은 아팝토시스를 억제하고, 신생물 세포를 점차적으로 축적시킨다. 생장인자 수용체의 유전자 족에 속하는 부류는 각종 유형의 암에서 증폭되는 것을 밝혀졌는데, 이는 상기 수용체의 과다발현이 이용가능한 생장 인자의 양을 제한하는데에 신생물 세포를 덜 민감게 하는 것임을 시사하는 것이다. 그 예로는 안드로겐 제거 요법 도중 재발된 전립선암에서의 안드로겐 증폭 및 유방암에서 ERB2와 유사한 생장 인자 수용체의 증폭이 있다. 최근, 세포내 신호전달 및 세포 주기 진행의 조절에 관련된 유전자가 악성 형질전환 도중 증폭될 수 있는 것으로 밝혀졌다. 이러한 것은 각종 상피 및 림프 신생물에서의 *bcl-1* 및 *ras* 유전자에 의해 예시된다.

초기 연구에서는, 그러한 연구를 통해 악성 형질전환에 중요한 유전자를 확인할 수 있기 때문에 신생물에서 증폭된 DNA 서열의 확인 가능성을 예시하였다. ERB2의 경우에는 형질전환 단백질이 종양 치료 요법에 대해 특이적인 신규 표적이기 때문에 치료요법 견지에서의 실행가능성도 보여준다.

증폭된 게놈 서열을 증명하는데 다수의 상이한 기술을 이용할 수 있다. 암 세포로부터 제조된 염색체 스프레드의 고전적인 세포유전적 분석은 전체적 구조 변형, 예를 들어, 전좌, 결실 및 전위를 확인하는데 적합하다. 증폭된 게놈 영역은 많은 수의 복제본을 가지거나 염색체외 물질로 존재하는 경우에만 가시화될 수 있다. 세포유전학은 특정 신생물과 특이적 염색체 변화가 일정한 관계에 있음을 보여준 최초의 기술이지만, 취급이 용이한 DNA 서열의 확인 및 단리에는 부적합한다. 비교 게놈 혼성화(CGH; comparative genomic hybridization)라는 보다 근래 개발된 기술은 신생물에서 게놈 증폭의 만연된 현상을 예시하고 있다. 종양 및 정상 DNA는 분열 중기의 정상 세포에 동시에 혼성화되고, 전체 게놈은 종양에 높은 빈도수로 존재하는 DNA 서열을 영상 분석함으로써 스크리닝할 수 있다(국제 공개 제WO93/18,186호; Gray et al., Radiation Res., 137:275-289[1994]). 스크리닝 방법으로서, 이러한 유형의 분석은 각종 인간 신생물에 존재하는 많은 수의 재발생 앰플리콘(복제된 DNA의 스트레치)을 밝혀내었다. CGH는 증폭된 DNA의 스트레치를 확인하는데 있어 전형적인 세포유전적 분석보다 더 민감하지만, 표준 분자유전학적 분석으로 앰플리콘 내의 코딩 서열을 신속하게 확인 및 단리할 수는 없다.

유전자 앰플리콘을 검출하는 가장 민감한 방법은 중합효소 연쇄 반응(PCR)을 기초로 한 분석이다. 이 분석법은 매우 소량의 종양 DNA를 출발 물질로 사용하며, 매우 민감하고, 서열분석 등 추가로 분석할 수 있는 DNA를 제공하며, 고-처리량 분석에 적합하다.

상술한 분석법들이 상호 배타적인 것은 아니며, 종종 신생물내 증폭을 확인하는데 조합하여 사용한다. 세포유전적 분석 및 CGH는 증폭된 영역을 위해 전체 게놈을 조사하는 방법을 대표하지만, PCR을 기초로 한 분석은 증폭된 영역내 코딩 서열, 즉 유전자의 최종 확인을 위해 가장 적합하다.

본 발명에 따라, 상기 유전자는 유방암, 폐암, 결장암, 전립선암, 뇌암, 간암, 신장암, 췌장암, 비장암, 흉선암, 고환암, 난소암, 자궁암 등을 비롯한 다양한 원발성 종양, 종양 또는 종양 세포주로부터의 DNA와 건강한 공여자로부터 모아진 DNA를 비교하여 정량적 PCR(S. Gelmini et al., Clin. Chem., 43:752[1997])로 확인하였다. 정량적 PCR은 택맨(TaqMan) 장치(ABI)를 이용하여 수행하였다. 유전자 특이적 프라이머 및 형광 프로브는 DNA의 코딩 서열을 기초로 설계하였다.

인간 폐 암종 세포주로는 A549(SRCC768), Calu-1(SRCC769), Calu-6(SRCC770), H157(SRCC771), H441(SRCC772), H460(SRCC773), SKMES-1(SRCC774), SW900(SRCC775), H522(SRCC832) 및 H810(SRCC833)이 있으며, 모두 ARCC로 부터 입수할 수 있다. 원발성 인간 폐 종양 세포는 통상 선암종, 편평세포 암종, 대세포 암종, 비-소세포 암종, 소세포 암종 및 기관지 폐포 암종으로부터 유래되며, 그의 예로는 SRCC724(선암종, 약어 'AdenoCa')(LT1), SRCC725(편평세포 암종, 약어 'SqCCa')(LT1a), SRCC726(선암종)(LT2), SRCC727(선암종)(LT3), SRCC728(선암종)(LT4), SRCC729(편평세포 암종)(LT6), SRCC730(선암종/편평세포 암종)(LT7), SRCC731(선암종)(LT9), SRCC732(편평세포 암종(LT10), SRCC733(편평세포 암종)(LT11), SRCC734(선암종)(LT12), SRCC735(선암종/편평세포 암종)(LT13), SRCC736(편평세포 암종)(LT15), SRCC737(편평세포 암종)(LT16), SRCC738(편평세포 암종)(LT17), SRCC739(편평세포 암종)(LT18), SRCC740(편평세포 암종)(LT19), SRCC741(폐 세포 암종, 약어 'LCCa')(LT21), SRCC811(선암종)(LT22), SRCC825(선암종)(LT8), SRCC886(선암종)(LT25), SRCC887(편평세포 암종)(LT26), SRCC888(선-BAC 암종)(LT27), SRCC889(편평세포 암종)(LT28), SRCC890(편평세포 암종)(LT29), SRCC891(선암종)(LT30), SRCC892(편평세포 암종)(LT31) 및 SRCC894(선암종)(LT33)이 있다. 또한, SRCC1125 [HF-000631], SRCC1127 [HF-000641], SRCC1129 [HF-000643], SRCC1133 [HF-000840], SRCC1135 [HF-000842], SRCC1227 [HF-001291], SRCC1229 [HF-001293], SRCC1230 [HF-001294], SRCC1231 [HF-001295], SRCC1232 [HF-001296], SRCC1233 [HF-001297], SRCC1235 [HF-001299] 및 SRCC1236 [HF-001300]로 표시되는 인간 폐 종양도 포함된다.

결장 암 세포주로는 예를 들어, ATCC 세포주 SW480(선암종, SRCC776), SW620(결장 선암종의 림프절 전이, SRCC777), Colo320(암종, SRCC778), HT29(선암종, SRCC779), HM7(UCSF의 로버트 워렌(Dr. Robert Warren)으로부터 얻은 ATCC 결장 선암종 세포주의 뮤신 다생성 변이체인 SRCC780), CaWiDr(선암종, SRCC781), HCT116(선암종, SRCC782), SKCO1(선암종, SRCC783), SW403(선암종, SRCC784), LS174T(암종, SRCC785), Colo205(암종, SRCC828), HCT15(암종, SRCC829), HCC2998(암종, SRCC830) 및 KM12(암종, SRCC831)가 포함된다. 원발성 결장 종양으로는 CT2(SRCC742), CT3(SRCC743), CT8(SRCC744), CT10(SRCC745), CT12(SRCC746), CT14(SRCC747), CT15(SRCC748), CT16(SRCC749), CT17(SRCC750), CT1(SRCC751), CT4(SRCC752), CT5(SRCC753), CT6(SRCC754), CT7(SRCC755), CT9(SRCC756), CT11(SRCC757), CT18(SRCC758), CUT19(선암종, SRCC906), CT20(선암종, SRCC907), CT21(선암종, SRCC908), CT22(선암종, SRCC909), CT23(선암종, SRCC910), CT24(선암종, SRCC911), CT25(선암종, SRCC912), CT26(선암종, SRCC913), CT27(선암종, SRCC914), CT28(선암종, SRCC915), CT29(선암종, SRCC916), CT30(선암종, SRCC917), CT31(선암종, SRCC918), CT32(선암종, SRCC919), CT33(선암종, SRCC920), CT35(선암종, SRCC921) 및 CT36 (선암종, SRCC922)로 표시되는 결장 선암종이 포함된다. 또한, SRCC1051 [HF-000499], SRCC1052 [HF-000539], SRCC1053 [HF-000575], SRCC1054 [HF-000698], SRCC1142 [HF-000762], SRCC1144 [HF-000789], SRCC1146 [HF-000795] 및 SRCC1148 [HF-000811]로 표시되는 인간 결장암 중심부가 포함된다.

인간 유방 암종 세포주로는 예를 들어, HBL100(SRCC759), MB435s(SRCC760), T47D(SRCC761), MB468(SRCC762), MB175(SRCC763), MB361(SRCC764), BT20(SRCC765), MCF7(SRCC766) 및 SKBR3(SRCC767), 및 SRCC1057[HF-000545]로 표시되는 인간 유방 종양 중심부가 포함된다. 또한, SRCC1094, SRCC1095, SRCC1096, SRCC1097, SRCC1098, SRCC1099, SRCC1100 및 SRCC1101로 표시되는 인간 유방 종양, 및 SRCC893[LT32]으로 표시되는 인간 유방-전이-폐-NS 종양도 포함된다.

인간 신장 종양 중심부로는 SRCC989[HF-000611] 및 SRCC1014[HF-000613]이 포함된다.

인간 정소 종양 중심부로는 SRCC1001[HF-000733], 고환 종양 주변부로는 SRCC999[HF-000716]이 포함된다.

인간 부갑상선 종양으로는 SRCC1002[HF-000831] 및 SRCC1003[HF-000832]가 포함된다.

F. 조직 분포

본원의 유전자 증폭 분석 결과는 추가의 연구, 예를 들어, 각종 인간 조직에서의 mRNA 발현을 측정하여 입증할 수 있다.

상기한 바와 같이, 각종 조직에서의 유전자 증폭 및(또는) 유전자 발현은 본원에 제공된 서열을 기초로 하여 적절히 표지된 프로브를 사용하여 통상의 서던 블롯팅, mRNA 전사의 정량을 위한 노던 블롯팅(Thomas, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 77:5201-5205[1980]), 도트 블롯팅(DNA 분석), 또는 원래 위치에서의 혼성화로 측정할 수 있다. 또한, DNA 이중체, RNA 이중체 및 DNA-RNA 하이브리드 이중체 또는 DNA-단백질 이중체를 비롯한 특이적 이중체를 인식할 수 있는 항체를 사용할 수 있다.

별법으로, 각종 조직의 유전자 발현은 세포 또는 조직 단면의 면역조직화학적 염색과 같은 면역학적 방법, 및 세포 배양액 또는 체액의 분석에 의해 유전자 산물의 발현을 직접 정량할 수 있다. 면역조직화학적 염색 및(또는) 샘플 유체의 분석에 유용한 항체는 모노클로날 또는 폴리클로날 항체일 수 있고, 이들은 어떠한 포유동물에서도 제조할 수 있다. 편리하게는, 천연 서열 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드에 대한 항체, 본원에서 제공되는 DNA 서열 기재의 합성 펩티드에 대한 항체, 또는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 DNA에 융합되어 특정 항체 에피토프를 코딩하는 외생성 서열에 대한 항체를 제조할 수 있다. 항체를 생성하는 일반 기술, 및 노던 블롯팅 및 원래 위치에서의 혼성화에 대한 특정 프로토콜은 하기에 제시하였다.

G. 염색체 지도화

소정의 유전자의 증폭이 기능적으로 관련되어 있는 경우, 그 유전자는 종양 생존에 중요하지 않은 인접 게놈 영역보다 더 증폭된다. 이를 시험하기 위해, 유전자는 예를 들어, 방사선-하이브리드 분석으로 특정 염색체에 대해 지도화될 수 있다. 이어서, 증폭 정도는 확인된 지역 및 인접 게놈 영역에서 측정한다. 유전자가 지도화된 게놈 영역에서의 선택적 또는 우선적 증폭은, 관찰된 유전자 증폭이 종양 생장 또는 생존을 촉진시킬 수 있다는 가능성과 일치한다. 염색체 지도화로는 프레임워크 및 에피센터 지도화가 있다. 추가의 상세한 설명은 예를 들어, 문헌(Stewart et al., Genome Research, 7:422-433 (1997))을 참조한다.

H. 항체 결합 연구

유전자 증폭 연구 결과는 항-PRO381, 항-PRO1269, 항-PRO1410, 항-PRO1755, 항-PRO1780, 항-PRO1788, 항-PRO3434, 항-PRO1927, 항-PRO3567, 항-PRO1295, 항-PRO1293, 항-PRO1303, 항-PRO4344, 항-PRO4354, 항-PRO4397, 항-PRO4407, 항-PRO1555, 항-PRO1096, 항-PRO2038 또는 항-PRO2262 항체가 종양(암) 세포에서 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 발현 억제 능력을 시험하는 항체 결합 연구로 더 입증할 수 있다. 항체의 예로는 폴리클로날, 모노클로날, 인간화, 이중특이적 및 이종접합 항체가 있으며, 그 제조 방법은 하기에 기재될 것이다.

항체 결합 연구는 임의의 공지된 분석 방법, 예를 들어, 경쟁 결합 분석, 직접 및 간접 샌드위치 분석, 및 면역침전 분석으로 수행할 수 있다(Zola, Monoclonal Antibodies: A Manual of Techniques, pp.. 147-158(CRS Press, Inc., 1987)).

경쟁 결합 분석은 제한된 양의 항체와 결합하는데 있어서 시험 샘플 분석물과과 경쟁하는 표지된 표준 물질의 능력에 좌우된다. 시험 샘플중 표적 단백질(종양 세포에서 증폭 유전자에 의해 코딩됨)의 양은 항체에 결합하게 되는 표준 물질의 양에 반비례한다. 결합하게 되는 표준 물질의 양 측정을 용이하게 하기 위해, 항체를 경쟁전 또는 후에 불용화시켜, 항체에 결합하는 표준 물질 및 분석물이 결합되지 않은 채로 남아있는 표준 물질 및 분석물로부터 쉽게 분리될 수 있도록 하는 것이 바람직하다.

샌드위치 분석은 각각 검출할 단백질의 상이한 면역원 부분 또는 에피토프에 결합할 수 있는 두 항체를 사용하는 방법과 관련되어 있다. 샌드위치 분석에서, 시험 샘플 분석물은 고상 지지체상에 고정되는 제1 항체에 의해 결합되고, 그 후 분석물에 제2 항체가 결합됨에 따라, 불용성 3부 결합체를 형성한다. 예를 들어, 미국 특허 제4,376,110호를 참조한다. 제2 항체는 그 자체로 검출가능한 잔기로 표지(직접 샌드위치 분석)할 수 있거나, 또는 검출가능한 부분에 의해 표지된 항-면역글로불린 항체를 사용하여 (간접 샌드위치 분석) 측정할 수 있다. 예를 들어, 샌드위치 분석의 한 유형은 ELISA 분석이며, 이 경우 검출가능한 잔기는 효소이다.

면역조직화학에서, 종양 샘플은 신선한 상태이거나 또는 냉동된 상태일 수 있으며, 또는 파라핀에 매몰시키거나 포르말린과 같은 방부제로 고정시킬 수 있다.

I. 세포 기재의 종양 분석

종양(예를 들어, 암)에 대한 세포 기재 분석 및 동물 모델은 유전자 증폭 분석에서 발견된 사항을 입증하고 본원에서 확인된 유전자와 신생물 세포 생장의 발달 및 병인 사이의 관계를 더 이해하는데 이용할 수 있다. 종양 세포 또는 암의 발생 및 병인에 있어 본원에서 확인된 유전자 산물의 역할은 본원에서 유전자를 증폭하기 위해 확인된 원발성 종양 세포 또는 세포주를 사용하여 시험할 수 있다. 그러한 세포로는 예를 들어, 유방, 결장 및 폐 암세포, 및 상기 열거된 세포주가 있다.

또다른 연구에서, 특정 종양에 관련된 것으로 공지된 세포 유형의 세포는 본원에서의 cDNA로 형질감염시키고, 이 cDNA가 과도한 생장을 유도해내는 능력을 분석한다. 적합한 세포로는 예를 들어, B104-1 세포주(*neu* 원시 종양유전자로 형질감염된 안정한 NIH-3T3 세포주) 및 *ras* 로 형질감염된 NIH-3T3 세포와 같은 안정한 종양 세포주가 있으며, 이들은 목적하는 유전자로 형질감염될 수 있고, 종양원성 생장을 모니터링할 수 있다. 이어서, 상기 형질감염된 세포주는 형질전환된 세포 의 생장에 세포정지 또는 세포독성 활성을 발휘하거나, 또는 항체 의존성 세포의 세포독성(ADCC)을 발휘하여 종양원성 생장을 억제하는 폴리클로날 또는 모노클로날 항체 또는 항체 조성물의 능력을 시험하는데 사용할 수 있다. 본원에서 확인된 유전자의 코딩 서열로 형질감염된 세포는 추가로 암 치료를 위한 후보 약물을 확인하는데 사용할 수 있다.

또한, 안정한 세포주가 바람직하기는 하지만, 트랜스제닉 동물(transgenic animal, 하기 기재된 바와 같음)의 종양으로부터 유래된 1차 배양액이 세포 기재의 분석에서 사용될 수 있다. 트랜스제닉 동물로부터 연속성 세포주를 유도해내는 기술은 당업계에 잘 공지되어 있다(예를 들어, 문헌 (Small et al., Mol. Cell. Biol., 5:642-648 (1985)) 참조).

J. 동물 모델

잘 공지되어 있는 각종 동물 모델은 종양의 발생 및 병인에 있어서 본원에서 확인된 유전자의 역할을 더 이해하고, 항체를 비롯한 후보 치료제 및 소분자 길항제를 비롯한 천연 폴리펩티드의 다른 길항제의 효능을 시험하는데 사용할 수 있다. 특히, 상기 분자의 생체내 특성으로 인해 인간 환자에서의 반응을 예측할 수 있다. 종양 및 암(예를 들어, 유방암, 결장암, 전립선암, 폐암 등)의 동물 모델로는 비-재조합 및 재조합 (트랜스제닉) 동물이 있다. 비-재조합 동물로는 설치류 모델, 예를 들어 쥐과 동물 모델이 있다. 상기 모델은 표준 기술, 예를 들어 피하 주사, 꼬리 정맥 주사, 비장 이식, 복강내 이식, 신장 캡슐의 이식, 또는 오르토핀(orhtopin) 이식(예를 들어, 결장 조직에 이식된 결장 암 세포)을 이용하여 종양 세포를 순계 생쥐에 도입하여 제조한다(예를 들어, 1997년 9월 18일에 공개된 PCT 국제 출원 국제 공개제 WO97/33551호 참조).

종양유전자 연구에 가장 흔하게 사용되는 동물은 면역결핍된 생쥐, 특히 누드 생쥐(nude mouse)일 것이다. 인간 종양 이종이식에 대한 숙주로 성공적으로 작용하는 과다증 및 결여증이 있는 누드 생쥐를 관찰한 결과 본 발명의 목적을 위해 광범위하게 사용할 수 있음을 알았다. 상염색체 열성 *nu* 유전자는 많은 수의 누드 생쥐의 각 친화종(예를 들어, ASW, A/He, AKR, BALB/c, B10.LP, C17, C3H, C57BL, C57, CBA, DBA, DDD, I/st, NC, NFR, NFS, NFS/N, NZB, NZC, NZW, P, RIII 및 SJL)으로 도입하였다. 또한, 누드 생쥐 이외에 유전적으로 면역학적 결함이 있는 광범한 범위의 다른 동물을 번식시켜 이종 이식의 수용체로 사용하였다. 더 상세한 사항은 예를 들어, 문헌(The Nude Mouse in Oncology Research, E. Boven and B. Winograd, eds., CRC Press, Inc. 1991)을 참조한다.

상기 동물로 도입된 세포는 공지된 종양 또는 암 세포, 예를 들어 상기 열거된 종양 세포주라면 어떠한 것이든지, 예를 들어, B104-1 세포주(*neu* 원시 종양유전자로 형질감염된 안정한 NIH-3T3 세포주); *ras* 로 형질감염된 NIH-3T3 세포; Caco-2(ATCC HTB-37); 적당히 잘 분화된 등급 II 인간 결장 선암종 세포주, HT-29(ATCC HTB-38), 또는 종양 및 암으로부터 유래될 수 있다 . 종양 또는 암 세포의 샘플은 수술중인 환자로부터, 이를 냉동시켜 액체 질소중에 저장하는 방법을 포함하는 표준 조건으로 얻을 수 있다(Karmali et al, Br. J. Cancer, 48:689-696[1983]).

종양 세포는 각종 방법을 이용하여 동물, 예를 들어 누드 생쥐로 도입할 수 있다. 생쥐에서의 피하 공간은 종양 이식에 매우 적합하다. 종양은 고상 블록으로서, 투관침을 사용한 침상 바이옵시(biopsy)로, 세포 현탁액으로서 이식할 수 있다. 고상 블록 또는 투관침 이식의 경우, 적합한 크기의 종양 조직 단편을 피하 공간으로 도입한다. 세포 현탁액은 원발성 종양 또는 안정한 종양 세포주로부터 새로 제조하여 피하 주사한다. 종양 세포는 또한 경피하 이식체로서 주사할 수 있다. 이 위치에서, 접종물은 경피 연결 조직과 피하 조직의 하부 사이에 침착된다. 상기 문헌(Boven and Winograd(1991))을 참조한다.

유방암의 동물 모델은 본질적으로는 문헌(Drebin et al., PNAS USA, 83:9129-9133 (1986))에 기재된 바와 같이, 예를 들어 (*neu* 종양유전자가 최초로 단리된) 쥐 신경모세포종 세포 또는 *neu* 로 형질전환된 NIH-3T3 세포를 누드

생쥐로 이식하여 제조할 수 있다.

이와 유사하게, 결장암의 동물 모델은 결장 암 세포를 동물, 예를 들어 누드 생쥐에 유입시켜 동물에 종양 형상을 일으킨다. 누드 생쥐내 사람 결장암의 동소이식 이식체 모델은, 예를 들어 문헌(Wang et al., Cancer Research, 54:4726-4728(1994) 및 Too et al., Cabcer Research, 55:681-684(1995))에 기재되어 있다. 이 모델은 안티캔서 인크(AntiCancer Inc.; 미국 캘리포니아주 샌디에고 소재) 제품의 소위 메타마우스(METAMOUSE)에 기초한 것이다.

동물 모델에서 유도된 종양은 제거할 수 있으며 시험관내 배양할 수 있다. 이어서, 시험관내 배양된 세포를 동물로 유입시킨다. 상기 종양은 추가의 시험 또 는 약물 스크리닝을 위한 표적으로 이용될 수 있다. 또한, 그와 같은 유입으로부터 유도된 종양은 단리할 수 있고, 예비 유입 세포로부터의 RNA 및 1 주기 이상의 유입 전후에 단리된 세포에 대해 관심있는 유전자의 차등적 발현을 분석한다. 상기 유입 기술은 공지된 어떠한 종양 또는 암 세포에서든지 수행할 수 있다.

예를 들어, Meth A, CMS4, CMS5, CMS21 및 WEHI-164는 BALB/c 암컷 생쥐(DeLeo et al., J. Exp. Med., 146:720[1997])의 화학적으로 유도된 섬유육종이며, 이는 각종 물질의 항-종양 활성을 연구하는데 고도로 조절가능한 모델 시스템을 제공한다(Palladino et al., J. Immunol., 138:4023-4032 [1987]). 요컨데, 종양 세포는 세포 배양액에서 시험관내 증식한다. 동물로 주사하기전에 세포주를 세척하고, 완충액에 약 10x10 ^{6} 내지 10x10 ^{7} 세포/㎖의 세포 밀도로 현탁시킨다. 이어서, 동물 모델은 세포 현탁액 10 내지 100 ㎕로 피하 주사하여 종양이 1 내지 3 주 후에 나타나도록 한다.

또한, 가장 활발히 연구된 것중 하나인 생쥐의 루이스 폐(3 LL) 암종을 연구용 종양 모델로 사용할 수 있다. 종양 모델에서의 효능은 폐의 소세포 암종(SCCL)인 것으로 진단된 인간 환자의 치료에 있어서의 유익한 효과와 상관관계가 있다. 이 종양은 병에 걸린 생쥐로부터의 종양 단편 또는 배양액중에 유지된 세포를 주사할 때 정상 생쥐에 도입(Zupi et al., Br. J. Cancer, 41:suppl. 4:309 [1980])될 수 있고, 그와 같은 사실은 종양이 단일 세포를 주사하는 것으로부터도 유발될 수 있으며, 상당한 높은 비율의 감염 종양 세포가 생존할 수 있음을 입증하는 것이다.

종양이 이식된 동물 모델에서 시험 화합물의 효능을 평가하는 한 방식은 처치전 및 후의 종양의 크기를 측정하는 것이다. 전형적으로, 이식된 종양의 크기는 슬라이드 캘리퍼스를 사용하여 2 또는 3 차원으로 측정하였다. 2 차원으로 제한된 측정값은 종양의 크기를 정확히 반영하지 못하기 때문에, 통상 수학식을 이용하여 상응하는 체적으로 환산한다. 그러나, 종양 크기의 측정값은 매우 부정확하다. 후보 약물의 치료 효과는 처치로 유도된 생장의 지연 및 특이적 생장의 지연으로 더 양호하게 설명할 수 있다. 종양 생장의 설명에 있어서의 중요한 다른 변수는 종양이 2 배 체적으로 되기까지 소요되는 시간이다. 종양 생장의 계산 및 설명을 위해 문헌(Rygaard and Spang-Thomsen, Proc. 6th Int. Workshop on Immune-Deficient Animals, Wu and Sheng eds., Basel, 1989, 301)에 보고된 바와 같이 컴퓨터 프로그램을 이용할 수 있다. 그러나, 처치후의 괴사 및 염증 반응은 적어도 초기에 실제적으로 종양 크기를 증가시킬 수 있음을 주의해야 한다. 따라서, 이러한 변화는 형태측정법 및 유동 세포계수법으로 조심스럽게 모니터링할 필요가 있다.

재조합(트랜스제닉) 동물 모델은 트랜스제닉 동물을 제조하기 위한 표준 기술을 이용하여 본원에서 확인된 유전자의 코딩 영역을 관심있는 동물의 게놈으로 유전공학적으로 도입할 수 있다. 트랜즈제닉 조작을 위한 표적으로 이용될 수 있는 동물로는 생쥐, 쥐, 토끼, 기니아 피그, 양, 염소, 돼지, 및 인간을 제외한 영장류(예를 들어, 비비, 침팬치 및 원숭이)가 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 트랜스 유전자(transgene)를 상기와 같은 동물로 도입하는 당업계에 공지된 기술로는 전핵 미세주입(microinjection)(Hoppe 및 Wanger, 미국 특허 제4,873,191호); 생식세포주로의 레트로바이러스 매개된 유전자 전달(예를 들어, Van der Putten et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82:6148-615[1985]); 배아 간세포로의 유전자 표적화(Thompson et al., Cell, 56:313-321[1989]); 배아의 전기천공법(Lo, Mol. Cell Biol., 3:1803-1814[1983]); 정자 매개된 유전자 전달(Lavitrano et al., Cell, 57:717-73[1989])이 있다. 검토를 위해서는, 예를 들어 미국 특허 제4,736,866호를 참조한다

본 발명의 목적상, 트랜스제닉 동물에는 트랜스 유전자를 그 세포에만 갖는 동물('모자이크 동물')이 포함된다. 트랜스 유전자는 단일 트랜스 유전자로서 또는 연쇄체(concatamer)로서(예를 들어, 헤드-투-헤드(head-to-head) 또는 헤드-투-테일(head-to-tail) 텐덤) 통합될 수 있다. 특정 세포 유형으로의 트랜스 유전자의 선택적 도입은 또한, 예를 들어 문헌(Lasko et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:6232-6236[1992])의 기술로 수행할 수 있다.

트랜스제닉 동물에서의 트랜스 유전자의 발현은 표준 기술로 모니터링할 수 있다. 예를 들어, 서던 블롯 분석 또는 PCR 증폭은 트랜스 유전자를 입증하는데 사용할 수 있다. 이어서, mRNA 발현 정도는 원래 위치에서의 혼성화, 노던 블롯 분석, PCR 또는 면역세포화학 등의 기술을 이용하여 분석할 수 있다. 동물을 종양 또는 암 발생의 징후에 대해 더 조사할 수 있다.

또한, 본원에서 확인된 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PR

O3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드를 코딩하는 내생성 유전자와 동물의 배아 세포로 도입된 상기 폴리펩티드를 코딩하는 게놈 DNA사이의 동형 재조합 결과 상기 폴리펩티드를 코딩하는 유전자에 결함이 있거나 변형된 '낙 아웃(knock out)' 동물을 만들 수 있다. 예를 들어, PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드를 코딩하는 cDNA는 확립된 기술에 따라 상기 폴리펩티드를 코딩하는 게놈 DNA를 클로닝하는데 사용할 수 있다. 특정 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드를 코딩하는 게놈 DNA의 일부를 결실시키거나 다른 유전자, 예를 들어 통합을 모니터링하는데 사용될 수 있는 선별가능 마커를 코딩하는 유전자로 치환할 수 있다. 전형적으로, 수 킬로베이스(kb)의 비변형된 인접 DNA(5' 및 3' 말단 모두에서)가 벡터에 포함되어 있다(동형 재조합 벡터의 설명의 경우, 예를 들어 문헌(Thomas and Capecchi, Cell, 51:503 (1987)) 참조). 벡터를 배아 간세포주로(예를 들어, 전기천공법) 도입하고, 도입된 DNA가 내생성 DNA와 함께 동형 재조합된 세포를 선별한다(예를 들어, 문헌(Li et al., Cell, 69:915(1992)). 이어서, 선별된 세포는 동물(예를 들어, 생쥐 또는 쥐)의 포배로 주사하여 집합체 키메라를 형성한다(예를 들어, 문헌(Bradley, in Teratocarcinomas and Embryonic Stem Cells: A Practical Approach, E. J. Robertson, ed.(IRL, Oxford, 1987), pp. 113-152) 참조). 이어서, 키메라 배아를 적합한 가임신 암컷 대리모 동물 및 배로 이식하여 '낙 아웃' 동물을 유도하였다. 생식 세포에 동형 재조합 DNA를 함유하는 자손은 표준 기술로 확인할 수 있고, 동물의 모든 세포가 동형 재조합 DNA를 함유하는 동물을 번식시키는데 사용할 수 있다. 낙 아웃 동물은, 예를 들어 특정 병인적 증상을 방어하는 능력, 및 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 부재로 인한 병인적 증상의 발생을 특징으로 한다.

본원에서 확인된 폴리펩티드 및 다른 후보 약물에 특이적으로 결합하는 항체의 효능은 특발성 동물 종양의 치료에서도 시험할 수 있다. 그러한 연구에 적합한 표적은 고양이과 경구 편평세포 암종(SCC)이다. 고양이과 경구 SCC는 고양이종에서 보고된 경구 종양의 60% 이상을 차지하는 것으로서 가장 흔한 고양이 경구 악성 종양이며 매우 침입성이 강한 악성 종양이다. 원발 부위로 거의 전이되지는 않지만, 이러한 전이의 낮은 발생률은 상기 종양이 있는 고양이의 생존 시간이 짧다는 것을 반영한다. 이 종양은 통상 수술받지 못하는데, 그 주된 이유는 고양이과 구강의 해부학적 구조 때문이다. 현재 이 종양에 대한 효과적인 치료는 없다. 연구에 들어가기 전에 각 고양이를 완전히 임상 조사(생체 검사)하고, 컴퓨터 X선 단층 촬영(computed tomography, CT)으로 검사한다. 설하 경구 편평세포 종양이 있는 것으로 진단된 고양이는 이 연구에서 제외한다. 이러한 종양의 결과 혀가 마비 될 수 있고, 치료를 하여 종양을 사멸시킬지라도, 동물은 음식을 섭취할 수 없다. 각 고양이를 장시간에 걸쳐 반복 처치한다. 처리 기간 동안 종양을 촬영하고, 각 수반 현상을 다시 점검한다. 처치후, 각 고양이는 추가로 CT 촬영을 한다. CT 촬영 및 흉부 방사선 투과 사진으로 그 후 매 8 주 마다 평가한다. 그 데이타는 대조군과 비교한 생존율, 반응 및 독성의 차이를 평가한 것이다. 양성 반응은 종양 퇴행과, 바람직하게는 삶의 질 개선 및(또는) 수명의 연장을 요한다.

또한, 다른 특발성 동물 종양, 예를 들어 개, 고양이 및 비비의 섬유육종, 선암종, 림프종, 연골종, 평활근육종도 시험할 수 있다. 이들 포유류중 개 및 고양이의 선암종은 그 외양 및 행동이 인간과 매우 유사하기 때문에 연구 모델로 바람직하다. 그러나, 동물에서 상기 유형의 종양이 드물게 발생하기 때문에 그 모델을 사용하는 것이 제한을 받는다.

K. 후보 약물의 스크리닝 분석

후보 약물에 대한 스크리닝 분석은 본원에서 확인된 유전자에 의해 코딩되는 폴리펩티드에 결합하거나 그와 결합체를 이루거나, 또는 코딩된 폴리펩티드와 다른 세포 단백질의 상호작용을 방해하는 화합물을 확인하도록 고안되었다. 그러한 스크리닝 분석에는 키메라 라이브러리를 고-처리량으로 스크리닝하여, 특히 소분자 후보 약물을 확인하는데 적합할 수 있는 분석이 포함된다. 예상되는 소분자로는 펩티드, 바람직하게는 가용성 펩티드, (폴리)펩티드-면역글로불린 융합체와, 특히 폴리- 및 모노클로날 항체를 비롯한 항체 및 항체 단편, 단일쇄 항체, 항-유전형 항체, 및 상기 항체 또는 항체 단편의 키메라 또는 인간화 형태와 또한 인간 항체 및 항체 단편을 비롯한 항체를 비롯한 합성 유기 또는 무기 화합물이 있다. 분석은 당업계에 잘 특성화되어 있는 단백질-단백질 결합 분석, 생화학적 스크리닝 분석, 면역 분석 및 세포 기재의 분석을 비롯한 각종 형식으로 수행할 수 있다.

모든 분석법은 본원에서 확인된 핵산에 의해 코딩되는 폴리펩티드와 후보 약물이 이들 두 성분이 상호작용할 수 있는 충분한 시간 및 조건하에 접촉시키는 것을 필요로한다는 점에서 공통적이다.

결합 분석에서, 상호작용은 결합하는 것이며, 형성된 결합체는 반응 혼합물에서 단리 또는 검출할 수 있다. 특정 실시양태에서, 본원에서 확인된 유전자에 의해 코딩되는 폴리펩티드 또는 후보 약물은 고상 지지체, 예를 들어, 마이크로타이터 플레이트상에 공유결합적 또는 비공유결합적 부착으로 고정시킨다. 비공유결합적 부착은 일반적으로 고상 표면을 폴리펩티드의 용액으로 코딩하고 건조시켜 달성한다. 또한, 고정될 폴리펩티드에 특이적인 고정화 항체, 예를 들어 모노클로날 항체는 고상 표면에 폴리펩티드를 고정시키는데 사용할 수 있다. 이 분석은 검출가능한 표지로 표지될 수 있는 고정되지 않은 성분을 고정된 성분, 예를 들어 고정된 성분을 갖는 코팅 표면에 가하여 수행한다. 반응이 완

료되면, 비반응성 성분은 예를 들어, 세척하여 제거하고, 고상 지지체의 표면에 고정된 결합체를 검출한다. 원래의 고정되지 않은 성분이 검출가능한 표지를 갖는 경우, 표면상에 고정된 표지가 검출되면 이는 결합체가 형성되었음을 나타내는 것이다. 원래의 고정되지 않은 성분이 표지를 갖지 않는 경우, 예를 들어 고정된 결합체에 특이적으로 결합하는 표지된 항체를 사용하여 결합체 형성 여부를 검출할 수 있다.

후보 화합물이 본원에서 확인된 유전자에 의해 코딩되는 특정 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드와 상호작용하지만 그에 결합하지 않는 경우, 그 폴리펩티드와의 상호작용은 단백질-단백질 상호작용을 검출하는데 있어 잘 공지된 방법으로 분석할 수 있다. 그러한 분석법으로는, 전통적인 연구법, 예를 들어 가교결합, 동시-면역침전, 및 구배 또는 크로마토그래피 컬럼을 통한 동시 정제법이 있다. 또한, 단백질-단백질 상호작용은 문헌(Chevary and Nathans, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88:9578-95828(1991))에 개시된 바와 같은 필즈(Fields)와 그의 공동 연구자의 문헌(Fields and Song, Nature, 340:245-246(1989); Chien et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 88:9578-9582(1991))에 기재된 효모 기재의 유전자 시스템을 사용하여 모니터링할 수 있다. 많은 전사 활성화 인자, 예를 들어 효모 GAL4는 두 개의 물질적으로 독특한 조절 도메인으로 이루어져 있는데, 그 중 하나는 DNA 결합 도메인으로 작용하고, 다른 하나는 전사 활성화 도메인으로 작용한다. 상기 문헌에 기재된 효모 발현 시스템(일반적으로, '투-하이브리드 시스템 (two-hybrid system)'으로 불림)은 그러한 특성을 이용하며, 2 종의 하이브리드 단백질, 즉 하나는 표적 단백질이 GAL4의 DNA 결합 도메인에 융합되어 있는 단백질, 다른 하나는 후보 활성화 단백질이 전사 활성화 도메인에 융합되어 있는 단백질을 사용한다. GAL4-활성화 프로모터에 의한 조절하에 있는 GAL1-lacZ 리포터 유전자의 발현은 단백질-단백질 상호작용을 통한 GAL4 활성의 재 구성에 좌우된다. 상호작용하는 폴리펩티드를 함유하는 콜로니는 β-갈락토시다제에 대한 발색 기질로 검출할 수 있다. 투 하이브리드 기술을 이용하여 두 특이적 단백질 사이의 단백질-단백질 상호작용을 확인하기 위한 완전 키트(매치메이커(MATCHMAKER), 상표명)는 클론테크(Clontech)로부터 구입할 수 있다. 이 시스템은 또한 특이적 단백질 상호작용에 관련된 단백질 도메인을 지도화하는 것은 물론 그러한 상호작용에 결정적으로 중요한 아미노산 잔기를 정확하게 나타내는데까지 확장하여 사용할 수 있다.

본원에서 확인된 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 코딩 유전자 및 기타 세포내- 및 세포외-성분사이의 상호작용을 방해하는 화합물은 다음과 같이 시험할 수 있다. 통상, 반응 혼합물은 증폭 유전자의 산물 및 세포간- 또는 세포외-성분을 이들 산물이 상호작용하고 결합할 수 있는 충분한 시간 및 조건하에 접촉시켜 제조한다. 결합을 억제하는 시험 화합물의 능력을 시험하기 위해, 반응을 시험 화합물의 존재 및 부재하에 실행한다. 또한, 제3 반응 혼합물에 위약을 가하여 양성 대조용으로 이용한다. 혼합물중에 존재하는 시험 화합물과 세포간- 또는 세포외-성분 사이의 결합(결합체 형성)은 상기한 바와 같이 모니터링한다. 시험 화합물을 함유하지 않는 반응 혼합물이 아닌 대조 반응물(들)에서 결합체가 형성되면, 이는 시험 화합물과 그의 반응 파트너 사이의 상호작용을 방해하는 것을 나타내는 것이다.

길항제를 시험하기 위해, 특정 활성에 대해 스크리닝될 화합물과 함께 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드에 가할 수 있고, PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드 존재하에 관심있는 활성을 억제하는 화합물의 능력은 상기 화합물이 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드에 대한 길항제임을 나타내는 것이다. 별법으로, 길항제는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드 및 잠재적 길항제를 막 결합된 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드 수용체 또는 재조합 수용체와 경쟁적 억제 분석 조건하에 결합시켜 검출할 수 있다. PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴 리펩티드는 방사능 등으로 표지하여 수용체에 결합된 상기 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드 분자의 수로 잠재성 있는 길항제의 유효성을 결정하는데 사용할 수 있다. 수용체를 코딩하는 유전자는 당업계에 공지된 많은 방법, 예를 들어 리간드 패닝 및 FACS 소팅(Coligan et al., Current Protocols in Immune., 1(2); Chapter 5(1991))으로 입증할 수 있다. 바람직하게는, PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드에 반응하는 세포로부터 폴리아데닐화 RNA가 제조되고, 이 RNA로부터 생성된 cDNA 라이브러리가 풀로 분배되어, PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO192

7, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드에 반응하지 않은 COS 세포 또는 기타 세포를 형질감염시키는데 사용하는 경우에 발현 클로닝이 이용된다. 슬라이드 글라스에서 배양한 형질감염된 세포를 표지된 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드에 노출시킨다. PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드는 요오드화 또는 부위 특이적 단백질 키나아제에 대한 인식 부위를 포함시키는 등 각종 수단으로 표지시킬 수 있다. 고정화 및 배양 후, 슬라이드는 방사능자동사진 분석을 한다. 양성 풀을 확인하여 서브풀을 제조한 후, 상호작용성 서브풀을 이용하여 재형질감염시킨 후, 재스크리닝 과정에서 결국에는 추정 수용체를 코딩하는 단일 클론을 수득한다.

수용체 확인을 위한 또다른 연구법으로서, 표지된 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드는 수용체 분자를 발현하는 세포막 또는 세포 추출물과 광친화성-결합될 수 있다. 가교결합된 물질은 PAGE로 해상하고, X-선 필름에 노출시킨다. 수용체를 함유하는 표지된 결합체는 절단하여 펩티드 단편으로 분해할 수 있고, 단백질 미량 서열분석(micro-sequencing)을 할 수 있다. 미량 서열분석으로부터 얻은 아미노산 서열은 추정의 수용체를 코딩하는 유전자를 입증하기 위해 cDNA 라이브러리를 스크리닝하기 위해 축퇴(degenerate) 올리고뉴클레오티드 프로브 세트를 설계하는데 사용할 수 있다.

길항제에 대한 다른 분석법에서, 수용체를 발현하는 포유동물 세포 또는 막 제제를 표지된 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드와 후보 화합물 존재 하에 인큐베이션시킨다. 이이서, 이러한 상호작용을 증진시키거나 차단하는 화합물의 능력을 측정할 수 있다.

잠재적 길항제의 보다 구체적인 예로는 면역글로불린과 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드와의 융합체에 결합하는 올리고뉴클레오티드, 및 구체적으로는 폴리클로날 및 모노클로날 항체 및 항체 단편, 단일쇄 항체, 항-유전형 항체를 비롯한 항체, 또는 그러한 항체의 키메라 형태 또는 인간화 형태 또는 단편은 물론 인간 항체 및 항체 단편이 포함되지만, 이에 제한되지는 않는다. 또한, 잠재성 있는 길항제는 단백질, 예를 들어 수용체를 인식하지만 효과를 부여하지 않아 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 결합을 경쟁적으로 억제하는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 돌연변이형과 밀접하게 관련되어 있다.

잠재성 있는 다른 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드 길항제는 안티센스 기술을 이용하여 제조된 안티센스 RNA 또는 DNA 작제물이며, 여기서 안티센스 RNA 또는 DNA는 표적화된 mRNA에 혼성화됨으로써 mRNA의 번역을 직접 차단하여, 단백질 번역을 억제한다. 안티센스 기술은 삼중 나선 형성 또는 안티센스 RNA 또는 DNA를 통한 유전자 발현을 억제하는데 사용할 수 있으며, 이들 두 방법은 폴리뉴클레오티드의 DNA 또는 RNA에 대한 결합을 기초로 한다. 예를 들어, 본원에서의 성숙 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열의 5' 코딩부는 길이가 약 10 내지 40 bp인 안티센스 RNA 올리고뉴클레오티드를 설계하는데 사용된다. DNA 뉴클레오티드는 전사에 관련된 유전자 영역에 상보적이도록 설계(삼중 나선에 대해서는 문헌[Lee et al., Nucl. Acids Res., 6:3073(1979); Cooney et al., Science, 241:456(1988); Dervan et al., Science, 251:1360(1991)] 참조)하여, 전사 및 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드 생성을 억제시킨다. 안티센스 RNA 올리고뉴클레오티드는 생체내에서 mRNA에 혼성화되고, mRNA 분자가 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드로 번역되는 것을 억제한다(안티센스에 대해서는 문헌[Ojano, Neuochem., 56:560(1991); Oligodeoxynucleotides as Antisense Inhibitors of Gene Expression(CRC Press: Boca Raton, FL, 1988)] 참조). 상기 올리고뉴클레오티드는 또한 세포로 전달되어 안티센스 RNA 또는 DNA가 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 생성을 억제하도록 생체내 발현될 수 있게 된다. 안티센스 DNA를 사용하는 경우, 번역 개시 부위, 예를

들어 표적 유전자 뉴클레오티드 서열의 약 -10에서 +10 위치 사이로부터 유도된 올리고데옥시리보뉴클레오티드가 바람직하다.

안티센스 DNA 또는 RNA 분자는 일반적으로 길이가 약 5 base 이상, 약 10 base 이상, 약 15 base 이상, 약 20 base 이상, 약 25 base 이상, 약 30 base 이상, 약 35 base 이상, 약 40 base 이상, 약 45 base 이상, 약 50 base 이상, 약 55 base 이상, 약 60 base 이상, 약 65 base 이상, 약 70 base 이상, 약 75 base 이상, 약 80 base 이상, 약 85 base 이상, 약 90 base 이상, 약 95 base 이상, 약 100 base 이상이다.

잠재성 있는 길항제로는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 활성 부위, 수용체 결합 부위, 또는 생장 인자 또는 관련 결합 부위에 결합하여 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 정상적인 생물학적 활성을 차단하는 소분자가 포함된다. 소분자의 예로는 작은 펩티드 또는 펩티드 유사 분자, 바람직하게는 가용성 펩티드 및 합성 비-펩티딜 유기 또는 무기 화합물이 포함되나, 이에 제한되지는 않는다.

리보자임은 RNA의 특이적 절단을 촉매화할 수 있는 효소적 RNA 분자이다. 리보자임은 그와 상보적인 표적 RNA와 서열-특이적 혼성화한 다음, 엔도뉴클레아제 활성에 의해 절단하는 작용을 한다. 공지된 기술로 잠재성 있는 RNA 표적내의 특이적인 리보자임 절단 부위를 확인할 수 있었다. 보다 자세한 사항은, 예를 들어 문헌 (Rossi, Current Biology, 4:469-471 (1994) 및 1997년 9월에 공개된 PCT 공개 제WO97/33551호)을 참조한다.

전사를 억제하는데 사용되는 삼중나선 형태의 핵산 분자는 단일 가닥이어야하며, 데옥시뉴클레오티드로 이루어져야 한다. 이러한 올리고뉴클레오티드의 염기 조성은 그가 호그스틴(Hoogsteen) 염기쌍 규칙을 통해 삼중나선 형성을 촉진하게끔 설계되어 있는데, 삼중나선 형성에는 일반적으로 이중쇄 중 한 가닥에 상당한 크기의 퓨린 또는 피리미딘 스트레치가 있어야 한다. 보다 자세한 사항은, 예를 들어 문헌(상기 PCT 공개 제WO97/33551호)을 참조한다.

상기 소분자들은 상기 기재된 임의 한가지 이상의 스크리닝 분석법 및(또는) 당업자에게 잘 알려진 임의의 다른 스크리닝 기술에 의해 확인할 수 있다.

L. 종양의 치료용 조성물 및 치료 방법

본원에서 확인된 유전자의 증폭과 관련된 종양의 치료에 유용한 조성물로는 표적 유전자 산물의 발현 및(또는) 활성을 억제하는 항체, 작은 유기 및 무기 분자, 펩티드, 포스포펩티드 안티센스 및 리보자임 분자, 삼중 나선 등이 포함되나, 이에 제한되지는 않는다.

예를 들어, 안티센스 RNA 또는 DNA 분자는 표적 mRNA에 혼성화되어 mRNA의 번역을 직접 차단하고, 단백질로의 번역을 억제한다. 안티센스 DNA가 사용되는 경우, 올리고데옥시리보뉴클레오티드는 번역 개시 부위, 예를 들어 표적 유전자 뉴클레오티드 서열의 약 -10에서 +10 위치 사이로부터 유래된다.

리보자임은 RNA의 특이적 절단을 촉매화할 수 있는 효소적 RNA 분자이다. 리보자임은 그와 상보적인 표적 RNA와 서열-특이적 혼성화한 다음, 엔도뉴클레아제 활성에 의해 절단하는 작용을 한다. 공지된 기술로 잠재성 있는 RNA 표적내의 특이적인 리보자임 절단 부위를 확인할 수 있었다. 보다 자세한 사항은 예를 들어 문헌 (Rossi, Current Biology, 4:469-471 (1994) 및 1997년 9월 18일에 공개된 PCT 공개 제WO97/33551호)을 참조한다.

전사를 억제하는데 사용되는 삼중나선 형태의 핵산 분자는 단일 가닥이어야하며, 데옥시뉴클레오티드로 이루어져야 한다. 이러한 올리고뉴클레오티드의 염기 조성은 그가 호그스틴 염기쌍 규칙을 통해 삼중나선 형성을 촉진하게끔 설계되어 있는데, 삼중나선 형성에는 일반적으로 이중쇄 중 한 가닥에 상당한 크기의 퓨린 또는 피리미딘 스트레치가 있어야 한다. 보다 자세한 사항은, 예를 들어 문헌(상기 국제 공개 제WO97/33551호)을 참조한다.

이러한 분자들은 상기 기재된 임의의 스크리닝 분석법 또는 이들의 조합, 및(또는) 당업자에게 공지된 임의의 기타 스크리닝 기술에 의해 확인될 수 있다.

M. 항체

본 발명에 따라 몇가지 후보 약물로 가장 유망한 것은 본원에서 확인된 증폭 유전자 산물, 또는 유전자 산물의 생성을 억제하고(거나) 유전자 산물의 활성을 감소시키는 항체 또는 항체 단편이다.

1. 폴리클로날 항체

폴리클로날 항체의 제조 방법은 당업자에게 공지되어 있다. 폴리클로날 항체는 포유동물에 1회 이상 면역화제를 주입, 필요한 경우 면역보강제와 함께 주입하여 제조할 수 있다. 통상, 면역화제 및(또는) 면역보강제는 포유동물에 피하주사 또는 복강내 주사로 수회 주입될 것이다. 면역화제는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드 또는 그의 융합 단백질을 포함할 수 있다. 면역화되는 포유동물에 면역원성이 있는 것으로 공지된 단백질과 함께 면역화제를 주사하는 것이 효과적일 수 있다. 상기 면역원성 단백질의 예에는 키홀 림펫(keyhole limpet) 헤모시아닌, 혈청 알부민, 소의 티로글로불린 및 대두 트립신 억제제가 포함되지만, 이에 제한되지는 않는다. 사용할 수 있는 면역보강제에는 프로인트 완전 면역보강제 (Freund's complete adjuvant) 및 MPL-TDM 면역보강제(모노포스포릴 지질 A(monophosphoryl Lipid A), 합성 트레할로오스 디코리노미콜레이트)가 포함 된다. 면역화 방법은 불필요한 실험없이 당업자가 선택할 수 있다.

2. 모노클로날 항체

다른 방법으로, 항-PRO381, 항-PRO1269, 항-PRO1410, 항-PRO1755, 항-PRO1780, 항-PRO1788, 항-PRO3434, 항-PRO1927, 항-PRO3567, 항-PRO1295, 항-PRO1293, 항-PRO1303, 항-PRO4344, 항-PRO4354, 항-PRO4397, 항-PRO4407, 항-PRO1555, 항-PRO1096, 항-PRO2038 또는 항-PRO2262 항체는 모노클로날 항체일 수 있다. 모노클로날 항체는 문헌 (Kohler and Milstein, Nature, 256:495 (1975))에 기재된 바와 같은 하이브리도마(hybridoma) 방법을 사용하여 제조한다. 하이브리도마 방법에서, 면역화제에 특이적으로 결합하는 항체를 만들거나 상기 항체를 만들 수 있는 림프구를 유도하기 위해, 상기 면역화제로 생쥐, 햄스터 또는 다른 적합한 숙주 동물을 면역화시킨다. 다른 방법으로, 림프구는 시험관내에서 면역화될 수 있다.

면역화제는 통상 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드, 이들의 단편, 또는 이러한 단백질들이나 이들 단편의 융합 단백질을 포함한다. 통상, 인간에서 유래한 세포가 요구되는 경우에는 말초 혈관 림프구(peripheral blood lymphocyte: 'PBL')를 사용하고, 비-인간 포유동물에서 유래한 세포가 요구되는 경우에는 비장 세포 또는 림프절 세포를 이용한다. 이어서, 상기 림프구를 폴리에틸렌 글리콜과 같은 적합한 융합제를 사용하여 무한증식 세포주와 융합시켜 하이브리 도마 세포를 형성한다(Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, Academic Press, (1986) pp. 59-103). 무한증식 세포주는 통상 형질전환된 포유동물 세포, 특히 설치류, 소 및 인간에서 유래한 골수종 세포이다. 통상, 쥐 또는 생쥐의 골수종 세포를 사용한다. 하이브리도마 세포는 융합되지 않은 무한증식 세포의 생장 또는 생존을 억제하는 1 종 이상의 물질을 포함하는 적합한 배지에서 배양할 수 있다. 예를 들어, 모세포에 히포크산틴 구아닌 포스포리보실 트랜스퍼라제(HGPRT 또는 HPRT)라는 효소가 결핍되어 있으면, 하이브리도마의 배지는 통상 HGPRT-결핍 세포의 생장을 방해하는 물질인 히포크산틴, 아미노프테린 및 티미딘을 포함('HAT 배지')할 것이다.

바람직한 무한증식 세포주는 효율적으로 융합되고, 선별된 항체-생성 세포에 의해 높은 수준의 항체를 안정하게 만들어내며, HAT 배지와 같은 배지에 감응성이 높은 것이다. 더욱 바람직한 무한증식 세포주는 캘리포니아주 샌디에고 소재의 솔크 인스티튜트 셀 디스트리뷰션 센터(Salk Institute Cell Distribution Center) 및 버지니아주 매나서스 소재의 아메리칸 타입 컬쳐 컬렉션(ATCC; American Type Culture Collection)으로부터 입수가능한 쥐과 골수종 세포이다. 또한, 인간의 골수종 세포 및 생쥐-인간 이종골수종 세포도 인간 모노클로날 항체 생성에 사용되었다 (Kozbor, J. Immunol., 133:3001 (1984)) 및 Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, Marcel Dekker, Inc., New York, (1987) pp. 51-63).

하이브리도마 세포가 배양된 배지를 사용하여 원하는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드에 의해 유도된 모노클로날 항체의 존재 여부를 분석할 수 있다. 바람직하게는 하이브리도마 세포에서 생성된 모노클로날 항체의 결합 특이성이 면역 침강이나, 방사성면역분석(radioimmunoassay: RIA)이나 효소-결합 면역흡수 분석(enzyme-linked immunoabsorbent assay: ELISA)과 같은 시험관내 결합 분석으로 측정할 수 있다. 상기 기술 및 분석법은 당업계에 공지되어 있다. 모노클로날 항체의 결합 친화도는 문헌 (Munson and Pollard, Anal. Biochem. 107:220 (1980))에 기재된 스캐쳐드(Scatchard) 분석법에 의해 측정할 수 있다.

원하는 하이브리도마 세포를 찾아낸 후, 그 클론을 한계 희석 방법으로 서브클로닝하여 표준 방법(Goding, 상기 문헌)으로 배양한다. 이러한 목적에 적합한 배지에는 둘벨코 변형 이글 배지(Dulbecco's Modified Eagle's Medium) 및 RPMI-1640 배지가 포함된다. 다른 방법으로, 하이브리도마 세포는 포유동물의 복수종양으로서 생체내에서 배양할 수 있다.

서브클론에 의해 분비된 모노클로날 항체는 종래의 면역글로불린 정제 방법(예를 들어, 단백질 A-세파로스, 히드록실아파타이트 크로마토그래피, 겔 전기영동, 투석 또는 친화 크로마토그래피)에 의해 배지나 복수액으로부터 단리 또는 정제할 수 있다.

모노클로날 항체는 미국 특허 제4,816,567호에 기재된 바와 같은 재조합 DNA 방법으로 만들어질 수 있다. 본 발명의 모노클로날 항체를 코딩하는 DNA는 종래의 방법(쥐과 동물 항체의 중쇄 및 경쇄를 코딩하는 유전자에 특이적으로 결합할 수 있는 올리고뉴클레오티드 프로브 사용)을 사용하여 쉽게 단리하고 서열 분석할 수 있다. 본 발명의 하이브리도마 세포는 그러한 DNA의 바람직한 출처로 사용된다. 일단 분리된 DNA를 발현 벡터로 클로닝하고, 이를 원숭이 COS 세포, 중국 햄스터 난소(CHO) 세포 또는 골수종 세포(평상시에는 면역글로불린 단백질을 생성하지 않음)에 형질감염시킨 후, 재조합 세포에서 합성된 모노클로날 항체를 수득할 수 있다. 쥐과 동물의 중쇄 및 경쇄의 불변 도메인을 이와 상동성 있는 인간의 중쇄 및 경쇄에 대한 코딩 서열로 치환(미국 특허 제4,816,567호 및 모리슨(Morrison) 등의 상기 문헌 참조)하거나, 또는 비-면역글로불린 코딩 서열의 전체 또는 일부분을 면역글로불린 코딩 서열과 공유결합시키는 등의 방법에 의해 상기 DNA를 변화시킬 수 있다. 이러한 비-면역글로불린 폴리펩티드는 본 발명 항체의 불변 도메인으로 치환하거나, 또는 2가 키메라 항체의 생성을 위해 본 발명 항체의 한 항원-결합 부위의 가변 도메인으로 치환할 수 있다.

상기 항체는 1가 항체일 수 있다. 1가 항체의 제조 방법은 당업계에 잘 공지되어 있다. 예를 들어, 한 가지 방법은 면역글로불린의 경쇄 및 변형된 중쇄의 재조합 발현을 포함한다. 중쇄의 가교결합을 방지하기 위해 통상 Fc 영역의 임의의 지점에서 중쇄의 말단이 절단된다. 다른 방법으로, 관련 시스테인 잔기를 다른 아미노산 잔기로 치환하거나 제거하여 가교결합을 방지한다.

또한, 시험관내 방법도 1가 항체의 제조에 적합하다. 항체를 분해하여 그 단편, 특히 Fab 단편을 제조하는 것은 당업계에 공지된 흔한 기술을 이용하여 수행 할 수 있다.

3. 인간 및 인간화 항체

본 발명의 항-PRO381, 항-PRO1269, 항-PRO1410, 항-PRO1755, 항-PRO1780, 항-PRO1788, 항-PRO3434, 항-PRO1927, 항-PRO3567, 항-PRO1295, 항-PRO1293, 항-PRO1303, 항-PRO4344, 항-PRO4354, 항-PRO4397, 항-PRO4407, 항-PRO1555, 항-PRO1096, 항-PRO2038 또는 항-PRO2262 항체는 추가로 인간화 항체 또는 인간 항체를 포함할 수 있다. 인간이외의 생물(예를 들어, 쥐과 동물)에서 제조한 항체의 인간화 형태는 상기 생물의 면역글로불린으로부터 유래한 최소 서열을 포함하는, 키메라 면역글로불린, 면역글로불린 쇄 또는 그의 단편(Fv, Fab, Fab', $F(ab')_2$ 또는 항체의 다른 항원-결합 서열)이다. 인간화 항체는 수용체의 상보성 결정 영역(complementary determining region: CDR)의 잔기가, 원하는 특이성, 친화도 및 능력을 갖는 생쥐, 쥐 또는 토끼와 같은 인간이외의 종(공여자 항체)의 CDR 잔기로부터의 잔기로 치환시킨 인간 면역글로불린(수용자 항체)를 포함한다. 몇몇 경우에는, 인간 면역글로불린의 Fv 골격 잔기가 상응하는 비-인간 잔기로 대체된다. 또한, 인간화 항체는 수용자 항체 및 수용된 CDR 또는 골격 서열 어디에도 나타나지 않는 잔기를 포함할 수 있다. 인간화 항체는 모든 또는 실질적으로 모든 CDR 영역이 인간이 아닌 종의 면역글로불린과 일치하거나, 또는 모든 또는 실질적으로 모든 FR 영역이 인간 면역글로불린 서열인, 하나 이상(통상, 두 개)의 가변 도메인을 실질적으로 포함한다. 또한, 최적의 인간화 항체는 인간의 면역글로불린 불변 영역 (Fc)을 일부분 이상 포함한다(Jones et al, Nature 321: 522-525 (1986); Riechmann et al, Nature, 332:323-329 (1988); 및 Presta, Curr. Op. Struct. Biol., 2:593-596 (1992)).

비-인간 생물에서 제조한 항체를 인간화시키는 방법은 당업계에 잘 공지되어 있다. 통상, 인간화 항체는 인간이 아닌 생물에서 제조한 항체에서 도입된 하나 이상의 아미노산 잔기를 가지고 있다. 이들 아미노산 잔기는 통상 '임포트(import)' 잔기라 불리우며, '임포트' 가변 도메인에서 유래된 것이다. 인간화 과정은 윈터(Winter) 및 그 동료들의 방법(Jones et al, Nature, 321: 522-525 (1986); Riechmann et al, Nature, 332:323-327 (1988); 및 Verhoeyen et al, Science 239:1534-1536 (1988))에 따라 설치류의 CDR 또는 인간 항체에서 이에 상응하는 CDR 서열을 치환하여 수행한다. 따라서, '인간화' 항체는 인간 항체의 가변 도메인이 인간이 아닌 종에서 유래한 상응하는 서열에 의해 실질적으로 치환된 키메라 항체(미국 특허 제4,816,567호)이다. 사실상, 인간화 항체는 특정 CDR 잔기 및 어쩌면 FR 잔기가 설치류 항체의 유사한 부위에서 유래한 잔기로 치환된 인간 항체이다.

또한, 인간 항체는 파지 디스플레이(phage display) 라이브러리(Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol., 227:381(1991); 및 Marks et al, J. Mol. Biol., 222:581(1991))를 비롯한 당업계에 공지된 여러 가지 기술을 이용하여 제조할 수 있다. 또한, 콜(Cole) 등의 기술 및 뵈르너(Boerner) 등의 기술도 인간 모노클로날 항체의 제조에 유용하다(Cole et al, Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, p. 77 (1985); 및 Boerner et al, J. Immunol., 147(1):86-95 (1991)). 이와 유사하게, 내생성 면역글로불린 유전자 전체 또는 그 일부가 불활성화된 생쥐와 같은 트랜스제닉 동물에 인간 면역글로불린 유전자좌를 도입함으로써 인간 항체를 제조할 수 있다. 항원투여 후에 인간 항체 생산이 관찰되었는데, 이는 유전자 재배열, 어셈블리 및 항체 구성을 비롯한 모든 점에서 인간에서 관찰되는 항체와 매우 유사하였다. 이러한 접근법은, 예를 들어 문헌 (미국 특허 제5,545,807호, 동 제5,545,806호, 동 제5,569,825호, 동 제5,625,126호, 동 제5,633,425호, 동 5,661,016호) 및 과학 간행물 (Marks et al., Bio/Technology 10, 779-783 (1992); Lonberg et al., Nature 368, 856-859 (1994), Morrison, Nature 368, 812-13 (1994); Fishwild et al., Nature Biotechnology 14, 845-51 (1996); Neuberger, Nature Biotechnology 14, 826 (1996); Lonberg and Huszar, Intern. Rev. Immunol. 13 65-93 (1995))에 기재되어 있다.

4. 항체 의존성 효소 매개 전구약 치료법 (ADEPT)

또한, 전구약(예들 들면, 펩티딜 화학요법제, 국제 공개 제WO81/01145호 참조)을 활성 항암제로 전환시키는 전구약-활성화 효소에 이 항체를 접합시킴으로써 본 발명의 항체를 ADEPT에 사용할 수 있다 (국제 공개 제WO88/07378호 및 미국 특허 제4,975,278호 참조).

ADEPT에 유용한 면역접합체의 효소 성분에는 전구약을 더 활성적이고 세포독성인 형태로 전환시킬 수 있는 임의의 효소가 포함된다.

본 발명의 방법에 유용한 효소에는 글리코시다제, 글루코스 옥시다제, 인간 리소자 임, 인간 글루쿠로니다제, 포스페이트-함유 전구약을 유리 약물로 전환시키는데 유용한 알칼리 포스파타제; 술페이트-함유 전구약을 유리 약물로 전환시키는데 유용한 아릴술파타제; 무독성 5-플루오로시토신을 항암제 5-플루오로우라실로 전환시키는데 유용한 시토신 데아미나제; 펩티드-함유 전구약을 유리 약물로 전환시키는데 유용한 세라티아 프로테아제, 써모리신, 서브틸리신, 카르복시펩티다제(예를 들어, 카르복시펩티다제 G2 및 카르복시펩티다제 A) 및 카텝신(예를 들어, 카텝신 B 및 L)과 같은 프로테아제; D-아미노산 치환체를 함유하는 전구약의 전환에 유용한 D-알라닐카르복시펩티다제; 글리코실화된 전구약을 유리 약물로 전환시키는데 유용한 β-갈락토시다제 및 뉴라미니다제와 같은 탄수화물-절단 효소; β-락탐으로 유도체화된 약물을 유리 약물로 전환시키는데 유용한 β-락타마제; 및 아민 질소 위치에서 각각 페녹시아세틸 또는 페닐아세틸기로 유도체화된 약물을 유리 약물로 전환시키는데 유용한 페니실린 V 아미다제 또는 페니실린 G 아미다제와 같은 페니실린 아미다제가 포함되지만, 이에 제한되지는 않는다. 다른 방법으로, 당업계에 '아브자임(abzyme)'이라 공지된, 효소 활성이 있는 항체는 본 발명의 전구약을 유리 활성 약물로 전환시키는데 사용될 수 있다 (Massey, Nature, 328:457-458 (1987)). 항체-아브자임 접합체는 종양 세포 군집으로 아브자임의 전달을 위해 본원에 기재된 바와 같이 제조될 수 있다.

본 발명의 효소는 상기 논의된 헤테로-이관능성 가교결합제의 이용과 같이 당업계에 공지된 기술에 의해 항-PRO381, 항-PRO1269, 항-PRO1410, 항-PRO1755, 항-PRO1780, 항-PRO1788, 항-PRO3434, 항-PRO1927, 항-PRO3567, 항-PRO1295, 항- PRO1293, 항-PRO1303, 항-PRO4344, 항-PRO4354, 항-PRO4397, 항-PRO4407, 항-PRO1555, 항-PRO1096, 항-PRO2038 또는 항-PRO2262에 공유결합 될 수 있다. 다른 방법으로, 본 발명 효소의 적어도 기능적 활성 부분에 결합된, 본 발명 항체의 적어도 항원 결합 영역을 포함하는 융합 단백질은 당업계에 잘 공지된 재조합 DNA 기술을 이용하여 제조할 수 있다 (Neuberger et al., Nature, 312:604-608(1984)).

5. 이중특이적 항체

이중특이적 항체는 상이한 두 가지 이상의 항원에 대해 결합 특이성을 갖는 모노클로날 항체, 바람직하게는 인간 또는 인간화 항체이다. 이 경우에, 결합 특이성 중 하나는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262에 대한 것이고, 다른 하나는 임의의 다른 항원, 바람직하게는 세포-표면 단백질, 수용체 또는 수용체 서브유닛에 대한 것이다.

이중특이적 항체를 제조하는 방법은 당업계에 공지되어 있다. 통상적으로, 이중 특이적 항체의 재조합 생산은 2개의 면역글로불린 중쇄-경쇄/경쇄-중쇄 쌍의 동시발현에 기초하며, 여기에서, 2개의 중쇄는 상이한 특이성을 갖는다 (Millstein and Cuello, Nature, 305: 537-539 (1983)). 면역글로불린 중쇄 및 경쇄의 무작위 배열로 인해, 이들 하이브리도마 (쿼드로마)는 10개의 상이한 항체 분자의 가능한 혼합물을 생산하며, 이중 하나만이 정확한 이중특이적 구조를 갖는다. 정확한 분자의 정제는 일반적으로 친화 크로마토그래피 단계로 수행된다. 유사한 절차가 국 제 공개 제WO93/08829호(1993년 5월 13일에 공개됨) 및 문헌(Traunecker et al., EMBO J., 10: 3655-3659 (1991))에 기재되어 있다.

원하는 결합 특이성을 갖는 항체의 가변 도메인(항체-항원 결합 부위)을 면역글로불린 불변 도메인 서열에 융합시킨다. 이 융합은 바람직하게는 힌지, CH2 및 CH3 영역의 적어도 일부를 포함하는 면역글로불린 중쇄 불변 도메인 내에서 이루어진다. 경쇄 결합을 위해 필요한 부위를 포함하는 제1 중쇄 불변 영역 (CH1)이 융합체의 적어도 하나에 존재하는 것이 바람직하다. 면역글로불린 중쇄 융합체, 및 원한다면 면역글로불린 경쇄를 코딩하는 DNA를 별개의 발현 벡터에 삽입하고, 적당한 숙주 유기체로 동시 형질감염시킨다. 이중특이적 항체를 생산하기 위한 보다 상세한 내용은 예를 들어, 문헌(Suresh et al., Methods in Enzymmology, 121: 210(1986))을 참조한다.

국제 공개 제WO96/27011호에 개시된 다른 방법에 따르면, 한쌍의 항체 분자사이의 인터페이스를 조작하여 재조합 세포 배양으로부터 회수되는 이종 이량체의 비율을 최대화할 수 있다. 바람직한 인터페이스는 항체 불변 도메인의 CH3 영역의 적어도 일부를 포함한다. 이 방법에서, 제1 항체 분자의 인터페이스로부터 1개 이상의 작은 아미노산 측쇄를 보다 큰 측쇄(예를 들어, 티로신 또는 트립토판)로 대체하였다. 큰 아미노산 측쇄를 작은 아미노산 측쇄(예를 들어, 알라닌 또는 트레오닌)로 대체함으로써 큰 측쇄에 대해 동일하거나 유사한 크기의 보충 '공동(cavity)'을 제2 항체 분

자의 인터페이스에 생성시켰다. 이는 이종 이량체의 수율을 동종 이량체와 같은 다른 원치 않는 최종-생성물보다 높게 증가시키는 메카니즘 을 제공한다.

이중특이적 항체는 전장 항체 또는 항체 단편(예를 들어, $F(ab')_2$ 이중특이적 항체)으로 제조할 수 있다. 항체 단편으로부터 이중특이적 항체를 생성하는 기술은 문헌에 기재되어 있다. 예를 들어, 화학 결합을 사용하여 이중특이적 항체를 제조할 수 있다. 문헌 (Brennan et al., Science 229:81 (1985))에는 온전한 항체를 단백질 가수분해로 잘라서 $F(ab')_2$ 단편을 생성하는 방법이 기재되어 있다. 이러한 단편은 디티올 복합 물질인 나트륨 아르세나이트의 존재하에 환원되어 근처 디티올을 안정화시키고 분자간 디술피드 결합의 형성을 방지한다. 그 후에, 생성된 Fab' 단편을 티오니트로벤조에이트(TNB) 유도체로 전환시켰다. 그 후에, Fab'-TNB 유도체 중 하나를 머캅토에틸아민을 사용하여 환원시킴으로써 Fab'-티올로 재전환시키고 등몰량의 다른 Fab'-TNB 유도체와 혼합하여 이중특이적 항체를 형성시켰다. 생성된 이중특이적 항체는 효소의 선택적 고정화를 위한 물질로 사용할 수 있다.

대장균으로부터 Fab' 단편을 직접 회수하여 화학적으로 연결시킴으로써 이중특이적 항체를 형성할 수 있다. 문헌 (Shalaby et al., J. Exp. Med. 175:217-225 (1992))에는 완전한 인간화 이중특이적 항체 $F(ab')_2$ 분자가 기재되어 있다. 각각의 Fab' 단편은 대장균으로부터 별도로 분비되었으며 시험관내에서 지시된 화학적 방법으로 연결하여 이중특이적 항체를 형성시켰다. 이와 같이 형성된 이중특이적 항체는 ErbB2 수용체를 과다 발현시키는 세포 및 정상적인 인간 T 세포와 결합할 수 있을뿐 아니라, 인간 유방암 표적에 대한 인간 세포독성 림프구의 용균 활성을 개시할 수 있었다.

또한, 재조합 세포 배양으로부터 직접 이중특이적 항체 단편을 제조하고 단리하는 여러 기술이 기재되어 있다. 예를 들어, 루이신 지퍼를 사용하여 이중 특이적 항체를 제조하였다(Kostelny et al., J. Immunol. 148(5):1547-1553 (1992)). 유전자 융합에 의해, Fos 및 Jun 단백질로부터의 루이신 지퍼 펩티드를 2종의 상이한 항체의 Fab' 부분에 연결하였다. 항체 동종 이량체의 힌지 영역을 환원시켜 단량체를 형성한 다음, 재산화시켜 항체 이종 이량체를 형성시켰다. 또한, 이 방법은 항체 동종 이량체를 생산하기 위한 방법으로 이용할 수 있다. 문헌 (Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448 (1993))에 기재된 '디아바디(diabody)' 기술은 이중특이적 항체 단편을 만드는 다른 메카니즘을 제공한다. 이 단편은 링커에 의해 경쇄 가변 도메인(V_L)에 연결된 중쇄 가변 도메인(V_H)을 포함하는데, 이 링커는 너무 짧아서 상기 두 도메인을 동일 쇄로 짝지을 수 없다. 따라서, 한 단편의 V_H 및 V_L 도메인은 다른 단편의 상보적인 V_L 및 V_H 도메인과 쌍을 이루게 되며, 그 결과 2개의 항원 결합 부위를 형성한다. 단일쇄 Fv(sFv) 이량체를 사용하여 이중특이적 항체 단편을 만드는 또다른 전략이 보고되었다(문헌 (Gruber et al., J. Immunol. 152:5368 (1994)) 참조).

2가 이상의 결합가를 갖는 항체도 고려 대상이다. 예를 들어, 삼중특이적 항체를 만들 수 있다(Tutt et al., J. Immunol. 147:60 (1991)).

전형적인 이중특이적 항체는 본원에 기재된 폴리펩티드의 두 가지 상이한 에피토프와 결합할 수 있다. 또는, 특정 폴리펩티드를 발현시키는 세포에 대한 세포내 방어 메카니즘에 초점을 맞추기 위해, 항-폴리펩티드 팔 영역(arm)을 백혈구 상 개시 분자, 예를 들어 T-세포 수용체 분자(예를 들어, CD2, CD3, CD28 또는 B7), 또는 IgG의 Fc 수용체(FcγR), 예를 들어 FcγRⅠ(CD64), FcγRⅡ(CD32) 및 FcγRIII(CD16)와 결합하는 팔 영역과 연결할 수 있다. 또한, 이중특이적 항체를 사용하여 특정 폴리펩티드를 발현시키는 세포에 세포독성 물질이 존재하도록 수 있다. 이러한 항체는 폴리펩티드-결합 팔 영역과 세포독성 물질 또는 방사성핵종 킬레이트제, 예를 들어 EOTUBE, DPTA, DOTA 또는 TETA와 결합하는 팔 영역을 가지고 있다. 목적하는 또다른 이중특이적 항체는 폴리펩티드와 결합하며 추가로 조직 인자(TF)와 결합한다.

6. <u>이종접합 항체</u>

이종접합 항체는 2개의 공유결합된 항체로 구성된다. 이러한 항체는, 예를 들어 면역계 세포를 원하지 않는 세포에 표적화시키기고 (미국 특허 제4,676,980호), HIV 감염을 치료(국제 공개 제WO91/00360호, 동 제WO92/200373호, 및 EP 제03089호)하기 위해 제안되었다. 이종접합 항체는 가교결합제를 사용하는 방법을 포함하여 합성 단백질 화학에 공지된 방법을 이용하여 제조할 수 있는 것으로 생각된다. 예를 들어, 면역독소는 디술피드 교환 반응에 의해 또는 티오에테르 결합을 형성함으로써 제조할 수 있다. 상기 목적에 적합한 시약에는 이미노티올레이트 및 메틸-4-머캅토부티르이미데이트 및 미국 특허 제4,676,980호에 개시된 시약이 포함 된다.

7. <u>작용기 기능 조작</u>

작용기 기능에 대해 본 발명의 항체를 변형하여, 예를 들어 암치료에 있어 항체의 효과를 증대하는 것이 바람직할 수 있다. 예를 들어, 시스테인 잔기를 Fc 영역에 도입하여 이 영역내 쇄간 디술피드 결합을 형성시킬 수 있다. 이와 같이 생성된 동종 이량체 항체는 내부화 능력이 향상되고(되거나) 보체-매개 세포 사멸 및 항체-의존성 세포내 세포독성(ADCC)이 증대된다 (문헌 (Caron et al., J. Exp Med., 176:1191-1195 (1992) 및 Shopes, J. Immunol., 148:2918-

2922 (1992)) 참조). 또한, 문헌 (Wolff et al. Cancer Research, 53: 2560-2565 (1993))에 기재된 헤테로이관능성 가교결합제를 사용하여 증대된 항암 활성을 지닌 동종 이량체 항체를 제조할 수 있다. 또는, 이중의 Fc 영역을 갖는 항체를 조작하여 보체 용균성 및 ADCC 능력을 증대시킬 수 있다(문헌 (Stevenson et al., Anti-Cancer Drug Design , 3:219-230 (1989)) 참조).

8. 면역결합체

또한, 본 발명은 세포독성 물질, 예를 들어 화학요법제, 독소(예를 들어, 효소적으로 활성인 박테리아, 진균, 식물 또는 동물성 독소, 또는 그의 단편) 또는 방사활성 동위원소(즉, 방사성결합체)와 결합된 항체를 포함하는 면역결합체에 관한 것이다.

상기 면역결합체의 생성에 유용한 화학요법제는 상기에 기재되어 있다. 사용될 수 있는 효소적으로 활성인 독소 및 그의 단편에는 디프테리아 A 쇄, 디프테 리아 독소의 비결합 활성 단편, 콜레라 독소, 보툴리누스 독소, 외독소 A 쇄(슈도모나스 애루기노사(*Pseudomonas aeruginosa*) 유래), 리신 A 쇄, 아브린 A 쇄, 모데신 A 쇄, 알파-사르신, 알레우리테스 포르디(*Aleurites fordii*) 단백질, 디안틴 단백질, 피톨라카 아메리카나(*Phytolaca americana*) 단백질(PAPI, PAPII 및 PAP-S), 모모르디카 카란티아(Momordica charantia) 억제제, 쿠르신, 크로틴, 사파오나리아 오피시날리스(sapaonaria officinalis) 억제제, 겔로닌, 사포린, 미토겔린, 레스트릭토신, 페노마이신, 에노마이신, 및 트리코테세네스가 포함된다. 소분자 독소에는 칼리케아미신류, 마이탄시노이드류, 팔리톡신 및 CC1065가 포함된다. 여러 방사성핵종을 방사결합체 항체의 제조에 이용할 수 있다. 예에는 ^{212}Bi, ^{131}I, ^{131}In, ^{90}Y 및 ^{186}Re가 포함된다.

다양한 이관능성 단백질 커플링제, 예를 들어 N-숙신이미딜-3-(2-피리딜디티올)프로피오네이트(SPDP), 이미노티올란(IT), 이미도에스테르의 이관능성 유도체(예를 들어, 디메틸 아디프이미데이트 HCL), 활성 에스테르류(예를 들어, 디숙신이미딜 수베레이트), 알데히드류(예를 들어, 글루타르알데히드), 비스-아지도 화합물(예를 들어, 비스(p-아지도벤조일)헥산디아민), 비스-디아조늄 유도체(예를 들어, 비스-(p-디아조늄벤조일)-에틸렌디아민), 디이소시아네이트류(예를 들어, 톨리엔 2,6-디이소시아네이트), 및 비스-활성 플루오르 화합물(예를 들어, 1,5-디플루오로-2,4-디니트로벤젠)을 사용하여 항체와 세포독성 물질의 결합체를 만들 수 있다. 예를 들어, 문헌 (Vitetta et al., Science, 238:1098 (1987))에 기재된 바 와 같이 리신 면역독소를 제조할 수 있다. 탄소-14로 표지된 1-이소티오시아네이토벤질-3-메틸디에틸렌 트리아민펜타아세트산(MX-DTPA)은 방사성뉴클레오디드를 항체에 결합시키는 전형적인 킬레이트제이다(국제 공개 제WO94/11026호 참조).

또다른 실시양태로, 항체를 종양 예비표적화에 이용되는 '수용체'(예를 들어, 스트렙타비딘)에 결합시킬 수 있는데, 여기서 항체-수용체 결합체를 환자에게 투여한 다음, 킬레이트제를 사용하여 순환계로부터 결합하지 않은 결합체를 제거하고 세포독성 물질(예를 들어, 방사성뉴클레오티드)에 접합된 '리간드'(예를 들어, 아비딘)를 투여한다.

9. 면역리포좀

본원에서 개시된 항체를 면역리포좀으로 제제화할 수도 있다. 이 항체를 포함하는 리포좀은 당업계에 공지된 방법, 예를 들어 문헌 (Epstein et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82:3688 (1985); Hwang et al., Proc. Natl Acad. Sci. USA, 77:4030 (1980); 및 미국 특허 제4,485,045호 및 동 제4,544,545호)에 기재된 방법으로 제조할 수 있다. 순환 시간이 증대된 리포좀은 미국 특허 제5,013,556호에 개시되어 있다.

특히 유용한 리포좀은 포스파티딜콜린, 콜레스테롤 및 PEG-유도체화 포스파티딜에탄올아민(PEG-PE)을 함유하는 지질 조성물을 사용하여 역상 증발법에 의해 생성할 수 있다. 정해진 공극 크기의 필터를 통해 리포좀을 밀어내어 소정의 직경을 갖는 리포좀을 수득하였다. 문헌 (Martin et al., J. Biol. Chem., 257:286-288 (1982))에 기재된 바와 같이 디술피드-상호교환 반응을 통해 본 발명 항체의 Fab' 단편을 리포좀에 접합시킬 수 있다. 화학요법제(예를 들어, 독소루비신 (Doxorubicin))은 임의로 리포좀내에 포함된다(문헌 (Gabizon et al., J. National Cancer Inst., 81(19): 1484 (1989)) 참조).

N. 제약 조성물

암을 포함하는 각종 질환을 치료하기 위해, 본원에서 확인된 증폭 유전자에 특이적으로 결합하는 항체 및 상기 기재된 스크리닝 분석에 의해 확인된 다른 분자를 제약 조성물 형태로 투여할 수 있다.

증폭 유전자에 의해 코딩되는 단백질이 세포내에 있고 항체 전부가 억제제로 사용되는 경우, 내부화 항체가 바람직하다. 그러나, 또한 리포펙션 또는 리포좀을 사용하여 항체 또는 항체 단편을 세포내에 전달할 수 있다. 항체 단편이 사용되는 경우, 표적 단백질의 결합 도메인에 특이적으로 결합하는 최소 억제성 단편이 바람직하다. 예를 들어, 항체의 가변-영역 서열을 기초로 하여, 표적 단백질 서열과 결합하는 능력을 지닌 펩티드 분자를 설계할 수 있다. 이러한 펩티드는 화학적으로 합성하고(하거나) 재조합 DNA 기술에 의해 제조할 수 있다(예를 들어, 문헌 (Marasco et al., Pro

c. Natl. Acad. Sci. USA, 90:7889-7893 (1993)) 참조).

항체의 치료 제제는 저장을 위해, 소정의 순도를 갖는 항체를 임의의 제약상 허용되는 담체, 부형체 또는 안정화제(Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th edition, Osol, A. ed. (1980))와 혼합하여 동결건조 제제 또는 수용액의 형태로 제조하였다. 제약상 허용되는 담체, 부형제 또는 안정화제는 투여된 투여량 및 농도가 환자에 무독성이어야하며, 인산, 시트르산 및 기타 유기산의 완충액과 같은 완충액; 아스코르브산 및 메티오닌을 비롯한 산화방지제; 방부제(예를 들어, 옥타데실디메틸벤질 암모늄 클로라이드; 헥사메토늄 클로라이드; 벤즈알코늄 클로라이드, 벤즈에토늄 클로라이드; 페놀, 부틸 또는 벤질 알콜; 메틸 또는 프로필 파라벤과 같은 알킬 파라벤; 카테콜; 레소시놀; 시클로헥산올; 3-펜탄올; 및 m-크레졸); 저분자량(약 10 잔기 미만) 폴리펩티드류; 혈청 알부민, 젤라틴 또는 면역글로불린과 같은 단백질류; 폴리비닐피롤리돈과 같은 소수성 중합체류; 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌 또는 리신과 같은 아미노산류; 일당류, 이당류, 및 글루코스, 만노스 또는 덱스트린을 비롯한 기타 탄수화물류; EDTA와 같은 킬레이트제; 수크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 솔비톨과 같은 당류; 나트륨과 같은 염-형성 카운터 이온; 금속 착물(예를 들어, Zn-단백질 착물); 및(또는) TWEEN(상표명), PLURONICS(상표명) 또는 폴리에틸렌 글리콜(PEG)과 같은 비이온성 계면활성제가 포함된다.

본 발명의 스크리닝 분석에 의해 확인된 비항체 화합물도 당업계에 공지된 표준 기술을 이용하여 유사한 방법으로 제제화될 수 있다.

또한, 본원의 약물은 치료할 특정 증상에 있어 필요에 따라 1 종 이상의 활성 화합물, 바람직하게는 서로 악영향을 주지 않는 상보적인 활성을 지닌 화합물을 포함할 수 있다. 별법으로, 또는 추가로, 이 조성물은 세포독성 물질, 싸이토카인 또는 생장 억제제를 포함할 수 있다. 이러한 분자는 적합하게는 의도된 목적에 효과적인 양으로 배합된다.

활성 성분은, 예를 들어 각각 콜로이드성 약물 전달 시스템 (예를 들어 리포 좀, 알부민 마이크로스피어, 마이크로에멀젼, 나노입자 및 나노캡슐) 또는 마크로에멀젼 중에, 예를 들어 코아세르베이션(coacervation) 기술 또는 계면 중합, 예를 들어 히드록시메틸셀룰로스 또는 젤라틴-마이크로캡슐 및 폴리-(메틸메타크릴레이트) 마이크로캡슐에 의해 제조된 마이크로캡슐에 봉입될 수 있다. 상기 기술은 문헌 (Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th edition, Osol, A. ed. (1980))에 개시되어 있다.

생체내 투여에 사용되는 약물은 멸균처리되어야 한다. 이것은 멸균 여과막을 통한 여과에 의해 용이하게 수행된다.

서방형 제제도 제조될 수 있다. 서방형 제제의 적합한 예에는 항체를 함유하는 고체 소수성 중합체의 반투과성 매트릭스가 포함되며, 이 매트릭스는 필름 또는 마이크로캡슐과 같은 성형품 형태이다. 서방형 매트릭스의 예에는 폴리에스테르, 히드로겔류(예를 들어, 폴리(2-히드록시에틸-메타크릴레이트) 또는 폴리(비닐알콜)), 폴리락티드류(미국 특허 제3,773,919호), L-글루탐산과 에틸-L-글루타메이트의 공중합체, 비분해성 에틸렌-비닐 아세테이트, 분해성 락트산-글리콜산 공중합체, 예를 들어 LUPRON DEPOT(상표명)(락트산-글리콜산 공중합체 및 루프롤라이드 아세테이트로 이루어진 주입가능한 마이크로스피어), 및 폴리-D-(-)-3-히드록시부티르산이 포함된다. 에틸렌-비닐 아세테이트 및 락트산-글리콜산과 같은 중합체는 100일 이상 동안 분자를 방출시키지만, 어떤 히드로겔은 보다 짧은 기간 동안 단백질을 방출시킨다. 캡슐화된 항체가 오랫 동안 체내에 남아있는 경우, 그는 37 ℃에서 습기에 노출된 결과, 변성 또는 응집되어 생물 활성을 감소시키고 면역원성을 변화시킬 수 있다. 안정화를 위해 관련된 메카니즘에 따라 합리적인 전략을 설계할 수 있다. 예를 들어, 응집 메카니즘이 티오-디술피드 상호교환을 통한 분자내 S-S 결합 형성인 것으로 밝혀진다면, 술프히드릴 잔기의 변형, 산성 용액으로부터의 동결건조, 수분 함량 조절, 적절한 첨가제 사용 및 특이적인 중합체 매트릭스 조성물의 개발에 의해 안정화시킬 수 있다.

O. 치료 방법

본 발명의 항체 및 기타 항암 화합물을, 본원에서 확인된 증폭 유전자의 과다 발현 및(또는) 활성화에 의해 특성화된 증상을 포함하는 다양한 증상의 치료에 사용할 수 있음을 고려할 수 있다. 이러한 항체 및 기타 화합물(유기 소분자 및 무기 소분자, 펩티드, 안티센스 분자 등을 포함하나 이에 제한되지 않음)로 치료되는 대표적인 증상 또는 질환에는 양성 또는 악성 종양(예를 들어, 신세포암, 간암, 신장암, 방광암, 유방암, 위암, 난소암, 결직장암, 전립선암, 췌장암, 폐암, 자궁암, 갑상선암, 간암; 육종; 교모세포종; 및 다양한 머리 및 목 종양); 백혈병 및 림프 전이; 신경 질환, 신경교 질환, 성상세포 질환, 시상하부 질환, 및 기타 분비선 질환, 대식세포성 질환, 상피성 질환, 간질성(stromal) 질환 및 포배강성 질환; 및 면역성 질환, 혈관성 질환 및 면역성 질환이 포함된다.

본 발명의 항암제(예를 들어, 항체)는 볼루스로서의 정맥내 투여, 또는 근육내, 복강내, 뇌척수내, 피하내, 관절내, 활액내, 수막강내, 경구, 국소 또는 흡입 경로에 의한 장기간의 연속 관주와 같은 공지된 방법 의해 포유동물, 바람직하게는 인간에게 투여될 수 있다. 항체의 정맥내 투여가 바람직하다.

다른 치료법이 본 발명의 항체와 같은 항암제의 투여와 병행될 수 있다. 예를 들어, 이러한 항암제로 치료되는 환자는

또한 방사선 치료를 받을 수 있다. 별법으로, 또는 추가로, 환자에게 화학요법제를 투여할 수 있다. 이러한 화학요법제의 제조 및 투여 일정은 제조자의 지시를 따르거나 당업계 전문 숙련인에 의해 경험적으로 결정될 수 있다. 또한, 이러한 화학요법제의 제조 및 투여 일정은 문헌 (Chemotherapy Service Ed., M.C.Perry, Williams & Wilkins, Baltimore, MD(1992))에 기재되어 있다. 화학요법제는 항체와 같은 항암제의 투여 전 또는 후에 투여되거나, 동시에 투여될 수 있다. 타목시펜과 같은 항-에스트로겐 화합물 또는 오나프리스톤과 같은 항-프로게스테론 화합물(EP 제616812호 참조)에 대해 공지된 투여량의 상기 분자와 항체를 배합하여 투여할 수 있다.

또한, ErbB2, EGFR, ErbB3, ErbB4 또는 혈관 내피 인자(VEGF)에 결합하는 항체와 같은 기타 종양 관련 항체를 투여하는 것도 바람직하다. 별법으로, 또는 추가로, 본원에 개시된 동일하거나 2종 이상의 상이한 항원에 결합하는 2종 이상의 항체를 환자에 동시 투여할 수 있다. 때로는, 환자에 1 종 이상의 싸이토카인을 투여하는 것도 유익할 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 본원의 항체를 생장 억제제와 동시에 투여할 수 있다. 예를 들어, 우선 생장 억제제를 투여한 후에 본 발명의 항체를 투여할 수 있다. 그러나, 동시 투여나 본 발명의 항체를 먼저 투여하는 것도 고려할 수 있다. 생장 억제제의 적합한 투여량은 현재 사용되는 투여량이며, 생장 억제제와 본원 항체의 복합 작용(상승)으로 인하여 투여량을 저하시킬 수 있다.

질환의 예방 또는 치료를 위해, 본원의 항체와 같은 항암제의 적합한 투여량은 상기 정의한 바와 같이 치료되는 질환의 유형, 심각성 및 질환의 진행 과정, 투여되는 항암제가 예방 목적인지 치료 목적인지, 이전의 치료법, 환자의 임상 병력 및 약물에 대한 반응, 및 재량 및 주치의에 따라 달라질 것이다. 이 약물은 일시에 또는 일련의 치료를 통해 환자에 적합하게 투여된다.

예를 들어, 질환의 유형 및 심각성에 따라, 약 1μg/kg 내지 15mg/kg(예를 들어, 0.1 내지 20mg/kg)의 항체가 1회 이상의 분리된 투여 또는 연속 관주에 의한 환자에의 투여에 대한 초기 후보 투여량이다. 통상적인 일일 투여량은 상기 언급한 인자에 의존하여 약 1μg/kg 내지 100mg/kg 이상이다. 증상에 따라 며칠 이상에 걸친 반복 투여의 경우, 치료는 원하는 질환 징후가 억제될 때까지 지속된다. 그러나, 다른 투여량이 효과적일 수도 있다. 이 치료법의 진행은 종래의 기술 및 분석에 의해 쉽게 모니터링될 수 있다.

P. 제품

본 발명의 또다른 실시양태에서, 질환의 진단 또는 치료에 유용한 물질을 함유하는 제품이 제공된다. 이 제품은 용기 및 라벨을 포함한다. 적합한 용기에는, 예를 들어 병, 바이알, 주사기 및 시험관이 포함된다. 용기는 유리 또는 플라스틱과 같은 다양한 재료로 만들어질 수 있다. 이 용기에는 증상의 진단 또는 치료에 효과적인 조성물이 들어 있으며, 멸균 채취구(access port) (예를 들어, 이 용기는 정맥 주사용액 백(bag)이거나, 피하 주사기 바늘이 뚫을 수 있는 마개가 달린 바이알일 수 있음)가 있을 수 있다. 상기 조성물의 활성 성분은 통상 본원에서 확인된 유전자 산물의 활성을 방해할 수 있는 항암제, 예를 들어 항체이다. 용기 위에 있거나 용기에 부착되어 있는 라벨은 조성물이 선택된 증상의 진단 또는 치료에 사용된다는 것을 알려준다. 이 제품은 또한 인산염-완충 식염수, 링거액 및 덱스트로스 용액과 같은 제약상 허용되는 완충액을 포함하는 제2의 용기를 더 포함할 수 있다. 이 제품은 다른 완충액, 희석액, 필터, 바늘, 주사기, 및 사용 지침이 들어있는 패키지 삽입물을 포함하는, 상업적 관점 및 사용자 관점에서 바람직한 기타 재료를 추가로 포함할 수 있다.

Q. 종양의 진단 및 예후

특정 종양에서 과다 발현되는 생장 수용체와 같은 세포 표면 단백질이 약물 후보 또는 종양(예를 들어, 암) 치료에 대한 훌륭한 표적인 반면, 상기 단백질은 종양 세포에서 증폭 유전자에 의해 코딩되는 분비 단백질과 함께 종양의 진단 및 예후에 부가적인 용도를 나타낸다. 예를 들어, 종양 세포에서 증폭된 유전자의 단백질 산물에 대해 유도된 항체는 종양 진단제 또는 예후제로서 사용할 수 있다.

예를 들어, 항체 단편을 포함하는 항체는 증폭 유전자에 의해 코딩되는 단백질('마커 유전자 산물')의 발현을 정성 또는 정량 검출하는데 사용할 수 있다. 항체는 형광 표지와 같이 검출 가능한 표지물이 부착되어 있는 것이 바람직하며, 항체의 결합은 광학현미경법, 유세포 분석법, 형광법, 또는 당업계에 공지된 다른 기술에 의해 모니터링될 수 있다. 이 기술은, 증폭 유전자가 생장 인자와 같은 세포 표면 단백질을 코딩하는 경우에 특히 적합하다. 이러한 결합 분석법은 상기 5단락에 기재된 바와 같이 수행된다.

원래 위치에서(*in situ*) 마커 유전자 산물에 대한 항체 결합의 검출은, 예를 들어 면역형광현미경법 또는 면역전자현미경법에 의해 수행될 수 있다. 이러한 목적을 위해, 환자로부터 조직학적 샘플을 분리하여, 바람직하게는 상기 생물학적 샘플에 항체를 올려놓음으로써 표지된 항체를 반응시킨다. 또한, 이 절차는 조사된 조직에서 마커 유전자 산물이 어떻게 분포하는지 결정하게 해준다. 원래 위치에서의 검출에 다양한 조직학적 방법을 쉽게 사용할 수 있음이 당업자들에게 명백할 것이다.

하기 실시예는 단지 예시적인 목적으로 제공되며, 어떤 방식으로든 본 발명의 범위를 제한하려는 것은 아니다.

본 명세서에 인용된 모든 특허 및 문헌은 이 거명을 통해 그 전문이 본 명세서에 포함되는 것이다.

<실시예>

본 실시예에 언급되는 상업적 시판 시약은 다른 지시가 없는 한 제조자의 지시에 따라 사용하였다. ATCC(American Type Culture Collection, 10801 University Blvd., Manassas, VA 20110-2209)의 수탁번호에 의해 하기 실시예 및 본 명세서 중의 세포의 출처를 확인하였다. 본 출원에 대한 모든 원기탁은 특허 절차상 미생물 기탁의 국제적 승인에 관한 부다페스트 조약 및 그의 규칙(부다페스트 조약 (Budapest Treaty))의 규정하에 이루어졌다. 이는 기탁일로부터 30년 동안 기탁물의 생존 배양물의 유지를 보장한다. 기탁물은 부다페스트 조약의 협약 하에 ATCC로부터 제넨테크 인크와 ATCC 사이 협정에 따라 분양될 것이며, 이는 관 련 미국 특허의 허여시 또는 미국 또는 외국 특허 출원의 공개시(이 중 먼저인 때) 공공에 대한 기탁물의 배양 프로제니의 영구적이고 비제한적인 분양을 보장하고, 미국 특허 및 상표청장에 의해 35 USC §122 및 그에 따른 미국 특허 및 상표청장의 규칙(37 CFR §1.14 포함, 특히 886 OG 638 참조)에 따라 권리가 있는 것으로 결정한 이에게 프로제니의 분양을 보장한다.

달리 언급이 없는 한, 본 발명은 문헌(Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press N.Y., 1989; Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology, Green Publishing Associates and Wiley Interscience, N.Y., 1989; Innis et al., PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, Academic Press, Inc., Y.Y., 1990; Harlow et al., Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, 1988; Gait, Oligonucleotide Synthesis, IRL Press, Oxford, 1984; R. I. Freshney, Animal Cell Culture, 1987; 및 Coligan et al., Current Protocols in Immunology, 1991)에 기재된 바 및 본원의 상기에 기재된 바와 같은 재조합 DNA 기술의 표준 절차를 이용한다.

실시예 1: 신규 폴리펩티드 및 이를 코딩하는 cDNA를 확인하기 위한 세포외 도메인 상동성 스크리닝

스위스-프롯 (Swiss-Prot) 공개 데이타베이스로부터 약 950 개의 공지된 분비 단백질로부터의 세포외 도메인 (ECD) 서열 (분비 신호 서열이 존재하는 경우에는 이를 포함함)을 사용하여 EST 데이타베이스를 검색하였다. EST 데이타베이스에 는 공개 데이타베이스 (예를 들면, 데이호프 (Dayhoff), 진뱅크)와 비공개 데이타베이스 (예를 들면, LIFESEQ(등록상표); Incyte Pharmaceuticals, Palo Alto, CA)가 포함되었다. EST 서열의 6 개 프레임 번역에 대한 ECD 단백질 서열의 비교로서 컴퓨터 프로그램 BLAST 또는 BLAST-2 (Altschul et al., Methods in Enzymology 266: 460-480 (1996))를 이용하여 검색을 수행하였다. 공지된 단백질을 코딩하지 않는 70 (또는 몇몇 경우 90) 또는 그 이상의 BLAST 스코어를 갖는 비교물을 클러스터시키고, 프로그램 'phrap' (Phil Green, University of Washington, Seattle Washington)을 사용하여 컨센서스 DNA 서열로 어셈블리하였다.

상기 세포외 도메인 상동성 스크리닝을 이용하여, 컨센서스 DNA 서열을 phrap을 사용하여 확인된 다른 EST 서열에 대해 어셈블리하였다. 또한, 수득된 컨센서스 DNA 서열을 종종 (항상은 아니지만) 상기 논의한 EST 서열의 공급원을 사용하여 BLAST 또는 BLAST-2와 phrap의 반복 사이클을 이용하여 가능한 한 이 컨센서스 서열을 신장시켰다.

그 후, 상기한 바와 같이 수득된 컨센서스 서열을 기준으로 올리고뉴클레오티드를 합성하여, PCR에 의해 목적 서열을 포함하는 cDNA 라이브러리를 확인하기 위해 사용하고 PRO 폴리펩티드에 대한 전장 코딩 서열의 클론을 단리하기 위한 프로브로서 사용하였다. 정방향 및 역방향 PCR 프라이머는 일반적으로 20 내지 30 개 뉴클레오티드 범위이고, 종종 약 100 내지 1000 bp 길이의 PCR 산물을 제공하도록 고안된다. 프로브 서열의 길이는 통상적으로 40 내지 55 bp이다. 몇몇 경우, 컨센서스 서열이 약 1 내지 1.5 kbp보다 큰 경우 추가의 올리고뉴클레오티드가 합 성된다. 전장 클론을 위한 몇 개의 라이브러리를 스크리닝하기 위해, 이들 라이브러리로부터의 DNA를 PCR 프라이머 쌍을 사용하여 문헌 (Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology)에 따라 PCR 증폭에 의해 스크리닝하였다. 그 후, 양성 라이브러리를 사용함으로써 프로브 올리고뉴클레오티드 및 프라이머 쌍들 중 하나를 이용하여 관심있는 유전자를 코딩하는 클론을 단리하였다.

cDNA 클론을 단리하기 위해 사용되는 cDNA 라이브러리는 인비트로젠 (Invitrogen, San Diego, CA)사에서 상업적으로 시판하는 것과 같은 시약을 이용하여 표준 방법에 의해 제작하였다. cDNA를 NotⅠ 부위를 갖는 올리고 dT로 프라이밍시키고, 헤미키나제 처리된 SalⅠ 어댑터에 평활 말단으로 연결시키고, NotⅠ로 절단하고, 겔 전기영동으로 크기에 따라 적절하게 분류하고, 적당한 클로닝 벡터 (예를 들면, pRKB 또는 pRKD; pRK5B는 SfiⅠ 부위를 포함하지 않는 pRK5D의 전구체임; 문헌 (Holmes et al., Science , 253 : 1278-1280 (1991)) 참조)내의 유일한 XhoⅠ 및 NotⅠ 부위에 정해진 방향으로 클로닝하였다.

실시예 2: 신호 연산법 분석을 이용한 cDNA 클론의 단리

제넨테크, 인크(Genentech, Inc., South San Franscisco, CA)사에서 개발한 독점적인 신호 서열 검색 연산법을 사용하여, 공개(예를 들어, 진뱅크) 및(또는) 비공개(LIFESEQ(등록상표), Incyte Pharmaceuticals, Inc., Palo Alto, CA) 데이타베이스로부터의 EST 및 클러스터되고 어셈블리된 EST 단편에서 다양한 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 서열을 확인하였다. 신호 서열 연산법은 고려 대상의 서열 또는 서열 단편의 5'-말단에서 첫번째 및 임의로 두번째 메티오닌 코돈(ATG) 주변의 DNA 뉴클레오티드의 특성을 토대로 분비 신호 점수를 계산하였다. 첫번째 ATG 다음의 뉴클레오티드는 어떠한 정지 코돈도 없이 35개 이상의 분명한 아미노산을 코딩해야 한다. 첫번째 ATG가 필요한 아미노산을 갖는 경우, 두번째 ATG는 조사하지 않았다. 상기 두가지 요건을 모두 충족시키지 못하는 경우, 후보 서열의 점수는 계산하지 않았다. EST 서열이 분명한 신호 서열을 포함하는지를 결정하기 위해, 분비 신호와 관련된 것으로 알려진 7개의 센서(평가 파라미터) 한 세트를 사용하여 이 DNA 및 ATG 코돈 주변의 아미노산 서열의 점수를 매겼다. 이 연산법을 사용하여 많은 폴리펩티드-코딩 핵산 서열을 확인하였다.

실시예 3: 인간 PRO381을 코딩하는 cDNA의 단리

상기 실시예 1에 기재된 바와 같이 phrap을 이용하여 컨센서스 DNA 서열을 다른 EST 서열에 대해 어셈블리하였다. 이 컨센서스 서열은 본원에서 DNA39651이라 지칭된다. DNA39651 컨센서스 서열을 기초로 하여, 1) 관심 서열을 포함하는 cDNA 라이브러리를 PCR에 의해 확인하고, 2) PRO381의 전장 코딩 서열의 클론을 단리하기 위한 프로브로서 사용하기 위해 올리고뉴클레오티드를 합성하였다.

1쌍의 PCR 프라이머(정방향 및 역방향)를 합성하였다:

정방향 PCR 프라이머 (39651.f1)

5'--CTTTCCTTGCTTCAGCAACATGAGGC-3' (서열 3)

역방향 PCR 프라이머 (39651.r1)

5'-GCCCAGAGCAGGAGGAATGATGAGC-3' (서열 4)

추가로 하기의 뉴클레오티드 서열을 갖는 합성 올리고뉴클레오티드 혼성화 프로브를 DNA39651 컨센서스 서열로부터 제조하였다.

혼성화 프로브 (39651.p1)

5'-GTGGAACGCGGTCTTGACTCTGTTCGTCACTTCTTTGATTGGGGCTTTG-3' (서열 5)

전장 클론의 공급원을 찾을 목적으로 몇 개의 라이브러리를 스크리닝하기 위해 상기 확인된 PCR 프라이머쌍을 사용한 PCR 증폭에 의해 라이브러리의 DNA를 스크리닝하였다. 그 후, 양성 라이브러리를 사용함으로써 프로브 올리고뉴클레오티드 및 PCR 프라이머들 중 하나로 PRO381 유전자를 코딩하는 클론을 단리하였다. cDNA 라이브러리 제조용 RNA는 인간 태아의 폐 조직(LIB227)으로부터 단리하였다.

상기한 바와 같이 단리된 클론의 DNA 서열 분석을 통하여 DNA44194-1317 (도 1, 서열 1) 및 이로부터 유도된 PRO381의 단백질 서열을 수득하였다.

DNA44194-1317의 전체 코딩 서열은 도 1 (서열 1)에 포함되어 있다. 클론 DNA44194-1317은 뉴클레오티드 위치 174 내지 176의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 807 내지 809의 분명한 정지 코돈을 갖는 단일 오픈 리딩 프레임을 포함한다. 예상되는 폴리펩티드 전구체는 아미노산 211개 길이이다. 도 2 (서열 2)에 나타낸 전장 PRO381 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 2에 나타낸 전장 PRO381 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 20의 신호 펩티드, 약 아미노산 176 내지 약 아미노산 180의 잠재적 N-글리코실화 부위, 약 아미노산 208 내지 약 아미노산 212의 소포체 표적화 서열, 약 아미노산 78 내지 약 아미노산 115 및 약 아미노산 118 내지 약 아미노산 132의 FKBP-형 펩티딜-프롤릴 시스-트랜스 이소머 라제 부위, 약 아미노산 191 내지 약 아미노산 204, 약 아미노산 184 내지 약 아미노산 204 및 약 아미노산 140 내지 약 아미노산 160의 EF-핸드 칼슘 결합 도메인, 및 약 아미노산 183 내지 약 아미노산 204의 S-100/ICaBP형 칼슘 결합 도메인이 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA44194-1317을 1998년 4월 28일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 209808을 배정받았다. 도 2에 나타낸 전장 PRO381 단백질의 추정 분자량은 약 24,172 달톤이며, pI는 약 5.99이다.

전장 PRO381 서열의 분석은 상기 폴리펩티드가 FKBP 이뮤노필린 단백질에 상당한 서열 유사성이 있음을 시사한다. 더 구체적으로는, 도 2 (서열 2)에 나타낸 전장 서열의 WU-BLAST2 서열 정렬 분석을 이용하는 데이호프 데이타베

이스 (버전 35.45 SwissProt 35)의 분석은 PRO381 아미노산 서열과 데이호프 서열 AF040252_1, I49669, P_R93551, S71238, CELC05C8_1, CEU27353_1, MIP_TRYCR, CEZC455_3, FKB4_HUMAN 및 I40718 사이에 상당한 서열 동일성이 있음을 입증하였다.

실시예 4: 인간 PRO1269를 코딩하는 cDNA의 단리

상기 실시예 2에 기재된 독점적인 신호 서열 검색 연산법을 사용하여 DNA66520-1536을 찾아내었다. 상기 기재된 신호 서열 검색 연산법을 이용하여 LIFESEQ(등록상표) 데이타베이스로부터 Incyte EST 클러스터 제101920호라 지칭되는 EST 클러스터 서열을 확인하였다. 이후에 존재하는 상동성을 확인하기 위해, 이 클러스터 서열을 공개(예를 들어, 진뱅크) EST 데이타베이스 및(또는) 비공개(LIFESEQ(등록상표), Incyte Pharmaceuticals, Inc., Palo Alto, CA) EST 데이타베이스를 포함하는 발현 서열 태그(EST) 데이타베이스와 비교하였다. 상동성 검색은 컴퓨터 프로그램 BLAST 또는 BLAST2(Altschul et al., Methods in Enzymology 266: 460-480 (1996))를 이용하여 수행하였다. 공지된 단백질을 코딩하지 않는 70 (또는 몇몇 경우 90) 또는 그 이상의 BLAST 스코어를 갖는 비교물을 클러스터시키고, 프로그램 'phrap' (Phil Green, University of Washington, Seattle Washington)을 사용하여 컨센서스 DNA 서열로 어셈블리하였다. 이로부터 얻은 컨센서스 서열을 본원에서 DNA56509라 명명하였다.

DNA56509 서열과 Incyte EST 제103157호 사이의 서열 상동성을 고려하여, Incyte EST 제103157호를 구입하고, cDNA 삽입체를 수득하여 서열 분석하였다. 이 cDNA 삽입체의 서열은 도 3 (서열 6)에 나타내었고 본원에서 DNA66520-1536이라 명명하였다.

클론 DNA66520-1536은 뉴클레오티드 위치 26 내지 28의 분명한 번역 개시 부위를 갖고 뉴클레오티드 위치 614 내지 616의 정지 코돈에서 종결되는 단일 오픈 리딩 프레임을 포함한다 (도 3). 예상되는 폴리펩티드 전구체는 아미노산 196개 길이이다 (도 4, 서열 7). 도 4에 나타낸 전장 PRO1269 단백질의 추정 분자량은 약 21,731 달톤이며, pI는 약 8.97이다. 도 4 (서열 7)에 나타낸 전장 PRO1269 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 4에 나타낸 전장 PRO1269 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 20의 신호 펩티드, 및 약 아미노산 112 내지 약 아미노산 116의 잠재적 N-글리코실화 부위가 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA66520-1536을 1998년 9월 15일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 203226을 배정받았다.

도 4 (서열 7)에 나타낸 전장 서열의 WU-BLAST2 서열 정렬 분석을 이용하는 데이호프 데이타베이스 (버전 35.45 SwissProt 35)의 분석은 PRO1269 아미노산 서열과 데이호프 서열 P_W23722 사이에 상당한 상동성이 있음을 입증하였다. 또한, PRO1269 아미노산 서열과 데이호프 서열 MMTAG7_1, MTV026_16, NAAA_BPT3, S75616_1 및 NCP_PIG 사이에 상동성이 나타났다.

실시예 5: 인간 PRO1410을 코딩하는 cDNA의 단리

상기 실시예 2에 기재된 독점적인 신호 서열 검색 연산법을 사용하여 DNA68874-1622를 찾아내었다. 상기 기재된 신호 서열 검색 연산법을 이용하여 LIFESEQ(등록상표) 데이타베이스로부터 Incyte EST 클러스터 제98502호라 지칭되는 EST 클러스터 서열을 확인하였다. 이후에 존재하는 상동성을 확인하기 위해, 이 클러스터 서열을 공개(예를 들어, 진뱅크) EST 데이타베이스 및(또는) 비공개(LIFESEQ(등록상표), Incyte Pharmaceuticals, Inc., Palo Alto, CA) EST 데이타베이스를 포함하는 발현 서열 태그(EST) 데이타베이스와 비교하였다. 상동성 검색은 컴퓨터 프로그램 BLAST 또는 BLAST2(Altschul et al., Methods in Enzymology 266: 460-480 (1996))를 이용하여 수행하였다. 공지된 단백질을 코딩하지 않는 70 (또는 몇몇 경우 90) 또는 그 이상의 BLAST 스코어를 갖는 비교물을 클러스터시키고, 프로그램 'phrap' (Phil Green, University of Washington, Seattle Washington)을 사용하여 컨센서스 DNA 서열로 어셈블리하였다. 이로부터 얻은 컨센서스 서열을 본원에서 DNA56451이라 명명하였다.

DNA56451 서열과 Incyte EST 제1257046호 사이의 서열 상동성을 고려하여, Incyte EST 제1257046호를 구입하고, cDNA 삽입체를 수득하여 서열 분석하였다. 이 cDNA 삽입체의 서열은 도 5 (서열 8)에 나타내었고 본원에서 DNA68874-1622라 명명하였다.

클론 DNA68874-1622는 뉴클레오티드 위치 152 내지 154의 분명한 번역 개시 부위를 갖고 뉴클레오티드 위치 866 내지 868의 정지 코돈에서 종결되는 단일 오픈 리딩 프레임을 포함한다 (도 5). 예상되는 폴리펩티드 전구체는 아미노산 238개 길이이다 (도 6, 서열 9). 도 6에 나타낸 전장 PRO1410 단백질의 추정 분자량은 약 25,262 달톤이며, pI는 약 6.44이다. 도 6 (서열 9)에 나타낸 전장 PRO1410 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 6에 나타낸 전장 PRO1410 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 20의 신호 펩티드, 약 아미노산 194 내지 약 아미노산 220의 막횡단 도메인, 및 약 아미노산 132 내지 약 아미노산 136의 잠재적 N-글리코실화 부위가 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA68874-1622를 1998년 9월 22일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 203277을 배정받았다.

도 6 (서열 9)에 나타낸 전장 서열의 WU-BLAST2 서열 정렬 분석을 이용하는 데이호프 데이타베이스 (버전 35.45 SwissProt 35)의 분석은 PRO1410 아미노산 서열과 데이호프 서열 I48652, P_R76466, HSMHC3W36A_2, EPB4_HUMAN, P_R14256, EPA8_MOUSE, P_R77285, P_W13569, AF000560_1 및 ASF1_HELAN 사이에 상당한 상동성이 있음을 입증하였다.

실시예 6: 인간 PRO1755를 코딩하는 cDNA의 단리

상기 실시예 2에 기재된 독점적인 신호 서열 검색 연산법을 사용하여 DNA76396을 찾아내었다. 상기 기재된 신호 서열 검색 연산법을 이용하여 LIFESEQ(등록상표) 데이타베이스로부터 Incyte EST 클러스터 제141872호라 지칭되는 EST 클러스터 서열을 확인하였다. 이후에 존재하는 상동성을 확인하기 위해, 이 클러스터 서열을 공개(예를 들어, 진뱅크) EST 데이타베이스 및(또는) 비공개(LIFESEQ(등록상표), Incyte Pharmaceuticals, Inc., Palo Alto, CA) EST 데이타베이스를 포함하는 발현 서열 태그(EST) 데이타베이스와 비교하였다. 상동성 검색은 컴퓨터 프로그램 BLAST 또는 BLAST2(Altschul et al., Methods in Enzymology 266: 460-480 (1996))를 이용하여 수행하였다. 공지된 단백질을 코딩하지 않는 70 (또는 몇몇 경우 90) 또는 그 이상의 BLAST 스코어를 갖는 비교물을 클러스터시키고, 프로그램 'phrap' (Phil Green, University of Washington, Seattle Washington)을 사용하여 컨센서스 DNA 서열로 어셈블리하였다. 이로부터 얻은 컨센서스 서열을 본원에서 DNA55731이라 명명하였다.

DNA55731 서열과 Incyte EST 제257323호 사이의 서열 상동성을 고려하여, Incyte EST 제257323호를 구입하고, cDNA 삽입체를 수득하여 서열 분석하였다. 이 cDNA 삽입체의 서열은 도 7 (서열 10)에 나타내었고 본원에서 DNA 76396-1698이라 명명하였다. 별법으로, DNA76396 서열은 올리고뉴클레오티드 프로브를 제조하여 적합한 라이브러리(예를 들어, STR9372310)로부터 단리할 수 있다.

DNA76396-1698의 전체 코딩 서열은 도 7 (서열 10)에 포함되어 있다. 클론 DNA76396-1698은 뉴클레오티드 위치 58 내지 60의 분명한 번역 개시 부위를 갖고 뉴클레오티드 위치 886 내지 888의 정지 코돈에서 종결되는 단일 오픈 리딩 프레임을 포함한다 (도 7). 예상되는 폴리펩티드 전구체는 아미노산 276개 길이이다 (도 8, 서열 11). 도 8에 나타낸 전장 PRO1755 단백질의 추정 분자량은 약 29,426 달톤이며, pI는 약 9.40이다. 도 8 (서열 11)에 나타낸 전장 PRO1755 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 8에 나타낸 전장 PRO1755 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 33의 신호 펩티드, 약 아미노산 178 내지 약 아미노산 198의 막횡단 도메인, 약 아미노산 210 내지 약 아미노산 214의 cAMP- 및 cGMP-의존성 단백질 키나아제 인산화 부위, 약 아미노산 117 내지 약 아미노산 123, 약 아미노산 154 내지 약 아미노산 160 및 약 아미노산 214 내지 약 아미노산 220의 잠재적 N-미리스토일화 부위, 및 약 아미노산 149 내지 약 아미노산 152의 세포 부착 서열이 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA76396-1698을 1998년 11월 17일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 203471을 배정받았다.

도 8 (서열 11)에 나타낸 전장 서열의 WU-BLAST2 서열 정렬 분석을 이용하는 데이호프 데이타베이스 (버전 35.45 SwissProt 35)의 분석은 PRO1755 아미노산 서열과 데이호프 서열 APG-BRANA, P_R37743, NAU88587_1, YHL1_EBV, P_W31855, CET10B10_4, AF039404_1, PRP1_HUMAN, AF038575_1 및 AF053091_1 사이에 어느정도 상동성이 있음을 입증하였다.

실시예 7: 인간 PRO1780을 코딩하는 cDNA의 단리

상기 실시예 1에 기재된 바와 같이 phrap을 이용하여 컨센서스 DNA 서열을 다른 EST 서열에 대해 어셈블리하였다. LIFESEQ(등록상표) 데이타베이스로부터 본원에서 DNA63837.init라 지칭되는 Incyte EST 제3349314호를, 공지된 단백질을 코딩하지 않는 70이 넘는 BLAST 점수를 갖는 목적 서열로서 확인하였다. DNA63837.init 서열을 상기 논의한 EST 서열의 공급원을 사용하여 BLAST와 phrap의 반복 사이클을 이용하여 가능한 한 이 컨센서스 서열을 신장시켰다. 이 컨센서스 서열은 본원에서 DNA63837이라 지칭된다.

DNA63837 컨센서스 서열을 기초로 하여, 1) 관심 서열을 포함하는 cDNA 라이브러리를 PCR에 의해 확인하고, 2) PRO1780의 전장 코딩 서열의 클론을 단리하기 위한 프로브로서 사용하기 위해 올리고뉴클레오티드를 합성하였다.

1쌍의 PCR 프라이머(정방향 및 역방향)를 합성하였다:

정방향 PCR 프라이머 (63837.f1)

5'-TGCCTTTGCTCACCTACCCCAAGG-3' (서열 14)

역방향 PCR 프라이머 (63837.r1)

5'-TCAGGCTGGTCTCCAAAGAGAGGG-3' (서열 15)

추가로 하기의 뉴클레오티드 서열을 갖는 합성 올리고뉴클레오티드 혼성화 프로브를 DNA63837 컨센서스 서열로부터 제조하였다.

혼성화 프로브 (63837.p1)

5'-CCCAAAGATGTCCACCTGGCTGCAAATGTGAAAATTGTGGACTGG-3' (서열 16)

전장 클론의 공급원을 찾을 목적으로 몇 개의 라이브러리를 스크리닝하기 위해 상기 확인된 PCR 프라이머쌍을 사용한 PCR 증폭에 의해 라이브러리의 DNA를 스 크리닝하였다. 그 후, 양성 라이브러리를 사용함으로써 프로브 올리고뉴클레오티드 및 PCR 프라이머들 중 하나로 PRO1780 유전자를 코딩하는 클론을 단리하였다. cDNA 라이브러리 제조용 RNA는 인간 태아의 신장 조직으로부터 단리하였다.

상기한 바와 같이 단리된 클론의 DNA 서열 분석을 통하여 DNA71169-1709 (도 9, 서열 12) 및 이로부터 유도된 PRO1780의 단백질 서열을 수득하였다.

DNA71169-1709의 전체 코딩 서열은 도 9 (서열 12)에 포함되어 있다. 클론 DNA71169-1709는 뉴클레오티드 위치 68 내지 70의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 1637 내지 1639의 분명한 정지 코돈을 갖는 단일 오픈 리딩 프레임을 포함한다. 예상되는 폴리펩티드 전구체는 아미노산 523개 길이이다. 도 10 (서열 13)에 나타낸 전장 PRO1780 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 10에 나타낸 전장 PRO1780 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 19의 신호 펩티드, 약 아미노산 483 내지 약 아미노산 504의 막횡단 도메인, 약 아미노산 52 내지 약 아미노산 56의 N-글리코실화 부위, 약 아미노산 68 내지 약 아미노산 75 및 약 아미노산 425 내지 약 아미노산 434의 티로신 키나아제 인산화 부위, 약 아미노산 16 내지 약 아미노산 22, 약 아미노산 301 내지 약 아미노산 307, 약 아미노산 370 내지 약 아미노산 376 및 약 아미노산 494 내지 약 아미노산 500의 N-미리스토일화 부위, 약 아미노산 493 내지 약 아미노산 515의 루이신 지퍼 패턴, 및 약 아미노산 241 내지 약 아미노산 294의 UDP-글루코로노실 부위가 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA71169-1709를 1998년 11월 17일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 203467을 배 정받았다. 도 10에 나타낸 전장 PRO1780 단백질의 추정 분자량은 약 59,581 달톤이며, pI는 약 8.68이다.

도 10 (서열 13)에 나타낸 전장 서열의 WU-BLAST2 서열 정렬 분석을 이용하는 데이호프 데이타베이스 (버전 35.45 SwissProt 35)의 분석은 PRO1780 아미노산 서열과 데이호프 서열 UDA2_RABIT, CGT_HUMAN, UD11_HUMAN, P_R26153, UDB1_RAT, HSU59209_1, AB010872_1, UDB5_MOUSE, UDB8_HUMAN 및 UD14_HUMAN 사이에 상당한 서열 동일성이 있음을 입증하였다.

실시예 8: 인간 PRO1788을 코딩하는 cDNA의 단리

상기 실시예 1에 기재된 바와 같이 phrap을 이용하여 컨센서스 DNA 서열을 다른 EST 서열에 대해 어셈블리하였다. Incyte 클론 제2968304호를 공지된 단백질을 코딩하지 않는 70이 넘는 BLAST 점수를 갖는 목적 서열로서 확인하였다. 또한, 이 서열을 상기 논의한 EST 서열의 공급원을 사용하여 BLAST와 phrap의 반복 사이클을 이용하여 가능한 한 이 컨센서스 서열을 신장시켰다. 이 컨센서스 서열은 본원에서 DNA49648이라 지칭된다. DNA49648 컨센서스 서열을 기초로 하여, 1) 관심 서열을 포함하는 cDNA 라이브러리를 PCR에 의해 확인하고, 2) PRO1788의 전장 코딩 서열의 클론을 단리하기 위한 프로브로서 사용하기 위해 올리고뉴클레오티드를 합성하였다.

1쌍의 PCR 프라이머(정방향 및 역방향)를 합성하였다:

정방향 PCR 프라이머 (49648.f1)

5'-CCCTGCCAGCCGAGAGCTTCACC-3' (서열 19)

역방향 PCR 프라이머 (49648.r1)

5'-GGTTGGTGCCCGAAAGGTCCAGC-3' (서열 20)

추가로 하기의 뉴클레오티드 서열을 갖는 합성 올리고뉴클레오티드 혼성화 프로브를 DNA49648 컨센서스 서열로부터 제조하였다.

혼성화 프로브 (49648.p1)

5'-CAACCCCAAGCTTAACTGGGCAGGAGCTGAGGTGTTTTCAGGCC-3' (서열 21)

전장 클론의 공급원을 찾을 목적으로 몇 개의 라이브러리를 스크리닝하기 위해 상기 확인된 PCR 프라이머쌍을 사용한 PCR 증폭에 의해 라이브러리의 DNA를 스크리닝하였다. 그 후, 양성 라이브러리를 사용함으로써 프로브 올리고뉴클레오티드 및 PCR 프라이머들 중 하나로 PRO1788 유전자를 코딩하는 클론을 단리하였다. cDNA 라이브러리 제조용 RNA는 인간 태아의 신장 조직으로부터 단리하였다.

상기한 바와 같이 단리된 클론의 DNA 서열 분석을 통하여 DNA77652-2505 (도 11, 서열 17) 및 이로부터 유도된 PRO1788의 단백질 서열을 수득하였다.

DNA77652-2505의 전체 코딩 서열은 도 11 (서열 17)에 포함되어 있다. 클론 DNA77652-2505는 뉴클레오티드 위치 64 내지 66의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 1123 내지 1125의 분명한 정지 코돈을 갖는 단일 오픈 리딩 프레임을 포함한다. 예상되는 폴리펩티드 전구체는 아미노산 353개 길이이다. 도 12 (서열 18)에 나타낸 전장 PRO1788 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 12에 나타낸 전장 PRO1788 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 16의 신호 펩티드, 약 아미 노산 215 내지 약 아미노산 232 및 약 아미노산 287 내지 약 아미노산 304의 막횡단 도메인, 약 아미노산 74 내지 약 아미노산 78 및 약 아미노산 137 내지 약 아미노산 141의 잠재적 N-글리코실화 부위, 약 아미노산 45 내지 약 아미노산 49의 글리코사미노글리칸 부착 부위, 약 아미노산 318 내지 약 아미노산 326의 티로신 키나아제 인산화 부위, 약 아미노산 13 내지 약 아미노산 19, 약 아미노산 32 내지 약 아미노산 38, 약 아미노산 88 내지 약 아미노산 94, 약 아미노산 214 내지 약 아미노산 220 및 약 아미노산 223 내지 약 아미노산 229의 N-미리스토일화 부위, 및 약 아미노산 284 내지 약 아미노산 306의 루이신 지퍼 패턴이 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA77652-2505를 1998년 11월 17일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 203480을 배정받았다. 도 12에 나타낸 전장 PRO1788 단백질의 추정 분자량은 약 37,847 달톤이며, pI는 약 6.80이다.

도 12 (서열 18)에 나타낸 전장 서열의 WU-BLAST2 서열 정렬 분석을 이용하는 데이호프 데이타베이스 (버전 35.45 SwissProt 35)의 분석은 PRO1788 아미노산 서열과 데이호프 서열 AF030435_1, AF062006_1, DMTARTAN_1, GARP_HUMAN, S42799, P_R71294, HSU88879_1, DROWHEELER_1, A58532 및 AF068920_1 사이에 상당한 서열 동일성이 있음을 입증하였다.

실시예 9: 인간 PRO3434를 코딩하는 cDNA의 단리

상기 실시예 2에 기재된 독점적인 신호 서열 검색 연산법을 사용하여 DNA77631-2537을 찾아내었다. 상기 기재된 신호 서열 검색 연산법을 이용하여 LIFESEQ(등록상표) 데이타베이스로부터 EST 클러스터 서열을 확인할 수 있었다. 이후에 존재하는 상동성을 확인하기 위해, 이 클러스터 서열을 공개(예를 들어, 진뱅크) EST 데이타베이스 및(또는) 비공개(LIFESEQ(등록상표), Incyte Pharmaceuticals, Inc., Palo Alto, CA) EST 데이타베이스를 포함하는 발현 서열 태그(EST) 데이타베이스와 비교하였다. 상동성 검색은 컴퓨터 프로그램 BLAST 또는 BLAST2(Altschul et al., Methods in Enzymology 266: 460-480 (1996))를 이용하여 수행하였다. 공지된 단백질을 코딩하지 않는 70 (또는 몇몇 경우 90) 또는 그 이상의 BLAST 스코어를 갖는 비교물을 클러스터시키고, 프로그램 'phrap' (Phil Green, University of Washington, Seattle Washington)을 사용하여 컨센서스 DNA 서열로 어셈블리하였다. 이로부터 얻은 컨센서스 서열을 본원에서 DNA56099라 명명하였다.

DNA56099 서열과 Incyte EST 제3327089호 사이의 서열 상동성을 고려하여, Incyte EST 제3327089호를 구입하고, cDNA 삽입체를 수득하여 서열 분석하였다. 이 cDNA 삽입체의 서열은 도 13 (서열 22)에 나타내었고 본원에서 DNA77631-2537이라 명명하였다.

클론 DNA77631-2537은 뉴클레오티드 위치 46 내지 48의 분명한 번역 개시 부위를 갖고 뉴클레오티드 위치 3133 내지 3135의 정지 코돈에서 종결되는 단일 오픈 리딩 프레임을 포함한다 (도 13). 예상되는 폴리펩티드 전구체는 아미노산 1029개 길이이다 (도 14, 서열 23). 도 14에 나타낸 전장 PRO3434 단백질의 추정 분자량은 약 114,213 달톤이며, pI는 약 6.42이다. 도 14 (서열 23)에 나타낸 전장 PRO3434 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 14에 나타낸 전장 PRO3434 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 16의 신호 펩티드, 약 아미노산 154 내지 약 아미노산 158, 약 아미노산 331 내지 약 아미노산 335, 약 아미노산 616 내지 약 아미노산 620, 약 아미노산 785 내지 약 아미노산 789 및 약 아미노산 891 내지 약 아미노산 895의 cAMP- 및 cGMP-의존성 단백질 키나아제 인산화 부위, 약 아미노산 91 내지 약 아미노산 97, 약 아미노산 136 내지 약 아미노산 142, 약 아미노산 224 내지 약 아미노산 230, 약 아미노산 435 내지 약 아미노산 441, 약 아미노산 439 내지 약 아미노산 445, 약 아미노산 443 내지 약 아미노산 449, 약 아미노산 665 내지 약 아미노산 671 및 약 아미노산 698 내지 약 아미노산 704의 잠재적 N-미리스토일화 부위, 약 아미노산 329 내지 약 아미노산 333 및 약 아미노산 634 내지 약 아미노산 638의 아미드화 부위, 및 약 아미노산 96 내지 약 아미노산 135의 올리고아데닐레이트 합성효소 부위가 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA77631-2537을 1999년 2월 9일에 ATCC에

기탁하여 ATCC 기탁번호 203651을 배정받았다.

도 14 (서열 23)에 나타낸 전장 서열의 WU-BLAST2 서열 정렬 분석을 이용하는 데이호프 데이타베이스 (버전 35.45 SwissProt 35)의 분석은 PRO3434 아미노산 서열과 데이호프 서열 VATX_YEAST, P_R51171, POLS_IBDVP, IBDVORF_2, JC5043, IBDVPIV_1, VE7_HPV11, GEN14220, MUTS_THETH 및 COAC_CHICK 사이에 상당한 서열 동일성이 있음을 입증하였다.

실시예 10: 인간 PRO1927을 코딩하는 cDNA의 단리

상기 실시예 2에 기재된 독점적인 신호 서열 검색 연산법을 사용하여 DNA82307-2531을 찾아내었다. 상기 기재된 신호 서열 검색 연산법을 이용하여 LIFESEQ(등록상표) 데이타베이스로부터 EST 클러스터 제1913호를 확인할 수 있었다. 이후에 존재하는 상동성을 확인하기 위해, 이 클러스터 서열을 공개(예를 들어, 진뱅크) EST 데이타베이스 및(또는) 비공개(LIFESEQ(등록상표), Incyte Pharmaceuticals, Inc., Palo Alto, CA) EST 데이타베이스를 포함하는 발현 서열 태그(EST) 데이타베이스와 비교하였다. 상동성 검색은 컴퓨터 프로그램 BLAST 또는 BLAST2(Altschul et al., Methods in Enzymology 266: 460-480 (1996))를 이용하여 수행하였다. 공지된 단백질을 코딩하지 않는 70 (또는 몇몇 경우 90) 또는 그 이상의 BLAST 스코어를 갖는 비교물을 클러스터시키고, 프로그램 'phrap' (Phil Green, University of Washington, Seattle Washington)을 사용하여 컨센서스 DNA 서열로 어셈블리하였다. 어셈블리된 서열에는 본원에서 'DNA20168'이라 지칭되는 제넨테크 데이타베이스로부터의 EST가 포함되었다. 이 컨센서스 서열을 본원에서 DNA73896이라 명명하였다.

DNA73896 서열과 Incyte EST 제3326981H1호[대동맥 조직에서 단리된 RNA로부터 제작된 라이브러리에서 수득함] 사이의 서열 상동성을 고려하여, Incyte EST 제3326981H1호를 구입하고, cDNA 삽입체를 수득하여 서열 분석하였다. 이 cDNA 삽입체의 서열은 도 15 (서열 24)에 나타내었고 본원에서 DNA82307-2531이라 명명하였다.

클론 DNA82307-2531은 뉴클레오티드 위치 51 내지 53의 분명한 번역 개시 부위를 갖고 뉴클레오티드 위치 1695 내지 1697의 정지 코돈에서 종결되는 단일 오픈 리딩 프레임을 포함한다 (도 15). 예상되는 폴리펩티드 전구체는 아미노산 548개 길이이다 (도 16, 서열 25). 도 16에 나타낸 전장 PRO1927 단백질의 추정 분자량은 약 63,198 달톤이며, pI는 약 8.10이다. 도 16 (서열 25)에 나타낸 전장 PRO1927 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 16에 나타낸 전장 PRO1927 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 23의 신호 펩티드, 약 아미노산 5 내지 약 아미노산 9, 약 아미노산 87 내지 약 아미노산 91, 약 아미노산 103 내지 약 아미노산 107 및 약 아미노산 465 내지 약 아미노산 469의 잠재적 N-글리코실화 부위, 및 약 아미노산 6 내지 약 아미노산 12, 약 아미노산 136 내지 약 아미노산 142, 약 아미노산 370 내지 약 아미노산 376 및 약 아미노산 509 내지 약 아미노산 515의 잠재적 N-미리스토일화 부위가 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA82307-2531을 1998년 12월 15일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 203537을 배정받았다.

도 16 (서열 25)에 나타낸 전장 서열의 WU-BLAST2 서열 정렬 분석을 이용하는 데이호프 데이타베이스 (버전 35.45 SwissProt 35)의 분석은 PRO1927 아미노산 서열과 데이호프 서열 AB000628_1 사이에 상당한 상동성이 있음을 입증하였다. 또한, PRO1927 아미노산 서열과 추가의 데이호프 서열 HGS_A251, HGS_A197, CELC50H11_2, CPXM_BACSU,VF03_VACCC, VF03_VACCV, DYHA_CHLRE, C69084 및 A64315 사이에 상동성이 있음을 입증하였다.

실시예 11: 인간 PRO3567을 코딩하는 cDNA의 단리

상기 실시예 1에 기재된 바와 같이 phrap을 이용하여 컨센서스 DNA 서열을 다른 EST 서열에 대해 어셈블리하였다. 이 컨센서스 서열은 본원에서 DNA52711이라 지칭된다. DNA52711 컨센서스 서열 및 Merck EST 클론 제AA082750호를 기초로 하여, Merck EST 클론 제AA082750호를 구입하고, cDNA 삽입체를 수득하여 서열 분석하였다. 그 전체 뉴클레오티드 서열은 도 17 (서열 26)에 나타내었고 본원에서 DNA56049-2543이라 명명하였다.

클론 DNA56049-2543은 뉴클레오티드 위치 97 내지 99의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 637 내지 639의 분명한 정지 코돈을 갖는 단일 오픈 리딩 프레임을 포함한다. 예상되는 폴리펩티드 전구체는 아미노산 180개 길이이다. 도 18 (서열 27)에 나타낸 전장 PRO3567 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 18에 나타낸 전장 PRO3567 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 25의 신호 펩티드, 약 아미노산 149 내지 약 아미노산 164의 막횡단 도메인, 약 아미노산 141 내지 약 아미노산 145의 N-글리코실화 부위, 약 아미노산 25 내지 약 아미노산 31 및 약 아미노산 135 내지 약 아미노산 141의 N-미리스토일화 부위, 약 아미노산 16 내지 약 아미노산 27의 원핵생물 세포막 지질단백질 지질 부착 부위, 약 아미노산 112 내지 약 아미노산 115의 세포 부착 서열, 및 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 21의 TonB-의존성 수용체 단백질 시그너처 1이 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA56049-2543을 1999년 2월 9일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 203662를 배정받았다. 도 18에 나타낸 전장 PRO3567 단백질의 추정 분자량은 약 20,313 달톤이며, pI는 약 8.

91이다.

도 18 (서열 27)에 나타낸 전장 서열의 WU-BLAST2 서열 정렬 분석을 이용하는 데이호프 데이타베이스 (버전 35.45 SwissProt 35)의 분석은 PRO3567 아미노산 서열과 데이호프 서열 SPC2_CANFA, SPC2_CHICK, SPC2_CAEEL, AF057144_1, YD2B_SCHPO, S61639, SPC3_YEAST, AMU21992_1, EPU22004_1 및 CMU20539_1 사이에 상당한 서열 동일성이 있음을 입증하였다.

실시예 12: 인간 PRO1295를 코딩하는 cDNA의 단리

상기 실시예 2에 기재된 독점적인 신호 서열 검색 연산법을 사용하여 DNA59218-1559를 찾아내었다. 상기 기재된 신호 서열 검색 연산법을 이용하여 LIFESEQ(등록상표) 데이타베이스로부터 EST 클러스터 서열을 확인할 수 있었다. 이후에 존재하는 상동성을 확인하기 위해, 이 클러스터 서열을 공개(예를 들어, 진뱅크) EST 데이타베이스 및(또는) 비공개(LIFESEQ(등록상표), Incyte Pharmaceuticals, Inc., Palo Alto, CA) EST 데이타베이스를 포함하는 발현 서열 태그(EST) 데이타베이스와 비교하였다. 상동성 검색은 컴퓨터 프로그램 BLAST 또는 BLAST2(Altschul et al., Methods in Enzymology 266: 460-480 (1996))를 이용하여 수행하였다. 공지된 단백질을 코딩하지 않는 70 (또는 몇몇 경우 90) 또는 그 이상의 BLAST 스코어를 갖는 비교물을 클러스터시키고, 프로그램 'phrap' (Phil Green, University of Washington, Seattle Washington)을 사용하여 컨센서스 DNA 서열로 어셈블리하였다. 이로부터 얻은 컨센서스 서열을 본원에서 DNA56262라 명명하였다.

DNA56262 서열과 Incyte EST 제3743334호 사이의 서열 상동성을 고려하여, 상기 EST를 포함하는 클론을 구입하고, cDNA 삽입체를 수득하여 서열 분석하였다. 이 cDNA 삽입체의 서열은 도 19 (서열 28)에 나타내었고 본원에서 DNA59218-1559라 명명하였다.

클론 DNA59218-1559는 뉴클레오티드 위치 207 내지 209의 분명한 번역 개시 부위를 갖고 뉴클레오티드 위치 1047 내지 1049의 정지 코돈에서 종결되는 단일 오픈 리딩 프레임을 포함한다 (도 19). 예상되는 폴리펩티드 전구체는 아미노산 280개 길이이다 (도 20, 서열 29). 도 20에 나타낸 전장 PRO1295 단백질의 추정 분자량은 약 30,163 달톤이며, pI는 약 6.87이다. 도 20 (서열 29)에 나타낸 전장 PRO1295 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 20에 나타낸 전장 PRO1295 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 18의 신호 펩티드, 약 아미노산 244 내지 약 아미노산 248의 N-글리코실화 부위, 및 약 아미노산 278 내지 약 아미노산 282의 미소체 C-말단 표적화 신호가 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA59218-1559를 1998년 9월 29일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 203287을 배정받았다.

도 20 (서열 29)에 나타낸 전장 서열의 WU-BLAST2 서열 정렬 분석을 이용하는 데이호프 데이타베이스 (버전 35.45 SwissProt 35)의 분석은 PRO1295 아미노산 서열과 데이호프 서열 AB011099_1, ILVE_MYCTU, ATTECR_2, AF010496_27, P_R15346, S37191, PER_DROMS, L2MU_ADECC 및 P_W34238 사이에 서열 동일성이 있음을 입증하였다.

실시예 13: 인간 PRO1293을 코딩하는 cDNA의 단리

상기 실시예 2에 기재된 독점적인 신호 서열 검색 연산법을 사용하여 DNA60618-1557을 찾아내었다. 상기 기재된 신호 서열 검색 연산법을 이용하여 LIFESEQ(등록상표) 데이타베이스로부터 Incyte EST 클러스터 서열 제115204호라 지칭되는 EST 클러스터 서열을 확인할 수 있었다. 이후에 존재하는 상동성을 확인하기 위해, 이 클러스터 서열을 공개(예를 들어, 진뱅크) EST 데이타베이스 및(또는) 비공개(LIFESEQ(등록상표), Incyte Pharmaceuticals, Inc., Palo Alto, CA) EST 데이타베이스를 포함하는 발현 서열 태그(EST) 데이타베이스와 비교하였다. 상동성 검색은 컴퓨터 프로그램 BLAST 또는 BLAST2(Altschul et al., Methods in Enzymology 266: 460-480 (1996))를 이용하여 수행하였다. 공지된 단백질을 코딩하지 않는 70 (또는 몇몇 경우 90) 또는 그 이상의 BLAST 스코어를 갖는 비교물을 클러스터시키고, 프로그램 'phrap' (Phil Green, University of Washington, Seattle Washington)을 사용하여 컨센서스 DNA 서열로 어셈블리하였다. 이로부터 얻은 컨센서스 서열을 본원에서 DNA56522라 명명하였다.

DNA56522 서열과 Incyte EST 클론 제2966119호 사이의 서열 상동성을 고려하여, Incyte EST 클론 제2966119호를 구입하고, cDNA 삽입체를 수득하여 서열 분석하였다. 이 cDNA 삽입체의 서열은 도 21 (서열 30)에 나타내었고 본원에서 DNA60618-1557이라 명명하였다.

클론 DNA60618-1557은 뉴클레오티드 위치 37 내지 39의 분명한 번역 개시 부위를 갖고 뉴클레오티드 위치 1060 내지 1062의 정지 코돈에서 종결되는 단일 오픈 리딩 프레임을 포함한다 (도 21). 예상되는 폴리펩티드 전구체는 아미노산 341개 길이이다 (도 22, 서열 31). 도 22에 나타낸 전장 PRO1293 단백질의 추정 분자량은 약 38,070 달톤이며, pI는 약 6.88이다. 도 22 (서열 31)에 나타낸 전장 PRO1293 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 22에 나타낸 전장 PRO1293 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산

1 내지 약 아미노산 19의 신호 펩티드, 약 아미노산 237 내지 약 아미노산 262의 막횡단 도메인, 약 아미노산 205 내지 약 아미노산 209의 잠재적 N-글리코실화 부위, 약 아미노산 151 내지 약 아미노산 154의 세포 부착 서열, 및 약 아미노산 115 내지 약 아미노산 141의 코프로포르피리노겐 III 옥시다제 단백질 상동성 아미노산 블록이 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA60618-1557을 1998년 9월 29일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 203292를 배정받았다.

도 22 (서열 31)에 나타낸 전장 서열의 WU-BLAST2 서열 정렬 분석을 이용하는 데이호프 데이타베이스 (버전 35.45 SwissProt 35)의 분석은 PRO1293 아미노산 서열과 데이호프 서열 HSVCD54_1, A33_HUMAN, AF009220_1, HSU82279_1, AF004230_1, P_R13272, AF004231_1, AF043644_1, S44125 및 HSIGGHC85_1 사이에 상당한 상동성이 있음을 입증하였다.

실시예 14: 인간 PRO1303을 코딩하는 cDNA의 단리

상기 실시예 1에 기재된 바와 같이 phrap을 이용하여 컨센서스 DNA 서열을 다른 EST 서열에 대해 어셈블리하였다. 이 컨센서스 서열은 본원에서 DNA47347이라 지칭된다. DNA47347 컨센서스 서열, 그리고 DNA47347이 유도된 어셈블리 내의 Incyte EST에 대한 상동성을 기초로 하여, Incyte 클론 제1430305호를 구입하고, cDNA 삽입체를 수득하여 전체를 서열 분석하였다. 그 전체 뉴클레오티드 서열은 도 23 (서열 32)에 나타내었고 본원에서 DNA65409-1566이라 명명하였다.

클론 DNA65409-1566은 뉴클레오티드 위치 121 내지 123의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 865 내지 867의 분명한 정지 코돈을 갖는 단일 오픈 리딩 프레임을 포함한다. 예상되는 폴리펩티드 전구체는 아미노산 248개 길이이다. 도 24 (서열 33)에 나타낸 전장 PRO1303 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 24에 나타낸 전장 PRO1303 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 17의 신호 펩티드, 약 아미노산 24 내지 약 아미노산 28 및 약 아미노산 163 내지 약 아미노산 167의 N-글리코실화 부위, 약 아미노산 58 내지 약 아미노산 64의 세린 프로테아제 트립신 족 히스티딘 활성 부위, 약 아미노산 47 내지 약 아미노산 64, 약 아미노산 196 내지 약 아미노산 207 및 약 아미노산 218 내지 약 아미노산 242의 세린 프로테아제 트립신 족 히스티딘 단백질 도메인, 약 아미노산 47 내지 약 아미노산 65 및 약 아미노산 194 내지 약 아미노산 207의 크링글 도메인 단백질 부위, 및 약 아미노산 220 내지 약 아미노산 248의 애플 도메인 부위가 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA65409-1566을 1998년 9월 15일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 203232를 배정받았다. 도 24에 나타낸 전장 PRO1303 단백질의 추정 분자량은 약 26,734 달톤이며, pI는 약 7.90이다.

도 24 (서열 33)에 나타낸 전장 서열의 WU-BLAST2 서열 정렬 분석을 이용하는 데이호프 데이타베이스 (버전 35.45 SwissProt 35)의 분석은 PRO1303 아미노산 서열과 데이호프 서열 AB009849_1, P_W08475, AF024605_1, A42048_1, TRY3_RAT, MMAE00066414, TRY1_RAT, MMAE000663_4, MMAE000665_2 및 MMAE00066412 사이에 상동성이 있음을 입증하였다.

실시예 15: 인간 PRO4344를 코딩하는 cDNA의 단리

상기 실시예 1에 기재된 바와 같이 phrap을 이용하여 컨센서스 DNA 서열을 다른 EST 서열에 대해 어셈블리하였다. 이 컨센서스 서열은 본원에서 DNA80203이라 지칭된다. DNA80203 컨센서스 서열을 기초로 하여, 1) 관심 서열을 포함하는 cDNA 라이브러리를 PCR에 의해 확인하고, 2) PRO4344의 전장 코딩 서열의 클론을 단리하기 위한 프로브로서 사용하기 위해 올리고뉴클레오티드를 합성하였다.

1쌍의 PCR 프라이머(정방향 및 역방향)를 합성하였다:

정방향 PCR 프라이머

5'-CTTGCTCCTGGCCATCAAGTCAC-3' (서열 36)

역방향 PCR 프라이머

5'-GTTGAAGAAGTCCTCAGTGAAGTCCCAC-3' (서열 37)

추가로 하기의 뉴클레오티드 서열을 갖는 합성 올리고뉴클레오티드 혼성화 프로브를 DNA80203 컨센서스 서열로부터 제조하였다.

혼성화 프로브

5'-CAGCTGAAGCTGGTGTTCCTCCTAGGGGTGGCAGGATCCG-3' (서열 38)

전장 클론의 공급원을 찾을 목적으로 몇 개의 라이브러리를 스크리닝하기 위해 상기 확인된 PCR 프라이머쌍을 사용한 PCR 증폭에 의해 라이브러리의 DNA를 스 크리닝하였다. 그 후, 양성 라이브러리를 사용함으로써 프로브 올리고뉴클레오티드 및 PCR 프라이머들 중 하나로 PRO4344 유전자를 코딩하는 클론을 단리하였다. cDNA 라이브러리 제조용 RNA는 인간 대동맥 내피 세포로부터 단리하였다.

상기한 바와 같이 단리된 클론의 DNA 서열 분석을 통하여 DNA84927-2585 (도 25, 서열 34) 및 이로부터 유도된 PRO4344의 단백질 서열을 수득하였다.

DNA84927-2585의 전체 코딩 서열은 도 25 (서열 34)에 포함되어 있다. 클론 DNA84927-2585는 뉴클레오티드 위치 357 내지 359의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 1491 내지 1493의 분명한 정지 코돈을 갖는 단일 오픈 리딩 프레임을 포함한다. 예상되는 폴리펩티드 전구체는 아미노산 378개 길이이다. 도 26 (서열 35)에 나타낸 전장 PRO4344 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 26에 나타낸 전장 PRO4344 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 39의 신호 펩티드, 약 아미노산 30 내지 약 아미노산 49의 Ⅱ형 막횡단 도메인, 약 아미노산 79 내지 약 아미노산 83, 약 아미노산 104 내지 약 아미노산 108 및 약 아미노산 192 내지 약 아미노산 196의 N-글리코실화 부위, 약 아미노산 194 내지 약 아미노산 198 및 약 아미노산 352 내지 약 아미노산 356의 카제인 키나아제 Ⅱ 인산화 부위, 약 아미노산 14 내지 약 아미노산 20, 약 아미노산 160 내지 약 아미노산 166 및 약 아미노산 367 내지 약 아미노산 373의 N-미리스토일화 부위, 및 약 아미노산 35 내지 약 아미노산 46의 원핵생물 세포막 지질단백질 지질 부착 부위가 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA84927-2585를 1999년 3월 23일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 203865를 배정받았다. 도 26에 나타낸 전장 PRO4344 단백질의 추정 분자량은 약 42,310 달톤이며, pI는 약 9.58이다.

도 26 (서열 35)에 나타낸 전장 서열의 WU-BLAST2 서열 정렬 분석을 이용하는 데이호프 데이타베이스 (버전 35.45 SwissProt 35)의 분석은 PRO4344 아미노산 서열과 데이호프 서열 P_W64558, P_W80212, AF029790_1, P_R57433, AB003478_1, MMHC425O1814, DMU41449_1, DMSEG0007_10, DMC65G3_4 및 FNG_DROME 사이에 상동성이 있음을 입증하였다.

<u>실시예 16: 인간 PRO4354를 코딩하는 cDNA의 단리</u>

상기 실시예 2에 기재된 독점적인 신호 서열 검색 연산법을 사용하여 DNA92256-2596을 찾아내었다. 상기 기재된 신호 서열 검색 연산법을 이용하여 LIFESEQ(등록상표) 데이타베이스로부터 본원에서 'DNA10195'라고도 불리우는 EST 클러스터(92909) 서열을 확인할 수 있었다. 이후에 존재하는 상동성을 확인하기 위해, 이 클러스터 서열을 공개(예를 들어, 진뱅크) EST 데이타베이스 및(또는) 비공개(LIFESEQ(등록상표), Incyte Pharmaceuticals, Inc., Palo Alto, CA) EST 데이타베이스를 포함하는 발현 서열 태그(EST) 데이타베이스와 비교하였다. 상동성 검색은 컴퓨터 프로그램 BLAST 또는 BLAST2(Altschul et al., Methods in Enzymology 266: 460-480 (1996))를 이용하여 수행하였다. 공지된 단백질을 코딩하지 않는 70 (또는 몇몇 경우 90) 또는 그 이상의 BLAST 스코어를 갖는 비교물을 클러스터시키고, 프로그램 'phrap' (Phil Green, University of Washington, Seattle Washington)을 사용하여 컨센서스 DNA 서열로 어셈블리하였다. 이로부터 얻은 컨 센서스 서열을 본원에서 DNA56063이라 명명하였다.

상기 클러스터 서열 및 서열 정렬을 기초로 하여, DNA92264-2596을 확인하고 전체를 서열 분석하였다. 전체 코딩 서열은 도 27 (서열 39)에 포함되어 있다.

클론 DNA92256-2596은 뉴클레오티드 위치 108 내지 110의 분명한 번역 개시 부위를 갖고 뉴클레오티드 위치 852 내지 854의 정지 코돈에서 종결되는 단일 오픈 리딩 프레임을 포함한다 (도 27). 예상되는 폴리펩티드 전구체는 아미노산 248개 길이이다 (도 28, 서열 40). 도 28에 나타낸 전장 PRO4354 단백질의 추정 분자량은 약 28,310 달톤이며, pI는 약 4.63이다. 도 28 (서열 40)에 나타낸 전장 PRO4354 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 28에 나타낸 전장 PRO4354 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 21의 신호 펩티드, 약 아미노산 106 내지 약 아미노산 110의 cAMP- 및 cGMP-의존성 단백질 키나아제 인산화 부위, 약 아미노산 36 내지 약 아미노산 40, 약 아미노산 80 내지 약 아미노산 84, 약 아미노산 84 내지 약 아미노산 88, 약 아미노산 158 내지 약 아미노산 162, 약 아미노산 202 내지 약 아미노산 206, 약 아미노산 207 내지 약 아미노산 211 및 약 아미노산 213 내지 약 아미노산 217의 카제인 키나아제 Ⅱ 인산화 부위, 약 아미노산 115 내지 약 아미노산 121의 N-미리스토일화 부위, 및 약 아미노산 70 내지 약 아미노산 74의 아미드화 부위가 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA92256-2596을 1999년 3월 30일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 203891을 배정받았다.

도 28 (서열 40)에 나타낸 전장 서열의 WU-BLAST2 서열 정렬 분석을 이용하 는 데이호프 데이타베이스 (버전 35.45 SwissProt 35)의 분석은 PRO4354 아미노산 서열과 데이호프 서열 HGS_RF300, CEVK04G11_2, CEC11H1_7,

HSU80744_1, CEF09E8_2, RNAJ2967_1, DDICOI_1, AB020648_1, P_W33887 및 A64319 사이에 상동성이 있음을 입증하였다.

실시예 17: 인간 PRO4397을 코딩하는 cDNA의 단리

상기 실시예 1에 기재된 바와 같이 phrap을 이용하여 컨센서스 DNA 서열을 다른 EST 서열에 대해 어셈블리하였다. 이 컨센서스 서열은 본원에서 DNA79196이라 지칭된다. DNA79196 컨센서스 서열을 기초로 하여, 1) 관심 서열을 포함하는 cDNA 라이브러리를 PCR에 의해 확인하고, 2) PRO4397의 전장 코딩 서열의 클론을 단리하기 위한 프로브로서 사용하기 위해 올리고뉴클레오티드를 합성하였다.

1쌍의 PCR 프라이머(정방향 및 역방향)를 합성하였다:

정방향 PCR 프라이머

5'-ACCTAACGCTCAAGGAGATCCACTTTC-3' (서열 43)

역방향 PCR 프라이머

5'-GGCTCCATTCTGGGTCTGAGTTAGG-3' (서열 44)

추가로 하기의 뉴클레오티드 서열을 갖는 합성 올리고뉴클레오티드 혼성화 프로브를 DNA79196 컨센서스 서열로부터 제조하였다.

혼성화 프로브

5'-GCCTCAGCTTTCTGCCCCGACGTGCGCTTCGTTTTTAAGG-3' (서열 45)

전장 클론의 공급원을 찾을 목적으로 몇 개의 라이브러리를 스크리닝하기 위 해 상기 확인된 PCR 프라이머쌍을 사용한 PCR 증폭에 의해 라이브러리의 DNA를 스크리닝하였다. 그 후, 양성 라이브러리를 사용함으로써 프로브 올리고뉴클레오티드 및 PCR 프라이머들 중 하나로 PRO4397 유전자를 코딩하는 클론을 단리하였다. cDNA 라이브러리 제조용 RNA는 인간 선암종 세포주로부터 단리하였다.

상기한 바와 같이 단리된 클론의 DNA 서열 분석을 통하여 DNA83505-2606 (도 29, 서열 41) 및 이로부터 유도된 PRO4397의 단백질 서열을 수득하였다.

DNA83505-2606의 전체 코딩 서열은 도 29 (서열 41)에 포함되어 있다. 클론 DNA83505-2606은 뉴클레오티드 위치 254 내지 256의 분명한 번역 개시 부위 및 뉴클레오티드 위치 1460 내지 1462의 분명한 정지 코돈을 갖는 단일 오픈 리딩 프레임을 포함한다. 예상되는 폴리펩티드 전구체는 아미노산 402개 길이이다. 도 30 (서열 42)에 나타낸 전장 PRO4397 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 30에 나타낸 전장 PRO4397 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 27의 신호 펩티드, 약 아미노산 203 내지 약 아미노산 207의 N-글리코실화 부위, 약 아미노산 124 내지 약 아미노산 128, 약 아미노산 205 내지 약 아미노산 209, 약 아미노산 351 내지 약 아미노산 355 및 약 아미노산 368 내지 약 아미노산 372의 카제인 키나아제 II 인산화 부위, 약 아미노산 18 내지 약 아미노산 24, 약 아미노산 31 내지 약 아미노산 37, 약 아미노산 110 내지 약 아미노산 116, 약 아미노산 157 내지 약 아미노산 163, 약 아미노산 161 내지 약 아미노산 167, 약 아미노산 163 내지 약 아미노산 169 및 약 아미노산 366 내지 약 아미노산 372의 N-미리스토일화 부위, 및 약 아미 노산 107 내지 약 아미노산 110의 세포 부착 서열이 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA83505-2606을 1999년 5월 25일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 132-PTA를 배정받았다. 도 30에 나타낸 전장 PRO4397 단백질의 추정 분자량은 약 43,751 달톤이며, pI는 약 9.42이다.

도 30 (서열 42)에 나타낸 전장 서열의 WU-BLAST2 서열 정렬 분석을 이용하는 데이호프 데이타베이스 (버전 35.45 SwissProt 35)의 분석은 PRO4397 아미노산 서열과 데이호프 서열 P_W64558, P_W80212, HSGALT2_1, P_R57433, AF100956_7, HS1033B10_2, AF029792_1, DMU41449_1, DMSEG0007_10 및 AF092051_1 사이에 상동성이 있음을 입증하였다.

실시예 18: 인간 PRO4407을 코딩하는 cDNA의 단리

상기 실시예 2에 기재된 독점적인 신호 서열 검색 연산법을 사용하여 DNA92264-2616을 찾아내었다. 상기 기재된 신호 서열 검색 연산법을 이용하여 LIFESEQ(등록상표) 데이타베이스로부터 EST 클러스터 서열을 확인할 수 있었다

. 이후에 존재하는 상동성을 확인하기 위해, 이 클러스터 서열을 공개(예를 들어, 진뱅크) EST 데이타베이스 및(또는) 비공개(LIFESEQ(등록상표), Incyte Pharmaceuticals, Inc., Palo Alto, CA) EST 데이타베이스를 포함하는 발현 서열 태그(EST) 데이타베이스와 비교하였다. 상동성 검색은 컴퓨터 프로그램 BLAST 또는 BLAST2(Altschul et al., Methods in Enzymology 266: 460-480 (1996))를 이용하여 수행하였다. 공지된 단백질을 코딩하지 않는 70 (또는 몇몇 경우 90) 또는 그 이상의 BLAST 스코어를 갖는 비교물을 클러스터시키고, 프로그램 'phrap' (Phil Green, University of Washington, Seattle Washington)을 사용하여 컨센서스 DNA 서열로 어셈블리하였다. 상기 클러스터 서열 및 서열 정렬을 기초로 하여, DNA92264-2616을 확인하고 서열 분석하였다.

전체 코딩 서열은 도 31 (서열 46)에 포함되어 있다. 클론 DNA92264-2616은 뉴클레오티드 위치 109 내지 111의 분명한 번역 개시 부위를 갖고 뉴클레오티드 위치 757 내지 759의 정지 코돈에서 종결되는 단일 오픈 리딩 프레임을 포함한다 (도 31). 예상되는 폴리펩티드 전구체는 아미노산 216개 길이이다 (도 32, 서열 47). 도 32에 나타낸 전장 PRO4407 단백질의 추정 분자량은 약 23,729 달톤이며, pI는 약 4.73이다. 도 32 (서열 47)에 나타낸 전장 PRO4407 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 32에 나타낸 전장 PRO4407 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 25의 신호 펩티드, 약 아미노산 41 내지 약 아미노산 59의 막횡단 도메인, 약 아미노산 129 내지 약 아미노산 133 및 약 아미노산 173 내지 약 아미노산 177의 카제인 키나아제 II 인산화 부위, 및 약 아미노산 133 내지 약 아미노산 139의 N-미리스토일화 부위가 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA92264-2616을 1999년 4월 27일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 203969를 배정받았다.

도 32 (서열 47)에 나타낸 전장 서열의 WU-BLAST2 서열 정렬 분석을 이용하는 데이호프 데이타베이스 (버전 35.45 SwissProt 35)의 분석은 PRO4407 아미노산 서열과 데이호프 서열 SC1E6_12, D80003_1, HMGA_SOYBN, DROTRO12_1, HSU91934_1, GEN14338, AF051945_1, A45644, P_W60213 및 P_W33807 사이에 상동성이 있음을 입 증하였다.

실시예 19: 인간 PRO1555를 코딩하는 cDNA의 단리

상기 실시예 2에 기재된 독점적인 신호 서열 검색 연산법을 사용하여 DNA73744-1665를 찾아내었다. 상기 기재된 신호 서열 검색 연산법을 이용하여 LIFESEQ(등록상표) 데이타베이스로부터 EST 클러스터 제521호라 지칭되며 본원에서 'DNA10316'이라고도 불리우는 EST 클러스터 서열을 확인할 수 있었다. 이후에 존재하는 상동성을 확인하기 위해, 이 클러스터 서열을 공개(예를 들어, 진뱅크) EST 데이타베이스 및(또는) 비공개(LIFESEQ(등록상표), Incyte Pharmaceuticals, Inc., Palo Alto, CA) EST 데이타베이스를 포함하는 발현 서열 태그(EST) 데이타베이스와 비교하였다. 상동성 검색은 컴퓨터 프로그램 BLAST 또는 BLAST2(Altschul et al., Methods in Enzymology 266: 460-480 (1996))를 이용하여 수행하였다. 공지된 단백질을 코딩하지 않는 70 (또는 몇몇 경우 90) 또는 그 이상의 BLAST 스코어를 갖는 비교물을 클러스터시키고, 프로그램 'phrap' (Phil Green, University of Washington, Seattle Washington)을 사용하여 컨센서스 DNA 서열로 어셈블리하였다. 이 컨센서스 서열을 본원에서 DNA56374라 명명하였다.

DNA56374 서열과 Incyte EST 제2855769호 사이의 서열 상동성을 고려하여, Incyte EST 제2855769호를 구입하고, cDNA 삽입체를 수득하여 서열 분석하였다. Incyte EST 제2855769호는 여성의 유방 지방 조직에서 제작된 라이브러리로부터 유래하였다. 이 cDNA 삽입체의 서열을 본원에서 DNA73744-1665라 명명하였다.

전체 코딩 서열은 도 33 (서열 48)에 포함되어 있다. 클론 DNA73744-1665는 뉴클레오티드 위치 90 내지 92의 분명한 번역 개시 부위를 갖고 뉴클레오티드 위치 828 내지 830의 정지 코돈에서 종결되는 단일 오픈 리딩 프레임을 포함한다 (도 33). 예상되는 폴리펩티드 전구체는 아미노산 246개 길이이다 (도 34, 서열 49). 도 34에 나타낸 전장 PRO1555 단백질의 추정 분자량은 약 26,261 달톤이며, pI는 약 5.65이다. 도 34 (서열 49)에 나타낸 전장 PRO1555 서열의 분석은 그 위치가 대략 상기 기재된 바와 같은 중요한 폴리펩티드 도메인의 존재를 입증한다. 도 34에 나타낸 전장 PRO1555 폴리펩티드의 분석은 약 아미노산 1 내지 약 아미노산 31의 신호 펩티드, 약 아미노산 11 내지 약 아미노산 32 및 약 아미노산 195 내지 약 아미노산 217의 막횡단 도메인, 약 아미노산 111 내지 약 아미노산 115의 잠재적 N-글리코실화 부위, 약 아미노산 2 내지 약 아미노산 6, 약 아미노산 98 내지 약 아미노산 102 및 약 아미노산 191 내지 약 아미노산 195의 잠재적 카제인 키나아제 II 인산화 부위, 및 약 아미노산 146 내지 약 아미노산 152 및 약 아미노산 192 내지 약 아미노산 198의 잠재적 N-미리스토일화 부위가 존재하는 것을 입증한다. 클론 DNA73744-1665를 1998년 10월 6일에 ATCC에 기탁하여 ATCC 기탁번호 203322를 배정받았다.

도 34 (서열 49)에 나타낸 전장 서열의 WU-BLAST2 서열 정렬 분석을 이용하는 데이호프 데이타베이스 (버전 35.45 SwissProt 35)의 분석은 PRO1555 아미노산 서열과 데이호프 서열 YKA4_CAEEL, AB014541_1, HVSX99518_2, SSU63019_1, GEN14286, MMU68267_1, XP2_XENLA, ICP4_HSV11, P_W40200 및 AE001360_1 사이에 어느정도 상동성이 있음을 입증하였다.

실시예 20: 유전자 증폭

본 실시예는 인간의 특정 폐암, 결장암 및(또는) 유방암, 및(또는) 세포주의 게놈에서 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262를 코딩하는 유전자가 증폭된다는 것을 보여준다. 이 유전자의 증폭은 유전자 산물의 과다 발현과 관련되어 있으며, 이로써 상기 폴리펩티드들이 결장암, 폐암, 유방암 및 기타 암과 같은 특정 암의 치료에 있어서 유용한 표적임을 알 수 있다. 치료제는, 예를 들어 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드에 대한 쥐-인간 키메라 항체, 인간화 항체 또는 인간 항체와 같은, PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드에 대한 길항제의 형태일 수 있다.

스크리닝을 위한 출발 물질은 다양한 암으로부터 단리된 게놈 DNA였다. DNA는 형광법과 같은 방법으로 정확하게 정량하였다. 음성 대조용으로서, 10명의 건강한 정상 개체로부터 DNA를 단리하여 이를 모은 후, 건강한 개체의 유전자 복제본에 대한 분석 대조용으로 사용하였다(나타내지 않음). 5' 뉴클레아제 분석(예를 들어, TaqMan™) 및 실시간 정량 PCR(예를 들어, ABI 프리즘(Prizm) 7700 서열 검 출 시스템(상표명, Perkin Elmer, Applied Biosystems Division, Foster City, CA))을 이용하여 특정 암에서 잠재적으로 증폭되는 유전자를 찾아냈다. 이 결과를 이용하여, PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262를 코딩하는 DNA가 스크리닝된 원발성 폐암 또는 결장암이나 암세포주 또는 유방암 세포주에서 과다 발현되는지 여부를 결정하였다. 표 4에 그 유형 및 단계가 기재된 종양이 있는 개체로부터 원발성 폐암을 수득하였다. 표 4에 기재된 원발성 종양을 지칭하기 위해 사용되는 약어, 및 본 실시예 전체에 걸쳐 언급되는 원발성 종양 및 세포주에 대한 설명은 본원의 상기에 기재되었다.

택맨(TaqMan)(상표명)의 결과는 델타(Δ)Ct 단위로 기록된다. 1 단위는 1 PCR 싸이클 또는 정상에 비해 2배 증폭된 것에 상응하며, 2 단위는 4배, 3단위는 8배가 증폭된 것에 상응한다. PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262를 코딩하는 유전자로부터 유도된 프라이머 및 택맨(상표명) 형광 프로브를 사용하여 정량화하였다. 독특한 핵산 서열을 가지며 스플라이싱으로 제거되는 인트론이 아닐 것 같은 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262의 영역(예를 들어, 3'-비번역 영역)이 프 라이머 및 프로브를 유도하기에 바람직하다. PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 유전자 증폭 분석에 사용된 프라이머 및 프로브(정방향, 역방향 및 프로브)는 하기와 같다:

PRO381 (DNA44194-1317)

44194.tm.f :

5'-CTTTGAATAGAAGACTTCTGGACAATTT-3' (서열 56)

44194.tm.p:

5'-TTGCAACTGGGAATATACCACGACATGAGA-3' (서열 57)

44194.tm.r:

5'-TAGGGTGCTAATTTGTGCTATAACCT-3' (서열 58)

44194.tm.f2:

5'-GGCTCTGAGTCTCTGCTTGA-3' (서열 59)

44194.tm.p2:

5'-TCCAACAACCATTTTCCTCTGGTCC-3' (서열 60)

44194.tm.r2:

5'-AAGCAGTAGCCATTAACAAGTCA-3' (서열 61)

PRO1269 (DNA66520-1536)

66520.tm.f1:

5'-AAAGGACACCGGGATGTG-3' (서열 62)

66520.tm.p1:

5'-AGCGTACACTCTCTCCAGGCAACCAG-3' (서열 63)

66520.tm.r1:

5'-CAATTCTGGATGAGGTGGTAGA-3' (서열 64)

PRO1410 (DNA68874-1622)

68874.tm.f1:

5'-CAGGACTGAGCGCTTGTTTA-3' (서열 65)

68874.tm.p1:

5'-CAAAGCGCCAAGTACCGGACC-3' (서열 66)

68874.tm.r1:

5'-CCAGACCTCAGCCAGGAA-3' (서열 67)

PRO1755 (DNA76396-1698)

76396.tm.f1:

5'-TCATGGTCTCGTCCCATTC-3' (서열 68)

76396.tm.p1:

5'-CACCATTTGTTTCTCTGTCTCCCCATC-3' (서열 69)

76396.tm.r1:

5'-CCGGCATCCTTGGAGTAG-3' (서열 70)

PRO1780 (DNA71169-1709)

71169.tm.f1:

5'-CTCTGGTGCCCACAGTGA-3' (서열 71)

71169.tm.p1:

5'-CCATGCCTGCTCAGCCAAGAA-3' (서열 72)

71169.tm.r1:

5'-CAGGAAATCTGGAAACCTACAGT-3' (서열 73)

PRO1788 (DNA77652-2505)

77652.tm.f1:

5'-TCCCCATTAGCACAGGAGTA-3' (서열 74)

77652.tm.p1:

5'-AGGCTCTTGCCTGTCCTGCTGCT-3' (서열 75)

77652.tm.r1:

5'-GCCCAGAGTCCCACTTGT-3' (서열 76)

PRO3434 (DNA77631-2537)

77631.tm.f1:

5'-GTCCAGCAAGCCCTCATT-3' (서열 77)

77631.tm.p1:

5'-CTTCTGGGCCACAGCCCTGC-3' (서열 78)

77631.tm.r1:

5'-CAGTTCAGGTCGTTTCATTCA-3' (서열 79)

PRO1927 (DNA82307-2531)

82307.tm.f1:

5'-CCAGTCAGGCCGTTTTAGA-3' (서열 80)

82307.tm.p1:

5'-CGGGCGCCCAAGTAAAAGCTC-3' (서열 81)

82307.tm.r1:

5'-CATAAAGTAGTATATGCATTCCAGTGTT-3' (서열 82)

PRO3567 (DNA56049-2543)

56049.tm.f1:

5'-GGAAATGGTCTCAAGGGAAA-3' (서열 83)

56049.tm.p1:

5'-TCACTTTGACCCTGTCTTGGAACGTC-3' (서열 84)

56049.tm.r1:

5'-GGTAGAATTCCAGCATTTGGTA-3' (서열 85)

PRO1295 (DNA59218-1559)

59218.tm.f1:

5'-AGGACTTGCCCTCAGGAA-3' (서열 86)

59218.tm.r1:

5'-CGCAGGACAGTTGTGAAAATA-3' (서열 87)

59218.tm.p1:

5'-ATGACGCTCGTCCAAGGCCAC-3' (서열 88)

PRO1293 (DNA60618-1557)

60618.tm.f1:

5'-CCCACCTGTACCACCATGT-3' (서열 89)

60618.tm.p1:

5'-ACTCCAGGCACCATCTGTTCTCCC-3' (서열 90)

60618.tm.r1:

5'-AAGGGCTGGCATTCAAGTU-3' (서열 91)

PRO1303 (DNA65409-1566)

65409.tm.f1:

5'-CTGGCCCTCAGAGCACCAAT-3' (서열 92)

*65409.tm.p1:

5'-TCCTCCATCACTTCCCCTAGCTCCA-3' (서열 93)

65409.tm.r1:

5'-CTGGCAGGAGTTAAAGTTCCAAGA-3' (서열 94)

PRO4344 (DNA84927-2585)

84927.tm.f1:

5'-GGGCAACAGCCTGAGAGT-3' (서열 95)

84927.tm.p1:

5'-ACTCAGTGTTGATTCTCTATCGTGATGCG-3' (서열 96)

84927.tm.r1:

5'-GAGCAGCAGGCATCAATTT-3' (서열 97)

PRO4354 (DNA92256-2596)

92256.tm.f1:

5'-GGCCTGGAGTTGCTGATAA-3' (서열 98)

92256.tm.p1:

5'-TTGAGCTTAAGTAGACCAAGTATCTATCCCACCTAAA-3' (서열 99)

92256.tm.r1

5'-GGTGGGCTCTGGGTTACA-3' (서열 100)

<u>PRO4397 (DNA83505-2606)</u>

83505.tm.f1:

5'-AGCCGGTTTCCCAGATTAT-3' (서열 101)

83505.tm.p1:

5'-TGCCGTGTATGTGGTTCTTCCCTG-3' (서열 102)

83505.tm.r1:

5'-GAGACAGGCACCTGGTGAT-3' (서열 103)

<u>PRO4407 (DNA92264-2616)</u>

92264.tm.f1:

5'-TGTTTCTGCCTGGACATCA-3' (서열 104)

92264.tm.r1:

5'-GCTTACCGTGGCCTGACT-3' (서열 105)

92264.tm.p1:

5'-TCCTCAGGGTCCAAGTCCCCAT-3' (서열 106)

<u>PRO1555 (DNA73744-1665)</u>

73744.tm.f1:

5'-CCTTGAAAAGGACCCAGTTT-3' (서열 107)

73744.tm.p1:

5'-ATGAGTCGCACCTGCTGTTCCC-3' (서열 108)

73744.tm.r1:

5'-TAGCAGCTGCCCTTGGTA-3' (서열 109)

73744.tm.f2:

5'-AACAGCAGGTGCGACTCATCTA-3' (서열 110)

73744.tm.p2:

5'-TGCTAGGCGACGACACCCAGACC-3' (서열 111)

73744.tm.r2 :

5'-TGGACACGTGGCAGTGGA-3' (서열 112)

PRO1096 (DNA61870)

61870.tm.f1:

5'-TGGACCATGAAGCCAGTTT-3' (서열 113)

61870.tm.p1:

5'-CCTTTTTAGTTGGCTAACTGACCTGGAAAGAA-3' (서열 114)

61870.tm.r1:

5'-TGAATAGTCACTTTGAGGTTATTGC-3' (서열 115)

PRO2038 (DNA83014)

83014.tm.f1:

5'-CCTGGCTCCACCTGTGAT-3' (서열 116)

83014.tm.p1:

5'-ACCTCCCCCTGCTTCCTGCTG-3' (서열 117)

83014.tm.r1:

5'-CCTCAGACCCCATGAGTGA-3' (서열 118)

PRO2262 (DNA88273)

88273.tm.f1:

5'-GAGGAATGGCCCAACAGT-3' (서열 119)

88273.tm.p1:

5'-TGGCAGCCACCCTTCAGTGAG-3' (서열 120)

88273.tm.r1:

5'-CAGCACATCACGTGTCCA-3' (서열 121)

88273.tm.f2:

5'-GAGGAATGGCCCAACAGT-3' (서열 122)

88273.tm.p2:

5'-TGTCCATGCCCCTGGTCCAC-3' (서열 123)

88273.tm.r2 :

5'-GAGGTACAGAGCAGCACATCA-3' (서열 124)

5' 뉴클레아제 분석 반응은 실시간으로 증폭을 모니터하기 위해 Taq DNA 중합효소의 5' 엑소뉴클레아제 활성을 이용하는, 형광 PCR-기재의 기술이다. PCR 반응을 대표하는 앰플리콘을 생성하기 위해 2개의 올리고뉴클레오티드 프라이머를 사용한다. 3번째 올리고뉴클레오티드, 즉 프로브는 상기 2개의 PCR 프라이머 사이에 위치한 뉴클레오티드 서열을 검출하도록 고안된다. 이 프로브는 Taq DNA 중합효소에 의해 신장될 수 없으며, 리포터 형광 염료 및 켄처(quencher) 형광 염료로 표지되어 있다. 리포터 염료로부터의 어떤 레이저-유도 방출은, 이 리포터 염료와 켄칭 염료가 매우 가깝게 위치할 경우에 프로브에 있는 켄칭 염료에 의해 형광 신호가 약해진다. 증폭 반응시, Taq DNA 중합효소는 주형에 의존적인 방식으로 프로브를 절단한다. 결과의 프로브 단편은 용액 중에서 해리되어, 방출된 리포터 염료로부터의 신호에는 제2 형광체(fluorophore)의 켄칭 효과가 나타나지 않는다. 리포터 염료 1 분자는 합성된 새로운 분자 각각에 대해 유리되고, 켄칭되지 않은 염료의 검출은 데이타의 정량적 조절에 대한 기초를 제공한다.

5' 뉴클레아제 분석의 절차는 ABI 프리즘 7700TM 서열 검출기와 같은 실시간 정량 PCR 장치에서 수행된다. 이 시스템은 열순환기(thermocycler), 레이저, 전하 결합 소자(CCD) 카메라 및 컴퓨터로 이루어져 있다. 이 시스템은 열순환기 상의 96-웰 포맷에서 샘플을 증폭시킨다. 증폭시 레이저-유도 형광 신호는 모든 96 웰 에 대해 섬유 광케이블을 통해 실시간으로 수집되어 CCD에서 검출된다. 이 시스템에는 장치 구동 및 데이타 분석을 위한 소프트웨어가 포함되어 있다.

5' 뉴클레아제 분석 데이타는 최초에 Ct, 즉 역치 싸이클(threshold cycle)로 표현된다. 이는 리포터 신호가 배경 수준의 형광을 초과하여 측정되는 경우의 싸이클로서 정의된다. ΔCt 값은, 암 DNA의 결과를 정상 인간 DNA의 결과와 비교할 때, 핵산 샘플에서 특정 표적 서열의 출발 복제본 수에 대한 상대적인 정량 측정값으로 사용된다.

표 4에는 본 발명의 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 화합물을 스크리닝하는데 사용된 다양한 원발성 종양의 단계, T 단계 및 N 단계가 기재되어 있다.

[표 4]

원발성 종양	단계	기타 단계	듀크 단계	T 단계	N 단계
인간 폐 종양 AdenoCa(SRCC724)[LT1]	II A			T1	N1
인간 폐 종양 SqCCa(SRCC724)[LT1a]	II B			T3	N0
인간 폐 종양 AdenoCa(SRCC726)[LT2]	I B			T2	N0
인간 폐 종양 AdenoCa(SRCC727)[LT3]	III A			T1	N2
인간 폐 종양 AdenoCa(SRCC728)[LT4]	I B			T2	N0
인간 폐 종양 AdenoCa(SRCC729)[LT6]	I B			T2	N0
인간 폐 종양 Aden/SqCCa(SRCC730)[LT7]	I A			T1	N0
인간 폐 종양 AdenoCa(SRCC731)[LT9]	I B			T2	N0
인간 폐 종양 SqCCa(SRCC732)[LT10]	II B			T2	N1
인간 폐 종양 SqCCa(SRCC733)[LT11]	II A			T1	N1
인간 폐 종양 AdenoCa(SRCC734)[LT12]	I V			T2	N0
인간 폐 종양 AdenoSqCCa(SRCC735)[LT13]	I B			T2	N0
인간 폐 종양 SqCCa(SRCC736)[LT15]	I B			T2	N0
인간 폐 종양 SqCCa(SRCC737)[LT16]	I B			T2	N0
인간 폐 종양 SqCCa(SRCC738)[LT17]	II B			T2	N1
인간 폐 종양 SqCCa(SRCC739)[LT18]	I B			T2	N0
인간 폐 종양 SqCCa(SRCC740)[LT19]	I B			T2	N0
인간 폐 종양 LCCa(SRCC741)[LT21]	II B			T3	N1
인간 폐 AdenoCa(SRCC811)[LT22]	1A			T1	N0
인간 결장 AdenoCa(SRCC742)[CT2]		M1	D	pT4	N0
인간 결장 AdenoCa(SRCC743)[CT3]			B	pT3	N0
인간 결장 AdenoCa(SRCC744)[CT8]			B	T3	N0
인간 결장 AdenoCa(SRCC745)[CT10]			A	pT2	N0

인간 결장 AdenoCa(SRCC746)[CT12]		MO, R1	B	T3	N0
인간 결장 AdenoCa(SRCC747)[CT14]		pMO, RO	B	pT3	pN0
인간 결장 AdenoCa(SRCC748)[CT15]		M1, R2	D	T4	N2
인간 결장 AdenoCa(SRCC749)[CT16]		pMO	B	pT3	pN0
인간 결장 AdenoCa(SRCC750)[CT17]			C1	pT3	pN1
인간 결장 AdenoCa(SRCC751)[CT1]		MO, R1	B	pT3	N0
인간 결장 AdenoCa(SRCC752)[CT4]			B	pT3	M0
인간 결장 AdenoCa(SRCC753)[CT5]		G2	C1	pT3	pN0
인간 결장 AdenoCa(SRCC754)[CT6]		pMO, RO	B	pT3	pN0
인간 결장 AdenoCa(SRCC755)[CT7]		G1	A	pT2	pN0
인간 결장 AdenoCa(SRCC756)[CT9]		G3	D	pT4	pN2
인간 결장 AdenoCa(SRCC757)[CT11]			B	T3	N0
인간 결장 AdenoCa(SRCC758)[CT18]		MO, RO	B	pT3	pN0

DNA 제조 :

배양된 세포주, 원발성 종양 및 정상 인간의 혈액으로부터 DNA를 제조하였다. 퀴아젠(Qiagen)사의 정제 키트, 완충액 세트 및 프로테아제를 이용하여, 제조자의 지시 및 하기 기재된 내용에 따라 DNA를 단리하였다.

세포 배양물의 용해:

세포를 세척하고 각 팁(tip)당 7.5×10^{8}의 농도로 트립신을 처리한 후, 4℃에서 1000rpm으로 5분 동안 원심분리하고, 1/2 부피의 PBS로 세척한 다음 다시 원심분리하였다. 펠릿을 세번째로 세척하고, 현탁된 세포를 수집하여 PBS로 2회 세척하였다. 이후에 세포를 PBS 10ml에 현탁하였다. 4℃에서 C1 완충액으로 평형화시켰다. 퀴아젠 프로테아제 #19155를 차가운 ddH$_2$O 6.25ml로 희석하여 최종 농도를 20mg/ml로 맞춘 후, 4℃에서 평형화시켰다. 퀴아젠 RNase A 원액(100mg/ml)을 최종 농도 200μg/ml로 희석하여 G2 완충액 10ml을 제조하였다.

세포 현탁액 10ml에 C1 완충액(10ml, 4℃) 및 ddH$_2$O(40ml, 4℃)를 가하고, 거꾸로 세워 이들을 혼합한 후, 얼음상에서 10분 동안 인큐베이션하였다. 4℃의 베크만 스윙 버킷(Beckman swing bucket) 로터에서 2500rpm으로 15분 동안 원심분리하여 세포 핵을 펠릿화시켰다. 상층액을 버리고, C1 완충액(4℃) 2ml 및 ddH$_2$O 6ml 중에서 볼텍싱하여 핵을 현탁한 후, 4℃에서 2500rpm으로 15분 동안 두번째로 원심분리하였다. 이후에 200㎕ 팁을 이용하여 잔류 완충액에 핵을 재현탁하였다. 부드럽게 볼텍싱하면서 현탁된 핵에 G2 완충액(10ml)을 가하였다. 완충액을 모두 가한 후에 30초 동안 철저히 볼텍싱하였다. 퀴아젠 프로테아제(200㎕, 상기와 같이 제조함)를 가하고, 50℃에서 60분 동안 인큐베이션하였다. 세포 용해물이 투명해질 때까지 인큐베이션 및 원심분리를 반복하였다(예를 들어, 추가의 30 내지 60분 동안 인큐베이션 후, 4℃에서 3000xg로 10분동안 펠릿화시킴).

인간 충실성 종양 샘플 준비 및 용해:

종양 샘플을 계량하고, 50ml 코니컬 튜브에 넣어 얼음에 보관하였다. 공정은 각 제조당 조직 250mg으로 제한되었다(1 팁/제조). 차가운 ddH$_2$O 6.25ml에 희석하여 최종 농도를 20mg/ml로 함으로써 프로테아제 용액을 새로이 제조하여, 이를 4℃에 보관하였다. DNase A를 최종 농도 200μg/ml(100mg/ml 원액)로 희석하여 G2 완충액(20ml)을 제조하였다. 에어로졸을 흡입하지 않기 위해 라미나-플로우 (laminar-flow) TC 후드에서 폴리트론의 큰 팁을 이용하여, G2 완충액 19ml 중에서 종양 조직을 균질화시켜 상온에서 보관하였다. 샘플들 사이에서, ddH$_2$O 2L 중에서 30초씩 2회 가라앉히고, G2 완충액(50ml) 중에서 가라앉혀 폴리트론을 깨끗하게 하였다. 팁에 조직이 여전히 존재하는 경우에는 장치를 분해하여 깨끗하게 하였다.

퀴아젠 프로테아제(상기와 같이 제조함, 1.0ml)를 가한 후, 볼텍싱하고 50℃에서 3시간 동안 인큐베이션하였다. 세포 용해물이 투명해질 때까지 인큐베이션 및 원심분리를 반복하였다(예를 들어, 추가의 30 내지 60분 동안 인큐베이션 후, 4℃에서 3000xg로 10분동안 펠릿화시킴).

인간 혈액 준비 및 용해:

표준 감염제 프로토콜을 이용하여 건강한 지원자로부터 혈액을 채취하여 시트르산염 용액 10ml에 넣었다. 차가운 ddH_2O 6.25ml에 희석하여 최종 농도를 20mg/ml로 함으로써 프로테아제 용액을 새로이 제조하여, 이를 4°C에 보관하였다. DNase A를 100mg/ml 원액으로부터 최종 농도 200µg/ml로 희석하여 G2 완충액을 제조하였다. 혈액(10ml)을 50ml 코니컬 튜브에 넣고, C1 완충액 10ml 및 ddH_2O 30ml(모두 4°C로 미리 평형화시킴)을 가한 후, 거꾸로 세워 성분을 혼합하여 얼음상에서 10분 동안 방치하였다. 4°C의 베크만 스윙 버킷 로터에서 2500rpm으로 15분 동안 원심분리하여 핵을 펠릿화시킨 후, 상층액을 버렸다. C1 완충액(4°C) 2ml 및 ddH_2O 6ml(4°C) 중에서 볼텍싱하여 핵을 현탁하였다. 펠릿이 하얗게 될 때까지 볼텍싱을 반복하였다. 이후에 200㎕ 팁을 이용하여 잔류 완충액에 핵을 재현탁하였다. 부드럽게 볼텍싱하면서 현탁된 핵에 G2 완충액(10ml)을 가한 후, 30초 동안 철저히 볼텍싱하였다. 퀴아젠 프로테아제(200㎕)를 가하고, 50°C에서 60분 동안 인큐베이션하였다. 세포 용해물이 투명해질 때까지 인큐베이션 및 원심분리를 반복하였다(예를 들어, 추가의 30 내지 60분 동안 인큐베이션 후, 4°C에서 3000xg로 10분동안 펠릿화시킴).

투명한 용해물의 정제:

(1) 게놈 DNA의 단리:

게놈 DNA를 QBT 완충액 10ml에 평형화시켰다(맥시 팁(maxi tip) 당 샘플 1개). QF 용출 완충액을 50°C에서 평형화시켰다. 샘플을 30초 동안 볼텍스한 후, 평형화된 팁에 로딩하여 중력의 힘으로 흐르게 하였다. 팁을 QC 완충액 15ml로 2회 세척하였다. QF 완충액 15ml을 이용하여(50°C), 실란화 및 살균된 30ml 코렉스(Corex) 튜브에 DNA를 용출시켰다. 이소프로판올(10.5ml)을 각 샘플에 가하고, 튜브를 파라핀으로 덮은 후, DNA가 침전될 때까지 거꾸로 세우는 과정을 계속 반복하여 혼합하였다. 4°C의 SS-34 로터에서 15,000rpm으로 10분 동안 원심분리하여 샘 플을 펠릿화시켰다. 펠릿 위치를 표시하고, 상층액을 버린 후, 70% 에탄올 10ml(4°C)을 가하였다. 4°C의 SS-34 로터에서 10,000rpm으로 10분 동안 다시 원심분리하여 샘플을 펠릿화시켰다. 펠릿의 위치를 표시하고, 상층액을 버렸다. 이후에 샘플이 과도하게 건조되지 않도록 주의하면서 튜브를 건조대에 넣고 37°C에서 10분 동안 건조시켰다.

건조 후, 펠릿을 TE(pH 8.5) 1.0ml 에 용해시키고, 50°C에 1 내지 2시간 동안 방치하였다. 계속 용해되도록 샘플을 4°C에 밤새 방치하였다. 이후에, 투베르쿨린(tuberculin) 주사기의 26 게이지 바늘을 이용하여 DNA 용액을 1.5ml 튜브에 옮겼다. DNA를 절단하기 위해 상기와 같이 옮기는 과정을 5회 반복하였다. 이후에 샘플을 50°C에 1 내지 2시간 동안 방치하였다.

(2) 게놈 DNA의 정량 분석 및 유전자 증폭 분석용 제제:

베크만 DU640 분광기에서 0.1ml 석영 큐벳을 이용하여, 1:20 희석(5㎕ DNA + 95㎕ ddH_2O) 샘플의 표준 A_{260}/A_{280} 분광법에 의해 각 튜브의 DNA 양을 정량하였다. A_{260}/A_{280} 의 비율은 1.8 내지 1.9 사이였다. 이후에 각 DNA 샘플을 TE(pH 8.5)중에 추가로 희석하여 약 200ng/ml이 되게하였다. 원래의 재료가 매우 고농도(약 700ng/㎕)인 경우에는 DNA가 현탁될 때까지 50°C에 몇 시간 동안 방치하였다.

하기와 같이 변형된 제조자의 안내서를 이용하여, 희석된 재료(20 내지 600ng/ml)의 형광 DNA 정량법을 수행하였다. 이는 호퍼(Hoeffer) DyNA 퀀트(Quant) 200 형광계를 약 15분 동안 예열한 후 수행하였다. 획스트(Hoechst) 염료 활성 용액(#H33258, 10㎕, 사용 12시간 내에 제조)을 1x TNE 완충액 100ml로 희석하였다. 2ml 큐벳을 형광계 용액으로 채우고 기계에 넣은 후, 기계의 영점을 잡았다. pGEM3Zf(+)(2㎕, 로트번호 360851026)을 형광계 용액 2ml에 가하여 200 단위로 조정하였다. 추가의 pGEM2Zf(+) DNA 2㎕를 시험하여 값이 400±10 단위인지 확인하였다. 이후에 각 샘플의 값을 3회 이상 측정하였다. 3회의 샘플 측정값이 서로 10% 이내의 범위일 때, 이들의 평균을 취하여 정량치로 사용하였다.

형광계에 의해 측정된 농도를 이용하여 각 샘플의 농도가 10ng/㎕가 되도록 ddH_2O로 희석하였다. 단일 택맨 플레이트 분석용 주형의 모든 샘플에 대해 동시에 이를 수행하였으며, 500 내지 1000회 분석할 수 있는 충분한 재료로 수행하였다. 단일 플레이트상에서 택맨(상표명) 프라이머 및 B-액틴과 GAPDH 프로브를 이용하여, 정상 인간 DNA 및 주형이 없는 대조용과 함께 시험을 3회 수행하였다. 시험 DNA로부터 감해진 정상 인간 DNA의 Ct 값이 ±1 Ct인 경우에 희석된 샘플을 사용하였다. 희석된 고품질의 게놈 DNA를 1.0ml씩 분취하여 -80°C에 보관하였다. 이후에 유전자 증폭 분석에 사용될 분취액은 4°C에 보관하였다. 각 1ml의 분취액은 8 내지 9 플레이트 또는 64회 시험에 충분하였다.

유전자 증폭 분석:

하기의 원발성 종양에 대해 본 발명의 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 화 합물을 스크리닝하여, 결과의 ΔCt 값을 표 5에 기록하였다.

[표 5aa]

폐 및 결장 원발성 종양 및 세포주 모델에서의 △Ct값

원발성 종양 또는 세포주	PRO381	PRO1269	PRO1410	PRO1755	PRO1780	PRO1788	PRO3434	PRO1927	PRO3567	PRO1295
LT1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
LT1-a	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
LT2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
LT3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
LT4	—	—	—	—	1.16	—	—	—	—	—
LT6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
LT7	—	—	—	—	1.02	—	—	—	—	—
LT9	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
LT10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
LT11	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
LT12	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
LT13	—	—	1.12 1.42	—	—	—	5.24 4.47	4.38 4.80	—	—
LT15	—	1.22	2.10 1.82	—	—	—	1.24	—	—	—

[표 5ab]

폐 및 결장 원발성 종양 및 세포주 모델에서의 △Ct값

원발성 종양 또는 세포주	PRO381	PRO1269	PRO1410	PRO1755	PRO1780	PRO1788	PRO3434	PRO1927	PRO3567	PRO1295
LT16	—	1.14	1.44 1.45	1.36	—	—	3.65 3.19	2.73 2.74	—	—
LT17	—	1.26	—	—	—	—	—	—	—	—
LT18	—	—	—	1.18	—	—	—	—	—	—
LT19	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
LT21	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
CT2	—	—	2.36	2.35	—	—	—	—	—	—
CT3	—	—	1.09	—	—	1.35	—	—	—	—
CT8	—	—	—	1.64	—	1.26	—	—	—	—
CT10	—	—	1.41	2.05	—	1.37	—	—	—	—
CT12	—	—	—	1.15	—	1.24	—	—	—	—
CT14	—	—	1.46	1.40	—	2.58	—	—	—	—
CT15	—	—	—	—	—	—	1.19 1.40	1.10 1.30	—	—
CT16	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
CT17	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
CT1	—	—	—	—	—	1.09	—	—	—	—

[표 5ac]

폐 및 결장 원발성 종양 및 세포주 모델에서의 △Ct값

원발성 종양 또는 세포주	PRO381	PRO1269	PRO1410	PRO1755	PRO1780	PRO1788	PRO3434	PRO1927	PRO3567	PRO1295
CT4	—	—	—	—	—	1.22	—	—	—	—
CT5	—	—	2.14	—	—	—	—	—	—	—
CT6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
CT7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
CT9	—	—	—	—	—	1.52	—	—	—	—
CT11	—	—	1.29	—	—	—	—	—	—	—
CT18	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
HBL100	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
MB435s	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
T47D	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
MB468	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
MB175	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
MB361	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
BT20	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
MCF7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
SKBR3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

[표 5ad]

폐 및 결장 원발성 종양 및 세포주 모델에서의 △Ct값

원발성 종양 또는 세포주	PRO381	PRO1269	PRO1410	PRO1755	PRO1780	PRO1788	PRO3434	PRO1927	PRO3567	PRO1295
A549	—	—	—	—	—	—	1.09 1.51	—	—	—
Calu-1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Calu-6	—	—	—	—	—	—	1.60 1.22	—	—	—
H157	—	—	—	—	—	—	1.61	—	—	—
H441	—	—	—	—	—	—	1.07 1.15	—	—	—
H460	—	—	—	—	—	—	1.01	—	—	—
SKMES1	—	—	—	—	—	—	1.02	—	—	—
SW900	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
SW480	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
SW620	—	—	—	—	—	—	1.30	—	—	—
Colo320	—	—	—	—	—	—	1.78 1.76 1.74	1.51	2.31	—
HT29	—	—	1.22	—	—	—	1.64	—	—	—
HM7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
WiDr	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

[표 5ae]

폐 및 결장 원발성 종양 및 세포주 모델에서의 △Ct값

원발성 종양 또는 세포주	PRO381	PRO1269	PRO1410	PRO1755	PRO1780	PRO1788	PRO3434	PRO1927	PRO3567	PRO1295
HCT116	—	—	—	—	—	—	2.15 2.22	1.41 1.47	—	—
SKC01	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
SW403	—	—	—	—	—	—	1.75	—	1.07	—
LS174T	—	—	—	—	—	—	1.42	—	1.17	—
LT22	—	—	—	1.26	1.07	—	—	—	—	—
LT8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Colo205	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
HCT15	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
HCC2998	—	—	—	—	—	—	1.15	—	—	—
KM12	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
H522	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
H810	—	—	—	—	—	—	1.20 1.54	—	—	—
LT26	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
LT27	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
LT28	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

[표 5af]

폐 및 결장 원발성 종양 및 세포주 모델에서의 △Ct값

원발성 종양 또는 세포주	PRO381	PRO1269	PRO1410	PRO1755	PRO1780	PRO1788	PRO3434	PRO1927	PRO3567	PRO1295
LT29	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
LT30	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
LT31	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
LT33	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
CT25	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
CT28	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
CT35	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
HF-000716	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
HF-000733	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
HF-000831	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
HF-000832	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
HF-000613	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
HF-000499	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
HF-000539	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1.49
HF-000575	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
HF-000698	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1.09

[표 5ag]

폐 및 결장 원발성 종양 및 세포주 모델에서의 △Ct값

원발성 종양 또는 세포주	PRO381	PRO1269	PRO1410	PRO1755	PRO1780	PRO1788	PRO3434	PRO1927	PRO3567	PRO1295
HF-000545	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1.11
SRCC1094	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
SRCC1095	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
SRCC1096	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
SRCC1097	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
SRCC1098	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
SRCC1099	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
SRCC1100	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
SRCC1101	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
HF-000631	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1.27
HF-000641	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
HF-000643	4.83	—	—	—	—	—	—	—	—	—
HF-000840	1.08	—	—	—	—	—	—	—	—	1.97
HF-000842	—	—	—	—	—	—	2.20	2.41	—	—
HF-000762	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
HF-000789	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

[표 5ah]

폐 및 결장 원발성 종양 및 세포주 모델에서의 △Ct값

원발성 종양 또는 세포주	PRO381	PRO1269	PRO1410	PRO1755	PRO1780	PRO1788	PRO3434	PRO1927	PRO3567	PRO1295
HF-000795	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
HF-000811	2.09 3.15	—	—	—	—	—	—	—	—	—
HF-001294	1.14 1.08	—	—	—	—	—	1.17	2.31	—	—
HF-001293	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
HF-001300	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
HF-001297	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
HF-001295	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
HF-001299	—	—	—	—	—	—	1.11	2.40	—	—
HF-001296	3.18 3.53	—	—	—	—	—	4.64	5.14	—	—
HF-001291	1.17	—	—	—	—	—	—	—	—	—
HF-000842	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

[표 5ba]

폐 및 결장 원발성 종양 및 세포주 모델에서의 △Ct값

원발성 종양 또는 세포주	PRO1293	PRO1303	PRO4344	PRO4354	PRO4397	PRO4407	PRO1555	PRO1096	PRO2038	PRO2262
LT1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
LT1-a	—	—	—	—	—	—	—	—	1.25	—
LT2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
LT3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
LT4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
LT6	—	—	—	—	—	—	—	—	1.20	—
LT7	—	—	—	—	—	—	—	—	1.66	—
LT9	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
LT10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
LT11	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
LT12	—	—	—	—	—	—	—	—	1.27	—
LT13	—	1.42	—	—	—	—	4.20 4.45	—	—	—
LT15	—	1.17	—	—	—	—	1.36 1.15	—	—	—
LT16	—	1.42	—	—	—	—	3.71 3.99	—	—	—
LT17	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

[표 5bb]

폐 및 결장 원발성 종양 및 세포주 모델에서의 △Ct값

원발성 종양 또는 세포주	PRO1293	PRO1303	PRO4344	PRO4354	PRO4397	PRO4407	PRO1555	PRO1096	PRO2038	PRO2262
LT18	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
LT19	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
LT21	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
CT2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
CT3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
CT8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
CT10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
CT12	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
CT14	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
CT15	—	—	—	—	—	—	1.34 1.62	—	—	—
CT16	—	1.13	—	—	—	—	1.04 1.05	—	—	—
CT17	—	—	—	—	—	—	1.16	—	—	—
CT1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
CT4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
CT5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
CT6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

[표 5bc]

폐 및 결장 원발성 종양 및 세포주 모델에서의 △Ct값

원발성 종양 또는 세포주	PRO1293	PRO1303	PRO4344	PRO4354	PRO4397	PRO4407	PRO1555	PRO1096	PRO2038	PRO2262
CT7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
CT9	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
CT11	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
CT18	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
HBL100	—	—	—	—	—	—	—	1.10	—	—
MB435s	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
T47D	—	—	—	—	—	—	—	1.37	—	—
MB468	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
MB175	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
MB361	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
BT20	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
MCF7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
SKBR3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
A549	—	1.20	—	—	—	—	2.17 2.11	—	—	—
Calu-1	—	—	—	—	—	—	1.39	—	—	—
Calu-6	—	—	—	—	—	—	1.12	—	—	—
H157	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

[표 5bd]

폐 및 결장 원발성 종양 및 세포주 모델에서의 △Ct값

원발성 종양 또는 세포주	PRO1293	PRO1303	PRO4344	PRO4354	PRO4397	PRO4407	PRO1555	PRO1096	PRO2038	PRO2262
H441	—	—	—	—	—	—	2.06	—	—	—
H460	—	—	—	—	—	—	1.88	—	—	—
SKMES1	—	—	—	—	—	—	1.90	—	—	—
SW900	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
SW480	—	—	—	—	—	—	—	1.41	—	—
SW620	—	—	—	—	—	—	2.24	—	—	—
Colo320	—	—	—	—	—	—	2.21 2.24	1.72	—	—
HT29	—	—	—	—	—	—	—	1.32	—	—
HM7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
WiDr	—	—	—	—	—	—	—	1.57	—	—
HCT116	—	—	—	—	—	—	2.46 2.66	1.06	—	—
SKC01	—	—	—	—	—	—	—	1.01	—	—
SW403	—	—	—	—	—	—	—	1.43	—	—
LS174T	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
LT22	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

[표 5be]

폐 및 결장 원발성 종양 및 세포주 모델에서의 △Ct값

원발성 종양 또는 세포주	PRO1293	PRO1303	PRO4344	PRO4354	PRO4397	PRO4407	PRO1555	PRO1096	PRO2038	PRO2262
LT8	—	—	—	—	—	—	—	—	1.74	—
Colo205	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
HCT15	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
HCC2998	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
KM12	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
H522	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
H810	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
LT25	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
LT26	—	—	—	—	—	—	—	—	1.01	—
LT27	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
LT28	—	—	—	—	—	—	—	—	1.32	—
LT29	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
LT30	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
LT31	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
LT32	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
LT33	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
CT19	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

[표 5bf]

폐 및 결장 원발성 종양 및 세포주 모델에서의 △Ct값

원발성 종양 또는 세포주	PRO1293	PRO1303	PRO4344	PRO4354	PRO4397	PRO4407	PRO1555	PRO1096	PRO2038	PRO2262
CT20	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
CT21	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
CT22	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
CT23	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
CT24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
CT25	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
CT26	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
CT27	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
CT28	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
CT29	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
CT30	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
CT31	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
CT32	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
CT33	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
CT35	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
CT36	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
HF-000716	—	—	—	—	—	—	2.63 2.73	—	—	1.68

[표 5bg]

폐 및 결장 원발성 종양 및 세포주 모델에서의 △Ct값

원발성 종양 또는 세포주	PRO1293	PRO1303	PRO4344	PRO4354	PRO4397	PRO4407	PRO1555	PRO1096	PRO2038	PRO2262
HF-000733	—	—	—	—	—	—	2.58 2.71 1.39	—	—	2.04
HF-000831	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
HF-000832	—	—	—	1.10	—	1.31 1.18	—	—	—	1.13
HF-000611	—	—	—	—	—	—	4.99	—	—	—
HF-000613	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
HF-000499	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
HF-000539	2.33	—	1.32	1.39 1.09	—	1.79 1.61	3.13 2.55	—	—	2.03 1.86
HF-000575	—	—	1.21	1.14	—	1.48 1.25	1.32	—	—	1.16
HF-000698	—	—	—	1.14	—	1.14	—	—	—	1.40 1.22
HF-000545	—	—	1.62	2.12 1.72	—	1.52 1.63	1.59 1.68	—	—	1.17
SRCC1094	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
SRCC1095	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
SRCC1096	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
SRCC1097	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

[표 5bh]

폐 및 결장 원발성 종양 및 세포주 모델에서의 △Ct값

원발성 종양 또는 세포주	PRO1293	PRO1303	PRO4344	PRO4354	PRO4397	PRO4407	PRO1555	PRO1096	PRO2038	PRO2262
SRCC1098	—	—	—	—	—	—	—	—	1.24	—
SRCC1099	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
SRCC1100	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
SRCC1101	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
HF-000631	—	—	—	—	–	—	1.37	—	—	—
HF-000641	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
HF-000643	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
HF-000840	1.71	—	1.03	—	2.09	1.50 1.42	3.63	—	—	1.49 1.49
HF-000842	—	—	—	—	—	1.24	1.99	–	—	—
HF-000762	—	—	—	1.39 1.15	—	—	—	—	—	—
HF-000789	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
HF-000795	1.13	—	1.12	—	—	1.02 1.04	—	—	—	—
HF-000811	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
HF-001291	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
HF-001293	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

[표 5bi]

폐 및 결장 원발성 종양 및 세포주 모델에서의 △Ct값

원발성 종양 또는 세포주	PRO1293	PRO1303	PRO4344	PRO4354	PRO4397	PRO4407	PRO1555	PRO1096	PRO2038	PRO2262
HF-001294	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
HF-001295	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
HF-001296	—	—	—	2.11	—	2.21	—	—	—	2.18
HF-001297	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
HF-001299	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
HF-001300	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

PRO3434:

에피센터 지도화(epicenter mapping)를 이용하여 상기 최초 스크리닝으로부 터 선택된 종양과 함께 PRO3434(DNA 77631-2537)를 다시 조사하였다. 이들 마커는 DNA77631 부근에 가깝게 위치해 있으며, DNA77631이 위치하는 7번 염색체의 영역에 대한 증폭 상태를 평가하는데 사용되었다. 마커들 사이의 거리는 두 마커 사이에 나타나는 방사선 붕괴의 약 1% 변화에 상응하는 붕괴 단위인 센티레이(cR)로 측정하였다. 1 cR은 대략 20 킬로염기(kilobase)에 해당한다. sWSS918 마커는 DNA77631-2537이 지도화되는 7번 염색체에 가장 가까운 것으로 밝혀졌다.

표 7은 DNA77631에 대한 에피센터 지도화의 결과를 나타내는 것으로, 이는 7번 염색체를 따라 DNA77631의 실제 위치에 더 근접한 영역에서 상대적으로 증폭됨을 나타낸다.

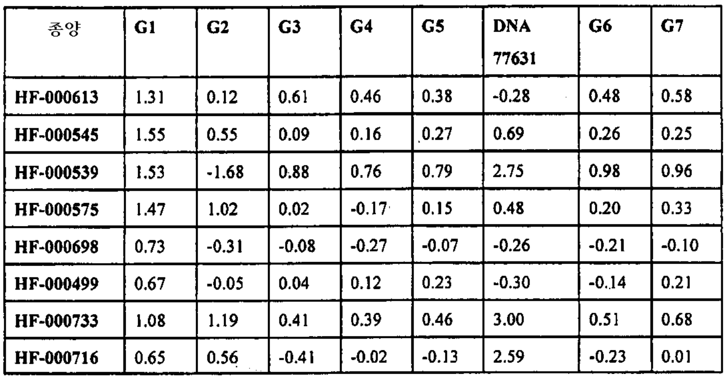
[표 6]

7번 염색체 상의 맵 위치	스탠포드 인간 게놈 센터 마커 명칭	다음 마커까지의 거리(cR)
G1	SHGC-34913	17
G2	AFMa090xg1	25

G3	SHGC-10715	16
G4	SHGC-34866	5
G5	SHGC-32510	48
DNA77631	-	-
G6	sWSS918	19
G7	AFMc027xb5	-

[표 7]

DNA77631에 대한 에피센터 마커의 증폭 (ΔCt)



종양	G1	G2	G3	G4	G5	DNA 77631	G6	G7
HF-000613	1.31	0.12	0.61	0.46	0.38	-0.28	0.48	0.58
HF-000545	1.55	0.55	0.09	0.16	0.27	0.69	0.26	0.25
HF-000539	1.53	-1.68	0.88	0.76	0.79	2.75	0.98	0.96
HF-000575	1.47	1.02	0.02	-0.17	0.15	0.48	0.20	0.33
HF-000698	0.73	-0.31	-0.08	-0.27	-0.07	-0.26	-0.21	-0.10
HF-000499	0.67	-0.05	0.04	0.12	0.23	-0.30	-0.14	0.21
HF-000733	1.08	1.19	0.41	0.39	0.46	3.00	0.51	0.68
HF-000716	0.65	0.56	-0.41	-0.02	-0.13	2.59	-0.23	0.01

논의 및 결론:

PRO381(DNA44194-1317):

다양한 종양에서의 DNA44194-1317에 대한 ΔCt 값이 표 5a에 기록되어 있다. 통상, 유전자 복제본 수가 2배가 되는 것을 의미하는 값인 1을 초과하는 ΔCt 값을 증폭 점수의 역치값으로 사용하였다. 표 5a에는 (1) 원발성 폐 종양인 HF-000643, HF-000840, HF-001291, HF-001294 및 HF-001296, (2) 결장 종양 중심인 HF-000811에서, PRO381을 코딩하는 핵산 DNA44194-1317이 상당히 증폭되었음이 나타나 있다. DNA44194-1317의 증폭은 다양한 종양에서 나타나기 때문에, DNA44194-1317은 종양의 형성 및 생장에 중요한 역할을 할 것이다. 결과적으로, DNA44194-1317에 의해 코딩되는 단백질(PRO381)에 대한 길항제(예를 들어, 항체)가 암의 치료에 이용될 것으로 기대된다.

PRO1269(DNA66520-1536):

다양한 종양에서의 DNA66520-1536에 대한 ΔCt 값이 표 5a에 기록되어 있다. 통상, 유전자 복제본 수가 2배가 되는 것을 의미하는 값인 1을 초과하는 ΔCt 값을 증폭 점수의 역치값으로 사용하였다. 표 5a에는 원발성 폐 종양인 LT15, LT16 및 LT17에서 PRO1269를 코딩하는 핵산 DNA66520-1536이 상당히 증폭되었음이 나타나 있다. DNA66520-1536의 증폭은 다양한 폐 종양에서 나타나기 때문에, DNA66520-1536은 종양의 형성 및 생장에 중요한 역할을 할 것이다. 결과적으로, DNA66520-1536에 의해 코딩되는 단백질(PRO1269)에 대한 길항제(예를 들어, 항체)가 암의 치료에 이용될 것으로 기대된다.

PRO1410(DNA68874-1622):

다양한 종양에서의 DNA68874-1622에 대한 ΔCt 값이 표 5a에 기록되어 있다. 통상, 유전자 복제본 수가 2배가 되는 것을 의미하는 값인 1을 초과하는 ΔCt 값을 증폭 점수의 역치값으로 사용하였다. 표 5a에는 (1) 원발성 폐 종양인 LT13, LT15 및 LT16, (2) 결장 종양인 CT2, CT3, CT5, CT10, CT11 및 CT14, 및 (3) 결장 세포주인 HT29에서, PRO1410을 코딩하는 핵산 DNA68874-1622가 상당히 증폭되었음이 나타나 있다. DNA68874-1622의 증폭은 다양한 폐 및 결장 종양에서 나타나기 때문에, DNA68874-1622는 종양의 형성 및 생장에 중요한 역할을 할 것이다. 결

과적으로, DNA68874-1622에 의해 코딩되는 단백질(PRO1410)에 대한 길항제(예를 들어, 항체)가 암의 치료에 이용될 것으로 기대된다.

PRO1755(DNA76396-1698):

다양한 종양에서의 DNA76396-1698에 대한 ΔCt 값이 표 5a에 기록되어 있다. 통상, 유전자 복제본 수가 2배가 되는 것을 의미하는 값인 1을 초과하는 ΔCt 값을 증폭 점수의 역치값으로 사용하였다. 표 5a에는 (1) 원발성 폐 종양인 LT16, LT18 및 LT22, 및 (2) 원발성 결장 종양인 CT2, CT8, CT10, CT12 및 CT14에서, PRO1755를 코딩하는 핵산 DNA76396-1698이 상당히 증폭되었음이 나타나 있다. DNA76396-1698의 증폭은 다양한 폐 및 결장 종양에서 나타나기 때문에, DNA76396-1698은 종양의 형성 및 생장에 중요한 역할을 할 것이다. 결과적으로, DNA76396-1698에 의해 코딩되는 단백질(PRO1755)에 대한 길항제(예를 들어, 항체)가 암의 치료에 이용될 것으로 기대된다.

PRO1780(DNA71169-1709):

다양한 종양에서의 DNA71169-1709에 대한 ΔCt 값이 표 5a에 기록되어 있다. 통상, 유전자 복제본 수가 2배가 되는 것을 의미하는 값인 1을 초과하는 ΔCt 값을 증폭 점수의 역치값으로 사용하였다. 표 5a에는 원발성 폐 종양인 LT4, LT7 및 LT22에서, PRO1780을 코딩하는 핵산 DNA71169-1709가 상당히 증폭되었음이 나타나 있다. DNA71169-1709의 증폭은 다양한 폐 종양에서 나타나기 때문에, DNA71169-1709는 종양의 형성 및 생장에 중요한 역할을 할 것이다. 결과적으로, DNA71169-1709에 의해 코딩되는 단백질(PRO1780)에 대한 길항제(예를 들어, 항체)가 암의 치료에 이용될 것으로 기대된다.

PRO1788(DNA77652-2505):

다양한 종양에서의 DNA77652-2505에 대한 ΔCt 값이 표 5a에 기록되어 있다. 통상, 유전자 복제본 수가 2배가 되는 것을 의미하는 값인 1을 초과하는 ΔCt 값을 증폭 점수의 역치값으로 사용하였다. 표 5a에는 원발성 결장 종양인 CT1, CT3, CT4, CT8, CT9, CT10, CT12 및 CT14에서, PRO1788을 코딩하는 핵산 DNA77652-2505가 상당히 증폭되었음이 나타나 있다. DNA77652-2505의 증폭은 다양한 결장 종양에서 나타나기 때문에, DNA77652-2505는 종양의 형성 및 생장에 중요한 역할을 할 것이다. 결과적으로, DNA77652-2505에 의해 코딩되는 단백질(PRO1788)에 대한 길항제(예를 들어, 항체)가 암의 치료에 이용될 것으로 기대된다.

PRO3434(DNA77631-2537):

다양한 종양에서의 DNA77631-2537에 대한 ΔCt 값이 표 5a에 기록되어 있다. 통상, 유전자 복제본 수가 2배가 되는 것을 의미하는 값인 1을 초과하는 ΔCt 값을 증폭 점수의 역치값으로 사용하였다. 표 5a에는 (1) 원발상 폐 종양인 LT13, LT15, LT16, HF-000842, HF-001294, HF-001296 및 HF-001299, (2) 폐 세포주인 A549, Clau-6, H157, H441, H460, SKMES1 및 H810, (3) 원발성 결장 종양인 CT15, 및 (4) 결장 세포주인 SW620, Colo320, HT29, HCT116, SW430, SL174T 및 HCC2998에서, PRO3434를 코딩하는 핵산 DNA77631-2537이 상당히 증폭되었음이 나타나 있다.

DNA77631-2537에 대한 에피센터 지도화(표 7) 결과, (1) 원발성 결장 종양 HF-000539, 및 (2) 정소 종양 중심 HF-000733 및 정소 종양 주변부 HF-000716에서 상당한 증폭을 확인하였다. 반대로, 가장 가깝게 위치하는 공지된 에피센터 마커의 증폭은 DNA77631의 증폭에 비해 더 적게 일어났다. 이는 DNA77631-2537이 7번 염색체 상에서 특정 영역을 증폭시키는 유전자임을 강력히 시사한다.

DNA77631-2537의 증폭은 결장 종양 및 정소 종양을 비롯한 다양한 종양에서 나타나기 때문에, DNA77631-2537은 종양의 형성 및 생장에 중요한 역할을 할 것이다. 결과적으로, DNA77631-2537에 의해 코딩되는 단백질(PRO3434)에 대한 길항제(예를 들어, 항체)가 암의 치료에 이용될 것으로 기대된다.

PRO1927(DNA82307-2531):

다양한 종양에서의 DNA82307-2531에 대한 ΔCt 값이 표 5a에 기록되어 있다. 통상, 유전자 복제본 수가 2배가 되는 것을 의미하는 값인 1을 초과하는 ΔCt 값을 증폭 점수의 역치값으로 사용하였다. 표 5a에는 (1) 원발성 폐 종양인 LT13, LT16, HF-000842, HF-001294, HF-001296 및 HF-001299, (2) 원발성 결장 종양인 CT15, 및 (3) 결장 세포주인 Colo320 및 HCT116에서, PRO1927을 코딩하는 핵산 DNA82307-2531이 상당히 증폭되었음이 나타나 있다. DNA82307-2531의 증폭은 다양한 폐 및 결장 종양에서 나타나기 때문에, DNA82307-2531은 종양의 형성 및 생장에 중요한 역할을 할 것이다. 결과적으로, DNA82307-2531에 의해 코딩되는 단백질(PRO1927)에 대한 길항제(예를 들어, 항체)가 암의 치료에 이용될 것으로 기대된다.

PRO3567(DNA56049-2543):

다양한 종양에서의 DNA56049-2543에 대한 ΔCt 값이 표 5a에 기록되어 있다. 통상, 유전자 복제본 수가 2배가 되는 것을 의미하는 값인 1을 초과하는 ΔCt 값을 증폭 점수의 역치값으로 사용하였다. 표 5a에는 결장 세포주인 Colo320, SW403 및 LS174T에서, PRO3567을 코딩하는 핵산 DNA56049-2543이 상당히 증폭되었음이 나타나 있다. DNA56049-2543의 증폭은 다양한 결장 세포주에서 나타나기 때문에, DNA56049-2543은 종양의 형성 및 생장에 중요한 역할을 할 것이다. 결과적으로, DNA56049-2543에 의해 코딩되는 단백질(PRO3567)에 대한 길항제(예를 들어, 항체)가 암의 치료에 이용될 것으로 기대된다.

PRO1295(DNA59218-1559):

다양한 종양에서의 DNA59218-1559에 대한 ΔCt 값이 표 5a에 기록되어 있다. 통상, 유전자 복제본 수가 2배가 되는 것을 의미하는 값인 1을 초과하는 ΔCt 값을 증폭 점수의 역치값으로 사용하였다. 표 5a에는 (1) 원발성 폐 종양인 HF-000631 및 HF-000840, (2) 결장 종양 중심인 HF-000539 및 HF-000698, 및 (3) 유방 종양 중심인 HF-000545에서, PRO1295를 코딩하는 핵산 DNA59218-1559가 상당히 증폭되었음이 나타나 있다. DNA59218-1559의 증폭은 다양한 종양에서 나타나기 때문에, DNA59218-1559는 종양의 형성 및 생장에 중요한 역할을 할 것이다. 결과적으로, DNA59218-1559에 의해 코딩되는 단백질(PRO1295)에 대한 길항제(예를 들어, 항체)가 암의 치료에 이용될 것으로 기대된다.

PRO1293(DNA60618-1557):

다양한 종양에서의 DNA60618-1557에 대한 ΔCt 값이 표 5b에 기록되어 있다. 통상, 유전자 복제본 수가 2배가 되는 것을 의미하는 값인 1을 초과하는 ΔCt 값을 증폭 점수의 역치값으로 사용하였다. 표 5b에는 (1) 원발성 폐 종양인 HF-000840, 및 (2) 결장 종양 중심인 HF-000539 및 HF-000795에서, PRO1293을 코딩하는 핵산 DNA60618-1557이 상당히 증폭되었음이 나타나 있다. DNA60618-1557의 증폭은 다양한 폐 및 결장 종양에서 나타나기 때문에, DNA60618-1557은 종양의 형성 및 생장에 중요한 역할을 할 것이다. 결과적으로, DNA60618-1557에 의해 코딩되는 단백질(PRO1293)에 대한 길항제(예를 들어, 항체)가 암의 치료에 이용될 것으로 기대된다.

PRO1303(DNA65409-1566):

다양한 종양에서의 DNA65409-1566에 대한 ΔCt 값이 표 5b에 기록되어 있다. 통상, 유전자 복제본 수가 2배가 되는 것을 의미하는 값인 1을 초과하는 ΔCt 값을 증폭 점수의 역치값으로 사용하였다. 표 5b에는 (1) 원발성 폐 종양인 LT13, LT15 및 LT16, (2) 폐 세포주인 A549, 및 (3) 결장 종양인 CT16에서, PRO1303을 코딩하는 핵산 DNA65409-1566이 상당히 증폭되었음이 나타나 있다. DNA65409-1566의 증폭은 다양한 종양에서 나타나기 때문에, DNA65409-1566은 종양의 형성 및 생장에 중요한 역할을 할 것이다. 결과적으로, DNA65409-1566에 의해 코딩되는 단백질(PRO1303)에 대한 길항제(예를 들어, 항체)가 암의 치료에 이용될 것으로 기대된다.

PRO4344(DNA84927-2585):

다양한 종양에서의 DNA84927-2585에 대한 ΔCt 값이 표 5b에 기록되어 있다. 통상, 유전자 복제본 수가 2배가 되는 것을 의미하는 값인 1을 초과하는 ΔCt 값을 증폭 점수의 역치값으로 사용하였다. 표 5b에는 (1) 원발성 폐 종양인 HF-000840, (2) 결장 종양 중심인 HF-000539, HF-000575 및 HF-000795, 및 (3) 유방 종양 중심인 HF-000545에서, PRO4344를 코딩하는 핵산 DNA84927-2585가 상당히 증폭되었음이 나타나 있다. DNA84927-2585의 증폭은 다양한 종양에서 나타나기 때문에, DNA84927-2585는 종양의 형성 및 생장에 중요한 역할을 할 것이다. 결과적으로, DNA84927-2585에 의해 코딩되는 단백질(PRO4344)에 대한 길항제(예를 들어, 항체)가 암의 치료에 이용될 것으로 기대된다.

PRO4354(DNA92256-2596):

다양한 종양에서의 DNA92256-2596에 대한 ΔCt 값이 표 5b에 기록되어 있다. 통상, 유전자 복제본 수가 2배가 되는 것을 의미하는 값인 1을 초과하는 ΔCt 값을 증폭 점수의 역치값으로 사용하였다. 표 5b에는 (1) 원발성 폐 종양인 HF-001296, (2) 결장 종양 중심인 HF-000539, HF-000575, HF-000698 및 HF-000762, (3) 유방 종양 중심인 HF-000545, 및 (4) 부갑상선 종양인 HF-000832에서, PRO4354를 코딩하는 핵산 DNA92256-2596이 상당히 증폭되었음이 나타나 있다. DNA92256-2596의 증폭은 다양한 종양에서 나타나기 때문에, DNA92256-2596은 종양의 형성 및 생장에 중요한 역할을 할 것이다. 결과적으로, DNA92256-2596에 의해 코딩되는 단백질(PRO4354)에 대한 길항제(예를 들어, 항체)가 암의 치료에 이용될 것으로 기대된다.

PRO4397(DNA83505-2606):

다양한 종양에서의 DNA83505-2606에 대한 ΔCt 값이 표 5b에 기록되어 있다. 통상, 유전자 복제본 수가 2배가 되는 것을 의미하는 값인 1을 초과하는 ΔCt 값을 증폭 점수의 역치값으로 사용하였다. 표 5b에는 원발성 폐 종양인 HF-000840에서 PRO4397을 코딩하는 핵산 DNA83505-2606이 상당히 증폭되었음이 나타나 있다. DNA83505-2606의 증폭은 다양한 폐 종양에서 나타나기 때문에, DNA83505-2606은 종 양의 형성 및 생장에 중요한 역할을 할 것이다. 결과적으로, DNA83505-2606에 의해 코딩되는 단백질(PRO4397)에 대한 길항제(예를 들어, 항체)가 암의 치료에 이용될 것으로 기대된다.

PRO4407(DNA92264-2616):

다양한 종양에서의 DNA92264-2616에 대한 ΔCt 값이 표 5b에 기록되어 있다. 통상, 유전자 복제본 수가 2배가 되는 것을 의미하는 값인 1을 초과하는 ΔCt 값을 증폭 점수의 역치값으로 사용하였다. 표 5b에는 (1) 원발성 폐 종양인 HF-000840, HF-000842 및 HF-001296, (2) 결장 종양 중심인 HF-000539, HF-000575, HF-000698 및 HF-000795, (3) 유방 종양인 HF-000545, 및 (4) 부갑상선 종양인 HF-000832에서, PRO4407을 코딩하는 핵산 DNA92264-2616이 상당히 증폭되었음이 나타나 있다. DNA92264-2616의 증폭은 다양한 종양에서 나타나기 때문에, DNA92264-2616은 종양의 형성 및 생장에 중요한 역할을 할 것이다. 결과적으로, DNA92264-2616에 의해 코딩되는 단백질(PRO4407)에 대한 길항제(예를 들어, 항체)가 암의 치료에 이용될 것으로 기대된다.

PRO1555(DNA73744-1665):

다양한 종양에서의 DNA73744-1665에 대한 ΔCt 값이 표 5b에 기록되어 있다. 통상, 유전자 복제본 수가 2배가 되는 것을 의미하는 값인 1을 초과하는 ΔCt 값을 증폭 점수의 역치값으로 사용하였다. 표 5b에는 (1) 원발성 폐 종양인 LT13, LT15, LT16, HF-000631, HF-000840 및 HF-000842, (2) 폐 세포주인 A549, Calu-1, Calu-6, H441, H460 및 SKMES1, (3) 원발성 결장 종양인 CT15, CT16, CT17, 및 결 장 종양 중심인 HF-000539 및 HF-000575, (4) 결장 세포주인 SW620, Colo320 및 HCT116, (5) 유방 종양 중심인 HF-000545, (6) 신장 종양 중심인 HF-000611, 및 (7) 정소 종양 주변부인 HF-000716, 및 정소 종양 중심인 HF-000733에서, PRO1555를 코딩하는 핵산 DNA73744-1665가 상당히 증폭되었음이 나타나 있다. DNA73744-1665의 증폭은 다양한 종양에서 나타나기 때문에, DNA73744-1665는 종양의 형성 및 생장에 중요한 역할을 할 것이다. 결과적으로, DNA73744-1665에 의해 코딩되는 단백질(PRO1555)에 대한 길항제(예를 들어, 항체)가 암의 치료에 이용될 것으로 기대된다.

PRO1096(DNA61870):

다양한 종양에서의 DNA61870에 대한 ΔCt 값이 표 5b에 기록되어 있다. 통상, 유전자 복제본 수가 2배가 되는 것을 의미하는 값인 1을 초과하는 ΔCt 값을 증폭 점수의 역치값으로 사용하였다. 표 5b에는 (1) 결장 세포주인 SW480, Colo320, HT29, WiDr, HCT116, SKCO1 및 SW403, 및 (2) 유방 세포주인 HBL100 및 T47D에서, PRO1096을 코딩하는 핵산 DNA61870이 상당히 증폭되었음이 나타나 있다. DNA61870의 증폭은 다양한 종양에서 나타나기 때문에, DNA61870은 종양의 형성 및 생장에 중요한 역할을 할 것이다. 결과적으로, DNA61870에 의해 코딩되는 단백질(PRO1096)에 대한 길항제(예를 들어, 항체)가 암의 치료에 이용될 것으로 기대된다.

PRO2038(DNA83014):

다양한 종양에서의 DNA83014에 대한 ΔCt 값이 표 5b에 기록되어 있다. 통 상, 유전자 복제본 수가 2배가 되는 것을 의미하는 값인 1을 초과하는 ΔCt 값을 증폭 점수의 역치값으로 사용하였다. 표 5b에는 (1) 원발성 폐 종양인 LT1a, LT6, LT7, LT8, LT12, LT26 및 LT28, 및 (2) 유방 종양인 SRCC1098에서, PRO2038을 코딩하는 핵산 DNA83014가 상당히 증폭되었음이 나타나 있다. DNA83014의 증폭은 다양한 종양에서 나타나기 때문에, DNA83014는 종양의 형성 및 생장에 중요한 역할을 할 것이다. 결과적으로, DNA83014에 의해 코딩되는 단백질(PRO2038)에 대한 길항제(예를 들어, 항체)가 암의 치료에 이용될 것으로 기대된다.

PRO2262(DNA88273):

다양한 종양에서의 DNA88273에 대한 ΔCt 값이 표 5b에 기록되어 있다. 통상, 유전자 복제본 수가 2배가 되는 것을 의미하는 값인 1을 초과하는 ΔCt 값을 증폭 점수의 역치값으로 사용하였다. 표 5b에는 (1) 원발성 폐 종양인 HF-000840 및 HF-001296, (2) 원발성 결장 종양인 HF-000539, HF-000575 및 HF-000698, (3) 유방 종양 중심인 HF-000545, (4) 정소 종양 주변부인 HF-000716, 및 정소 종양 중심인 HF-000733, 및 (5) 부갑상선 종양인 HF-000832에서, PRO2262를 코딩하는 핵산 DNA88273이 상당히 증폭되었음이 나타나 있다. DNA88273의 증폭은 다양한 종양에서 나타나기 때문에, DNA88273은 종양의 형성 및 생장에 중요한 역할을 할 것이다. 결과적으로, DNA88273에 의해 코딩되는 단백질(PRO2262)에 대한 길항제(예를 들어, 항체)가 암의 치료에 이용될 것으로 기대된다.

실시예 21: 혼성화 프로브로서 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO19

27, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262의 용도

하기 방법은 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드를 코딩하는 뉴클레오티드 서열의 혼성화 프로브로서의 용도를 기술한다.

본원에 기재된 바와 같은 전장 또는 성숙 'PRO' 폴리펩티드의 코딩 서열을 포함하는 DNA 및(또는) 그의 단편을 인간 조직 cDNA 라이브러리 또는 인간 조직 게놈 라이브러리에서 상동성 DNA (예를 들어, PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262의 자연 발생 변이체를 코딩하는 것)를 스크리닝하는데 프로브로서 사용할 수 있다.

이들 라이브러리 DNA를 함유하는 필터의 혼성화 및 세척을 하기 고도의 엄격 조건 하에 수행하였다. 방사성 표지된 PRO381-, PRO1269-, PRO1410-, PRO1755-, PRO1780-, PRO1788-, PRO3434-, PRO1927-, PRO3567-, PRO1295-, PRO1293-, PRO1303-, PRO4344-, PRO4354-, PRO4397-, PRO4407-, PRO1555-, PRO1096-, PRO2038- 또는 PRO2262-유도 프로브를 50% 포름아미드, 5×SSC, 0.1% SDS, 0.1% 피로인산나트륨, 50 mM 인산나트륨, pH 6.8, 2×덴하르트(Denhardt's) 용액 및 10% 덱스트란 술페이트 용액 중에서 42℃로 20시간 동안 혼성화시켰다. 필터를 0.1×SSC 및 0.1% SDS의 수용액 중에서 42℃로 세척하였다.

이어서, 전장 천연 서열 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262를 코딩하는 DNA와 원하는 서열 동일성을 갖는 DNA를 당업계에 공지된 표준 방법으로 찾아내었다.

실시예 22: 대장균(*E. coli*)에서 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 발현

본 실시예는 대장균(*E. coli*) 내의 재조합 발현에 의해 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 비글리코실화된 형태를 제조하는 방법을 예시한다.

처음에 원하는 PRO 폴리펩티드를 코딩하는 DNA 서열을 선택된 PCR 프라이머를 사용하여 증폭시켰다. 프라이머는 선택된 발현 벡터 상의 제한 효소 부위에 해당하는 제한 효소 부위를 포함해야만 한다. 다양한 발현 벡터가 사용될 수 있다. 적합한 벡터의 예에는 앰피실린 및 테트라싸이클린 내성 유전자를 포함하는 pBR322 (대장균에서 유래; Bolivar et al., Gene 2:95(1977) 참조)가 있다. 벡터를 제한 효소로 절단하고 탈인산화시켰다. 이어서, PCR 증폭된 서열을 벡터에 라이게이션하였다. 벡터는 바람직하게는 항생제 내성 유전자, trp 프로모터, 폴리-His 리더(처음 6개의 STII 코돈, 폴리-His 서열 및 엔테로키나제 절단 부위를 포함), PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 코딩 영역, 람다 전사 종결부, 및 argU 유전자의 코딩 서열을 포함할 것이다.

이어서, 상기 문헌(Sambrook et al.)에 기재된 방법을 이용하여 라이게이션 혼합물로 선택된 대장균(*E. coli*) 균주를 형질전환시켰다. LB 평판 배지에서 생장할 수 있는 형질전환체를 확인하고 항생제 내성을 갖는 콜로니를 선별하였다. 플라스미드 DNA를 단리하여, 제한 분석법 및 DNA 서열 분석에 의해 확인하였다.

항생제가 포함된 LB 브로쓰와 같은 액체 배양 배지에서 선별된 클론을 밤새 배양하였다. 이 배양액을 더 큰 규모의 배양액 접종에 사용하였다. 이어서, 세포를 원하는 광학 밀도까지 배양한 후, 발현 프로모터를 작동시켰다.

수시간 이상 동안 세포를 더 배양한 후에 원심분리로 세포를 수획하였다. 원심분리로 얻어진 세포 펠릿을 당업계에 공지된 여러가지 시약을 이용하여 용해시키고, 단백질이 강하게 결합하는 조건 하에서 금속 킬레이팅 컬럼을 이용하여 용해된 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 단백질을 정제하였다.

PRO1788 및 PRO1555는 하기 과정을 이용하여 대장균(*E. coli*)에서 폴리-His 태그가 부착된 형태로 성공적으로 발현되었다. 선택된 프라이머를 사용하여 PRO1788 및 PRO1555를 코딩하는 DNA를 처음에 증폭하였다. 프라이머

는 선택된 발 현 벡터 상의 제한효소 부위에 해당하는 제한 효소 부위와 효율적이고 신뢰할 만한 번역 개시, 금속 킬레이트 컬럼에서 빠른 정제, 및 엔테로키나아제를 사용한 단백질 분해 제거를 제공하는 다른 유용한 서열을 포함하였다. 이어서 PCR 증폭된, 폴리-His 태그가 부착된 서열을 발현 벡터에 라이게이션시킨 후, 균주 52(W3110fuhA(tonA)longalErpoHts(htpRts) clpP(lacIq)) 기재의 대장균 숙주를 형질전환시키는데 사용하였다. 우선 형질전환체를 50 ㎎/㎖의 카르베니실린 (carbenicillin)을 포함하는 LB 배지에서 O.D. $_{600}$ 이 3 내지 5에 도달할 때까지 30℃에서 진탕 배양하였다. 이어서, 배양액을 CRAP 배지(물 500 ㎖ 중에 3.57 g $(NH_4)_2SO_4$, 0.71 g 시트르산 나트륨 · $2H_2O$, 1.07 g KCl, 5.36 g 디프코(Difco) 효모 추출물, 5.36 g 쉐필드 히카아제(Sheffield hycase) SF, 및 110 mM MPOS, pH 7.3, 0.55% (w/v) 글루코스 및 7 mM $MgSO_4$ 를 혼합하여 제조)에 50 내지 100배로 희석하고, 약 20 내지 30시간 동안 30℃에서 진탕 배양하였다. 샘플을 분리하여 SDS-PAGE 분석법으로 발현을 확인하고 대량 배양액을 원심분리하여 세포를 펠릿으로 만들었다. 세포 펠릿을 정제 및 리폴딩시킬 때까지 냉동보관하였다.

0.5 내지 1L의 대장균(*E. coli*) 페이스트 발효액(6 내지 10 g 펠릿)을 10배 부피(w/v)의 7 M 구아니딘, 20 mM Tris, pH 8 완충액에 재현탁시켰다. 고체 아황산나트륨 및 사티온산나트륨을 각각 최종 농도 0.1 M과 0.02 M이 되도록 가하고 용액을 4℃에서 밤새 교반하였다. 이 단계에서 아황산염화에 의해 모든 시스테인 잔기가 차단된 변성 단백질이 생성되었다. 이 용액을 베크만(Beckman) 초강력 원심 분리기에서 40,000 rpm으로 30분간 원심분리하였다. 상층액을 3 내지 5 배 부피의 금속 킬레이트 컬럼 완충액(6 M 구아니딘, 20 mM Tris, pH 7.4)으로 희석하고 0.22 ㎛ 필터로 여과하여 투명하게하였다. 투명한 추출물을 금속 킬레이트 컬럼 완충액으로 평형화된 퀴아젠(Qiagen) Ni-NTA 금속 킬레이트 컬럼 5 ㎖에 로딩하였다. 50 mM 이미다졸(Calbiochem, Utrol 등급)을 함유하는 추가의 완충액(pH 7.4)으로 컬럼을 세척하였다. 250 mM 이미다졸을 함유하는 완충액으로 단백질을 용출시키고, 원하는 단백질을 포함하는 분획을 모아 4℃에 보관하였다. 아미노산 서열에 따라 계산된 흡광 계수를 이용하여 280 nm에서의 흡광도로 단백질 농도를 측정하였다.

20 mM Tris, pH 8.6, 0.3 M NaCl, 2.5 M 우레아, 5 mM 시스테인, 20 mM 글리신 및 1 mM EDTA로 이루어진, 새로이 제조한 리폴딩 완충액에 샘플을 천천히 희석하여 단백질을 리폴딩시켰다. 리폴딩 부피는 최종 단백질 농도가 50 내지 100 ㎍/㎖가 되도록 정하였다. 리폴딩 용액을 4℃에서 12 내지 36시간 가량 서서히 교반하였다. 최종농도가 0.4% (약 pH 3)가 되도록 TFA를 가하여 리폴딩 반응을 정지시켰다. 추가로 단백질을 정제하기 전에, 용액을 0.22 ㎛ 필터로 여과하고 아세토니트릴을 최종 농도 2 내지 10%가 되도록 가하였다. 10 내지 80%의 아세토니트릴 농도 구배로 용출시키고 0.1% TFA의 이동 완충액을 이용하는 포로스(Poros) R1/H 역상 컬럼 크로마토그래피에서 리폴딩된 단백질을 분석하였다. A_{280} 흡광도가 나타나는 분획의 분취액을 SDS 폴리아크릴아미드 겔에서 분석하여 균질하게 리폴딩된 단백질을 포함하는 분획을 모았다. 통상, 적절하게 리폴딩된 단백질은 역상 수지와의 상호 작용으로부터 보호되는 소수성의 내부 부분으로 가장 밀착되기 때문에, 대부분의 단백질에서 적절하게 리폴딩된 단백질 형태는 아세토니트릴의 가장 낮은 농도에서 용출된다. 응집된 단백질은 대개 높은 아세토니트릴 농도에서 용출된다. 역상 단계는 바람직한 형태의 단백질로부터 잘못 폴딩된 형태의 단백질을 분리할 뿐 아니라, 샘플로부터 내독소를 제거한다.

바람직하게 폴딩된 PRO1788 및 PRO1555 단백질을 포함하는 각각의 분획을 회수하여, 용액에 부드러운 질소 기류를 사용하여 아세토니트릴을 제거하였다. 투석법이나 제제화 완충액으로 평형화되고 멸균 여과된 G25 슈퍼파인 (Superfine, Pharmacia) 수지를 이용한 겔 여과법으로 0.14 M 염화나트륨 및 4% 만니톨이 함유된 20 mM Hepes, pH 6.8로 단백질을 제제화하였다.

실시예 23: 포유동물 세포에서 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262의 발현

본 실시예는 포유동물 세포에서 재조합 발현에 의해 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262의 잠재적으로 글리코실화된 형태를 제조하는 방법을 예시한다.

pRK5 벡터(1989년 3월 15일 공개된 EP 제307,247호 참조)를 발현 벡터로 사용하였다. 임의로, 상기 문헌(Sambrook et al.)에 기재된 라이게이션 방법을 이용 하여 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 DNA를 선택된 제한 효소로 pRK5에 라이게이션시켜, PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드 DNA를 삽입하였다. 결과의 벡터를 pRK5-PRO381, pRK5-PRO1269, pRK5-PRO1410, pRK5-PRO1755, pRK5-PRO1780, pRK5-PRO1788, pRK5-PRO3434, pRK5-PRO1927, pRK5-PRO3567, pRK5-PRO1295, pRK5-PRO1293, pRK5-PRO1303, pRK5-PRO4344, pRK5-PRO4354, pRK5-PRO4397, pRK5-PRO4407, pRK5-PRO1555, pRK5-PRO1096, pRK5-PRO2038 또는 pRK5-PRO2262라 명명하였다.

한 실시양태에서, 숙주 세포로서 293 세포를 선택할 수 있다. 인간 293 세포(ATCC CCL 1573)를 우태 혈청(fetal calf serum) 및 임의로 영양소 및(또는) 항생제가 포함된 DMEM와 같은 배지에서 조직 배양 플레이트에 가득 차도록(confluent) 배양하였다. pRK5-PRO381, pRK5-PRO1269, pRK5-PRO1410, pRK5-PRO1755, pRK5-PRO1780, pRK5-PRO1788, pRK5-PRO3434, pRK5-PRO1927, pRK5-PRO3567, pRK5-PRO1295, pRK5-PRO1293, pRK5-PRO1303, pRK5-PRO4344, pRK5-PRO4354, pRK5-PRO4397, pRK5-PRO4407, pRK5-PRO1555, pRK5-PRO1096, pRK5-PRO2038 또는 pRK5-PRO2262 DNA 약 10 ㎍을 VA RNA 유전자를 코딩하는 DNA(Thimmappaya et al., Cell, 31: 543(1982)) 약 1 ㎍과 혼합하여, 1 mM Tris-HCl, 0.1 mM EDTA 및 0.227 M $CaCl_2$ 500 ㎕에 용해시켰다. 이 혼합물에 50 mM HEPES(pH 7.35), 280 mM NaCl, 1.5 mM $NaPO_4$ 500 ㎕를 적가하여 25℃에서 10분간 침전물을 형성시켰다. 침전물을 현탁시키고 293 세포에 가하여 37℃에서 4시간 가량을 정치시켰다. 배지를 흡인 제거하고 PBS 중의 20% 글리세롤 2 ㎖를 30초 동안 가하였다. 이어서, 293세포를 무혈청 배지로 세척하고 새로운 배지를 가하여 5일간 세포를 배양하였다.

형질감염 약 24시간 후에 배지를 제거하고 배지(만으로) 또는 200 μCi/㎖ ^{35}S-시스테인 및 200 μCi/㎖ ^{35}S-메티오닌을 포함하는 배지로 교체하였다. 12시간 배양 후, 조건화된 배지를 수집하고 회전 필터에서 농축시켜 15% SDS 겔에 로딩하였다. 처리된 겔을 건조시키고 일정 기간동안 필름에 노출시켜 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 존재를 확인하였다. 형질감염된 세포를 포함하는 배양액을 추가로 배양하고(무혈청 배지에서), 이를 선택된 생물분석법으로 시험하였다.

별법으로, 문헌(Somparyrac et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 12:7575(1981))에 기재된 덱스트란 술페이트 방법을 이용하여 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 DNA를 293 세포에 일시적으로 도입시킬 수 있었다. 293 세포를 회전 플라스크에서 최대 밀도가 되도록 배양하고 pRK5-PRO381, pRK5-PRO1269, pRK5-PRO1410, pRK5-PRO1755, pRK5-PRO1780, pRK5-PRO1788, pRK5-PRO3434, pRK5-PRO1927, pRK5-PRO3567, pRK5-PRO1295, pRK5-PRO1293, pRK5-PRO1303, pRK5-PRO4344, pRK5-PRO4354, pRK5-PRO4397, pRK5-PRO4407, pRK5-PRO1555, pRK5-PRO1096, pRK5-PRO2038 또는 pRK5-PRO2262 DNA 700 ㎍을 가하였다. 세포를 우선 원심분리하여 회전 플라스크로부터 농축하고 PBS로 세척하였다. DNA-덱스트란 침전물을 세포 펠릿 상에서 4시간 동안 인큐베이션하였다. 세포를 20% 글리세롤로 90초간 처리하고 조직 배양 배지로 세척한 후, 조직 배양 배지, 5 ㎍/㎖ 소의 인슐린 및 0.1 ㎍/㎖ 소의 트랜스페린을 포함하는 회전 플라스크에 다시 넣었다. 약 4일 후에 조건화된 배지를 원심분리하고 여과시켜 세포와 파쇄물을 제거하였다. 발현된 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262를 포함하는 샘플을 농축시키고, 투석 및(또는) 컬럼 크로마토그래피와 같은 선택된 방법으로 정제하였다.

다른 실시양태로, PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262를 CHO 세포에서 발현시킬 수 있다. pRK5-PRO381, pRK5-PRO1269, pRK5-PRO1410, pRK5-PRO1755, pRK5-PRO1780, pRK5-PRO1788, pRK5-PRO3434, pRK5-PRO1927, pRK5-PRO3567, pRK5-PRO1295, pRK5-PRO1293, pRK5-PRO1303, pRK5-PRO4344, pRK5-PRO4354, pRK5-PRO4397, pRK5-PRO4407, pRK5-PRO1555, pRK5-PRO1096, pRK5-PRO2038 또는 pRK5-PRO2262 벡터를 공지된 시약, 예를 들어 $CaPO_4$ 또는 DEAE 덱스트란을 이용하여 CHO 세포에 형질감염시킬 수 있다. 상기 언급한 바와 같이, 세포를 배양하고 배지(만으로) 또는 ^{35}S-메티오닌과 같은 방사성 표지를 포함하는 배지로 배양액을 교체하였다. PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 존재를 확인한 후, 배양 배지를 무혈청 배지로 교체하였다. 바람직하게는 6일 가량 배양물을 배양한 후에 조건화된 배지를 회수하였다. 발현된 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262를 포함하는 배지를 농축시켜 선택된 방법으로 정제하였다.

또한, 에피토프 태그가 부착된 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262는 CHO 숙주세포에서 발현될 수 있다. PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262는 pRK5 벡터 로부터 서브클로닝될 수 있다. 서브클론의 삽입체는 PCR을 통해 폴리-His 태그와 같은 선택된 에피토프 태그가 부착된 형태로 번역 프레임에 맞게 배큘로바이러스 발현 벡터에 융합될 수 있다. 폴리-His 태그가 부착된 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 삽입체는 안정한 클론의 선별을 위한 DHFR과 같은 선별 마커를 포함하는 SV40 유도 벡터로 서브클로닝될 수 있다. 최종적으로, CHO 세포는 (상기에서와 같이) SV40 유도 벡

터로 형질감염될 수 있다. 발현을 확인하기 위해서 상기와 같은 방법으로 표지시킬 수 있다. 이어서, 폴리-His 태그가 부착되어 발현된 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262를 포함하는 배양 배지를 농축시켜 Ni $^{2+}$ -킬레이트 친화 크로마토그래피와 같이 선택된 방법으로 정제할 수 있다. 또한, CHO 및(또는) COS 세포에서도 일시적 발현 과정에 의해 발현시킬 수 있다.

PRO381, PRO1410 및 PRO1303을 안정한 발현 과정에 의해 CHO 세포에서 발현시켰다. CHO 세포에서의 안정한 발현은 하기 과정을 이용하여 수행하였다. 각 단백질의 가용성 형태의 코딩 서열이 힌지, CH2 및 CH2 도메인을 포함하는 IgG1 불변 영역 서열에 융합된 IgG 구조체 (이뮤노어드헤신)로서 발현 및(또는) 폴리-His 태그가 부착된 형태로 단백질이 발현되었다.

PCR 증폭에 이어 문헌 (Ausubel et al., Current Protocols of Molecular Biology, Unit 3.16, Johnn Wiley and Sons(1997))에 기재된 표준 방법을 이용하여 각 DNA를 CHO 발현 벡터에 서브클로닝하였다. CHO 발현 벡터는 목적하는 DNA의 5' 및 3'에 적합한 제한 부위를 갖도록 제조되어 cDNA의 제한 부위가 편리하게 셔틀링될 수 있게 된다. CHO 세포에서의 발현에 사용되는 벡터는 문헌(Lucas et al., Nucl. Acids Res. 24:9 1774-1779(1996))에 기재된 바와 같으며, 목적하는 cDNA와 디히드로폴레이트 리덕타제(DHFR)를 발현시키기 위해 SV40 초기 프로모터/인핸서를 사용하였다. DHFR 발현으로 형질감염 후에 플라스미드의 안정하게 유지되는 세포를 선별할 수 있다.

시판되는 형질감염 시약인 슈퍼펙트(상표명)(Superfect, Qiagen), 도스퍼(상표명)(Dosper) 또는 퓨진(상표명)(Fugene, Boehringer Mannheim)을 이용하여, 원하는 플라스미드 DNA 12 ㎍을 약 1000만개의 CHO 세포에 도입하였다. 상기 문헌(Lucas et al.)에 기재된 방법에 따라 세포를 배양하였다. 하기 기재된 방법에 따라 추후에 세포를 배양 및 생산하기 위해 약 3 x 10 ^{7} 세포를 앰플에 동결시켰다.

플라스미드 DNA를 포함하는 앰플을 수조에 넣어 녹인 후 볼텍싱하여 혼합하였다. 배지 10 ㎖를 포함하는 원심분리 튜브에 피펫으로 내용물을 넣고 1000 rpm으로 5분간 원심분리하였다. 상층액을 흡인 제거하고 세포를 10 ㎖ 선택 배지(0.2 ㎛ 투석 여과된 5% 우태 혈청을 포함하는, 0.2 ㎛ 여과지를 통해 여과된 PS20)에 재현탁시켰다. 선택 배지 90 ㎖를 포함하는 100 ㎖ 회전 플라스크에 세포를 분주하였다. 1 내지 2일 후, 선택 배지 150 ㎖로 채워진 250 ㎖ 회전 플라스크로 세포를 옮겨 37℃에서 배양하였다. 2 내지 3일 후에 250 ㎖, 500 ㎖ 및 2000 ㎖ 회전 플라스크에 1 ㎖당 3 x 10 ^{5} 개의 세포를 접종하였다. 세포 배양액을 원심 분리하여 신선한 배지로 교환하고 생산 배지에 재현탁하였다. 임의의 적합한 CHO 배지를 사용할 수 있으나, 미국 특허 제5,122,469호 (1992년 6월 16일)에 기재된 생산 배지를 실제로 사용하였다. 3 L 생산 회전 플라스크에 1.2 x 10 ^{6} 세포/㎖가 되도록 접종하였다. 제0일에 세포 수와 pH를 측정하였다. 제1일에 회전 플라스크에서 샘플을 취해 여과된 공기의 살포를 개시하였다. 제2일에 회전 플라스크에서 샘플을 취해 온도를 33℃로 바꾸고 500 g/L-글루코스 30 ㎖ 및 10% 소포제 0.6 ㎖(예를 들어, 35% 폴리디메틸 실록산 유상액, Dow Corning 365 의약 등급 유상액)을 가하였다. 전체 생산기 동안, 필요에 따라 pH를 약 7.2가 유지되도록 조절하였다. 10일 후 또는 생존률이 70% 미만으로 떨어질 즈음 세포 배양액을 원심분리로 회수하고 0.22 ㎛ 필터에 여과시켰다. 여과액을 4℃에 보관하거나 정제용 컬럼에 즉시 로딩하였다.

폴리-His 태그가 부착된 작제물의 경우, Ni-NTA 컬럼(Qiagen)을 이용하여 단백질을 정제하였다. 정제하기 전에 이미다졸을 5 mM 농도로 조건화된 배지에 가하였다. 0.3 M NaCl 및 5 mM 이미다졸을 포함하는 20 mM Hepes, pH 7.4 완충액으로 평형화된 Ni-NTA 컬럼 6 ㎖에 4℃에서 4 내지 5 ㎖/분의 유속으로 조건화된 배지를 주입하였다. 로딩 후에 컬럼을 추가의 평형 완충액으로 세척하고, 0.25 M 이미다졸을 포함하는 평형 완충액으로 단백질을 용출하였다. 이어서, 고도로 정제된 단 백질을 25 ㎖의 G25 슈퍼파인(Pharmacia) 컬럼을 통해 10 mM Hepes, 0.14 M NaCl 및 4% 만니톨을 함유하는 저장 완충액(pH 6.8)중으로 탈염시키고 -80℃에서 보관하였다.

조건화된 배지로부터 이뮤노어드헤신(Fc 포함) 작제물을 하기와 같이 정제하였다. 조건화된 배지를 20 mM 인산나트륨 완충액(pH 6.8)으로 평형화된 단백질 A 컬럼(Pharmacia) 5 ㎖에 주입하였다. 로딩 후, 컬럼을 평형 완충액으로 세척하고 100 mM 시트르산(pH 3.5)으로 용출하였다. 용출된 단백질을 275 ㎕의 1 M Tris 완충액(pH 9)을 포함하는 튜브에 1 ㎖ 분획으로 회수하여 즉시 중화시켰다. 이어서, 고도로 정제된 단백질을 폴리-His 태그가 부착된 단백질의 경우에 대해 상기 기재된 바와 같이 저장 완충액(pH6.8) 중으로 탈염시켰다. SDS-PAGE와 에드만 분해법으로 수행되는 N-말단 아미노산 서열 분석으로 단백질의 균일함을 확인하였다.

실시예 24: 효모에서 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 발현

다음 방법은 효모에서 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262의 재조합 발현을 기재하고 있다.

우선, ADH2/GAPDH 프로모터로부터 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 세포내 생산 또는 분비를 위한 효모 발현 벡터를 제조하였다. PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262를 코딩하는 DNA 및 프로모터를 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드의 세포내 발현을 위해 선택된 플라스미드의 적합한 제한 효소 부위에 삽입하였다. 분비의 경우에는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262의 발현을 위해, ADH2/GAPDH 프로모터, 천연 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262의 신호 펩티드 및 다른 포유동물의 신호 펩티드(예를 들어, 효모 알파-인자 또는 인버타제 분비 신호/리더 서열)를 코딩하는 DNA, 및 링커 서열(필요한 경우)과 함께 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262를 코딩하는 DNA를 선택된 플라스미드에 클로닝할 수 있다.

이어서, 효모 세포, 예를 들어 효모 균주 AB110을 상기 기재된 발현 플라스미드로 형질전환시키고 선택된 발효 배지에서 배양할 수 있다. 형질전환된 효모 상층액을 10% 트리클로로아세트산으로 침전시키고 SDS-PAGE로 분리한 후 겔을 쿠마시 블루로 염색하여 분석할 수 있다.

계속해서, 원심분리에 의해 발효 배지로부터 효모 세포를 회수하고 선택된 카트리지 필터를 이용하여 배지를 농축시켜 재조합 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262를 단리하고 정제할 수 있다. PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262를 함유하는 농축액을 선택된 컬럼 크로마토그래피 수지를 이용하여 추가로 정제할 수 있다.

실시예 25: 배큘로바이러스 감염 곤충 세포에서 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262의 발현

다음 방법은 배큘로바이러스로 감염된 곤충 세포 내에서의 재조합 발현에 대하여 기재하고 있다.

PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262를 코딩하는 서열을 배큘로바이러스 발현 벡터에 포함된 에피토프 태그의 상류에 융합시켰다. 이러한 에피토프 태그에는 폴리-His 태그 및 면역글로불린 태그(IgG의 Fc 영역과 같이)가 포함된다. 시판되는 플라스미드, 예를 들어 pVL1393 (Novagen)에서 유도된 플라스미드를 포함하는 다양한 플라스미드를 사용할 수 있다. 요컨데, PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262를 코딩하는 서열이나 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262를 코딩하는 서열의 원하는 부분(예를 들어, 막횡단 단백질의 세포외 도메인, 또는 세포외 단백질의 경우에 성숙 단백질 코딩하는 서열)을 5' 및 3' 영역에 상보적인 프라이머를 이용하여 PCR로 증폭하였다. 5' 프라이머는 인접한 (선택된) 제한 효소 부위를 포함할 수 있다. 이어서, 생성물을 선택된 제한 효소로 절단하여 발현 벡터에 서브클로닝하였다.

리포펙틴(GIBCO-BRL로부터 구입)을 이용하여, 상기 플라스미드 및 배큘로골드 (상표명) (BaculoGold™) 바이러스 DNA (Phamingen)를 스포도프테라 프루기페르다 (*Spodoptera frugiperda* , 'Sf9') 세포 (ATCC CRL 1711)에 동시 형질감염시켜 재조합 배큘로바이러스를 생성하였다. 28℃에서 4 내지 5일 배양 후에, 방출된 바이 러스를 회수하여 이후의 증폭에 사용하였다. 바이러스 감염 및 단백질 발현은 문헌(O'Reilley et al., Baculovirus Expression vectors : A laboratory Manual, Oxford: Oxford University Press (1994))에 따라 수행하였다.

이어서, 폴리-His 태그가 부착되어 발현된 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262는, 예를 들어 Ni^{2+} -킬레이트 친화 크로마토그래피로 하기와 같이 정제될 수 있다. 문헌(Rupert et al., Nature, 362: 175-179(1993))에 따라 재조합 바이러스-감염된 Sf9 세포로부터 추출액을

제조한다. 요컨데, Sf9 세포를 세척하여 초음파 처리 완충액 (25 ㎖ Hepes, pH 7.9; 12.5 mM $MgCl_2$; 0.1 mM EDTA; 10% 글리세롤; 0.1% NP-40; 0.4 M KCl)에 재현탁시키고 얼음에서 20초간 2회 초음파 처리하였다. 초음파 처리물을 원심분리로 투명하게하고, 상층액을 로딩 완충액(50 mM 인산, 300 mM NaCl, 10% 글리세롤, pH 7.8)에 50배 희석하여 0.45 ㎛ 필터로 여과시켰다. Ni^{2+}-NTA 아가로스 컬럼(Qiagen으로부터 구입)을 5 ㎖ 충진 부피로 제조하여 물 25 ㎖로 세척하고 로딩 완충액 25 ㎖로 평형화시켰다. 여과된 세포 추출물을 분당 0.5 ㎖로 컬럼에 로딩하였다. 로딩 완충액으로 A_{280} 기준선까지 컬럼을 세척하고, 이 시점에서 분획을 회수하기 시작하였다. 다음으로, 2차 세척 완충액(50 mM 인산; 300 mM NaCl, 10% 글리세롤, pH 6.0)으로 컬럼을 세척하여 비특이적으로 결 합된 단백질을 용출시켰다. A_{280} 이 기준선에 다시 도달하면, 컬럼을 2차 세척 완충액 중의 0 내지 500 mM 이미다졸 구배로 전개시켰다. 1 ㎖ 분획을 회수하여 SDS-PAGE 및 은 염색하거나 알카리 포스파타제에 결합된 Ni^{2+}-NTA(Qiagen)로 웨스턴 블롯팅하여 분석하였다. 용출된 His_{10}-태그가 부착된 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262를 포함하는 분획을 모아 로딩 완충액에 대해 투석하였다.

별법으로, IgG 태그가 부착된 (또는 Fc 태그가 부착된) PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262의 정제는 공지된 크로마토그래피 기술, 예를 들어 단백질 A 또는 단백질 G 컬럼 크로마토그래피를 이용하여 수행할 수 있다.

발현은 실제로 0.5 내지 2 L 규모로 수행되기는 했지만, 더 큰 생산 규모(예를 들어, 8 L)로 용이하게 규모를 키울 수 있다. 이들 단백질은, 단백질의 세포외 영역이 힌지, CH2 및 CH2 도메인을 포함하는 IgG1 불변 영역 서열에 융합된 IgG 구조체 (이뮤노어드헤신)로서 발현 및(또는) 폴리-His 태그가 부착된 형태로 발현되었다.

PCR 증폭 후에, 각각의 코딩 서열을 배큘로바이러스 발현 벡터(IgG 융합 단백질의 경우 pb.PH.IgG, 폴리-His 태그가 부착된 단백질의 경우 pb.PH.His.c)에 서 브클로닝한 후, 리포펙틴(Gibco BRL)을 이용하여 이 벡터 및 배큘로골드(상표명) 배큘로바이러스 DNA(Pharmingen)를 105 스포도프테라 프루기페르다('Sf9') 세포(ATCC CRL 1711)에 동시 형질감염시켰다. pb.PH.IgG 및 pb.PH.His.c는 상업적으로 시판되는 pVL1393 배큘로바이러스 발현 벡터(Pharmingen)를 His 또는 Fc 태그 영역이 포함되도록 변형시킨 벡터이다. 10% FBS가 포함된 힝크(Hink's) TNM-FH 배지(Hyclone)에서 세포를 배양하였다. 세포를 28°C에서 5일 동안 배양하였다. 상층액을 회수하여, 감염 다중성(multiplicity of infection; MOI)이 약 10이 되도록 10% FBS가 포함된 힝크 TNM-FH 배지에서 Sf9 세포를 감염시킴으로써 수행되는 1차 바이러스 증폭에 이를 사용하였다. 세포를 28°C에서 3일 동안 배양하였다. 상층액을 회수하고, 히스티딘 태그가 부착된 단백질의 경우 Ni^{2+}-NTA 비드(QIAGEN) 또는 IgG 태그가 부착된 단백질의 경우 단백질-A 세파로스 CL-4B 비드(Pharmacia) 25 ㎖에 상층액 1 ㎖을 배치 결합시킨 후에 쿠마시 블루 염색에 의해 알려진 농도의 단백질 표준과 비교하는 SDS-PAGE 분석에 의해 배큘로바이러스 발현 벡터 내 작제물의 발현을 확인하였다.

1차 바이러스 증폭 상층액을 사용하여, ESF-921 배지(Expression Systems LLC)가 들어있는 회전 플라스크 중의 Sf9 세포 배양액(500 ㎖)을 MOI 약 0.1로 감염시켰다. 세포를 28°C에서 3일 동안 배양하였다. 상층액을 회수하여 여과하였다. 필요한 경우, 회전 플라스크 배양액의 발현이 확인될 때까지 배치 결합 및 SDS-PAGE 분석을 반복하였다.

형질감염된 세포로부터의 조건화된 배지(0.5 내지 3 L)를 원심분리에 의해 회수하여 세포를 제거한 후, 0.22 ㎛ 필터로 여과하였다. 폴리-His 태그가 부착된 작제물의 경우, Ni^{2+}-NTA 컬럼(Qiagen)을 이용하여 단백질을 정제하였다. 정제하기 전에 이미다졸을 5 mM 농도로 조건화된 배지에 가하였다. 0.3 M NaCl 및 5 mM 이미다졸을 포함하는 20 mM Hepes, pH 7.4 완충액으로 평형화된 Ni-NTA 컬럼 6 ㎖에 4°C에서 4 내지 5 ㎖/분의 유속으로 조건화된 배지를 주입하였다. 로딩 후에 컬럼을 추가의 평형 완충액으로 세척하고, 0.25 M 이미다졸을 포함하는 평형 완충액으로 단백질을 용출하였다. 이어서, 고도로 정제된 단백질을 25 ㎖의 G25 슈퍼파인(Pharmacia) 컬럼을 통해 10 mM Hepes, 0.14 M NaCl 및 4% 만니톨을 함유하는 저장 완충액(pH 6.8)중으로 탈염시키고 -80°C에서 보관하였다.

조건화된 배지로부터 이뮤노어드헤신(Fc 포함) 작제물을 하기와 같이 정제하였다. 조건화된 배지를 20 mM 인산나트륨 완충액(pH 6.8)으로 평형화된 단백질 A 컬럼(Pharmacia) 5 ㎖에 주입하였다. 로딩 후, 컬럼을 평형 완충액으로 세척하고 100 mM 시트르산(pH 3.5)으로 용출하였다. 용출된 단백질을 275 ㎕의 1 M Tris 완충액(pH 9)을 포함하는 튜브에 1 ㎖ 분획으로 회수하여 즉시 중화시켰다. 이어서, 고도로 정제된 단백질을 폴리-His 태그가 부착된 단백질의 경우에 대해 상기 기재된 바와 같이 저장 완충액(pH6.8) 중으로 탈염시켰다. SDS 폴리아크릴아미드 겔(PAG) 전기영동과 에드만 분해법으로 수행되는 N-말단 아미노산 서열 분석으로 단백질의 균일함을 확인하였다.

별법으로, 하이 5(high 5) 세포에 혼입시키는 변형된 배큘로바이러스 방법을 이용할 수 있다. 이 방법에서는 원하는 서열을 코딩하는 DNA를 Pfu(Stratagene)과 같은 적합한 시스템으로 증폭시키거나, 배큘로바이러스 발현 벡터에 포함된 에피토프 태그의 (5') 상류에 융합시켰다. 이러한 에피토프 태그에는 폴리-His 태그 및 면역글로불린 태그(예를 들어, IgG의 Fc 영역)가 포함된다. pIE1-1(Novagen)과 같이 상업적으로 시판되는 플라스미드에서 유도된 것을 포함하는 다양한 벡터가 사용될 수 있다. pIE1-1및 pIE1-2 벡터는 안정하게 형질전환된 곤충 세포에서 배큘로바이러스 i e1 프로모터로부터 재조합 단백질이 구성적으로 발현되도록 고안된 것이다. 이 플라스미드는 단지 다중 클로닝 부위의 방향만 다르고, 비감염 곤충 세포에서 ie1-매개 유전자 발현에 중요한 것으로 알려진 모든 프로모터 서열 및 hr5 인핸서를 포함하고 있다. pIE1-1및 pIE1-2는 번역 개시 부위를 포함하기 때문에 융합 단백질의 생산에 사용될 수 있다. 요컨데, 원하는 서열 또는 원하는 서열의 부분(예를 들어, 막횡단 단백질의 세포외 도메인을 코딩하는 서열)을 5' 및 3' 영역에 상보적인 프라이머를 이용하여 PCR로 증폭하였다. 5' 프라이머는 인접한 (선택된) 제한 효소 부위를 포함할 수 있다. 이어서, 생성물을 선택된 제한 효소로 절단하여 발현 벡터에 서브클로닝하였다. 예를 들어, pIE1-1의 유도체는 원하는 서열의 (3') 하류에 인간 IgG의 Fc 영역(pb.PH.IgG) 또는 8개의 히스티딘(pb.PH.His) 태그를 포함할 수 있다. 확인을 위해, 벡터 작제물을 서열 분석하는 것이 바람직하다.

하이 5 세포를 CO_2, 페니실린 및 스트렙토마이신이 없는 27℃의 조건하에서 50%가 채워지도록 배양하였다. 각각의 150 mm 플레이트에 사용하기 위해, 원하는 서열을 포함하는 pIE 기재의 벡터 30㎍을 Ex-세포 배지(배지: Ex-Cell 401 + 1/100 L-Glu, JHR Biosciences #14401-78P, 주의: 이 배지는 빛에 민감함) 1 ㎖과 혼합하고, 별도의 튜브에 셀펙틴(CellFECTIN, Gibco BRL #10362-010) 100㎕를 Ex-세포 배지 1 ㎖과 혼합(볼텍싱으로 혼합)하였다. 상기 2가지 용액을 혼합하여 상온에서 15분 동안 인큐베이션하였다. Ex-세포 배지 8 ㎖을 DNA와 셀펙틴의 혼합물 2 ㎖에 가하고, 이를 미리 Ex-세포 배지로 1회 세척된 하이 5 세포에 가하였다. 이어서, 플레이트를 어두운 상온에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. DNA와 셀펙틴의 혼합물을 흡인 제거하고, 세포를 Ex-세포 배지로 1회 세척하여 과량의 셀펙틱을 제거한 후, 신선한 Ex-세포 배지 30 ㎖을 가하고 세포를 28℃에서 3일 동안 배양하였다. 상층액을 회수하고, 히스티딘 태그가 부착된 단백질의 경우 Ni^{2+}-NTA 비드(QIAGEN) 또는 IgG 태그가 부착된 단백질의 경우 단백질-A 세파로스 CL-4B 비드(Pharmacia) 25 ㎖에 상층액 1 ㎖을 배치 결합시킨 후에 쿠마시 블루 염색에 의해 알려진 농도의 단백질 표준과 비교하는 SDS-PAGE 분석에 의해 배큘로바이러스 발현 벡터 내 서열의 발현을 측정하였다.

형질감염된 세포로부터의 조건화된 배지(0.5 내지 3 L)를 원심분리에 의해 회수하여 세포를 제거한 후, 0.22 ㎛ 필터로 여과하였다. 폴리-His 태그가 부착된 작제물의 경우, Ni^{2+}-NTA 컬럼(Qiagen)을 이용하여 단백질을 정제하였다. 정제하기 전에 이미다졸을 5 mM 농도로 조건화된 배지에 가하였다. 0.3 M NaCl 및 5 mM 이미다졸을 포함하는 20 mM Hepes, pH 7.4 완충액으로 평형화된 Ni-NTA 컬럼 6 ㎖에 4℃에서 4 내지 5 ㎖/분의 유속으로 조건화된 배지를 주입하였다. 로딩 후에 컬럼을 추가의 평형 완충액으로 세척하고, 0.25 M 이미다졸을 포함하는 평형 완충액으로 단백질을 용출하였다. 이어서, 고도로 정제된 단백질을 25 ㎖의 G25 슈퍼파인(Pharmacia) 컬럼을 통해 10 mM Hepes, 0.14 M NaCl 및 4% 만니톨을 함유하는 저장 완충액(pH 6.8)중으로 탈염시키고 -80℃에서 보관하였다.

조건화된 배지로부터 이뮤노어드헤신(Fc 포함) 작제물을 하기와 같이 정제하였다. 조건화된 배지를 20 mM 인산나트륨 완충액(pH 6.8)으로 평형화된 단백질 A 컬럼(Pharmacia) 5 ㎖에 주입하였다. 로딩 후, 컬럼을 평형 완충액으로 세척하고 100 mM 시트르산(pH 3.5)으로 용출하였다. 용출된 단백질을 275 ㎕의 1 M Tris 완충액(pH 9)을 포함하는 튜브에 1 ㎖ 분획으로 회수하여 즉시 중화시켰다. 이어서, 고도로 정제된 단백질을 폴리-His 태그가 부착된 단백질의 경우에 대해 상기 기재된 바와 같이 저장 완충액 중으로 탈염시켰다. SDS 폴리아크릴아미드 겔, 에드만 분해법으로 수행되는 N-말단 아미노산 서열 분석, 및 원하거나 필요한 경우 기타 분석 방법으로 단백질의 균일함을 확인하였다.

하이 5 세포를 포함하는 상기 변형된 배큘로바이러스 방법에 의해 PRO381, PRO410 및 PRO4354를 성공적으로 발현하였다.

실시예 26: PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262에 결합하는 항체의 제조

본 실시예는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262에 특이적으로 결합할 수 있는 모노클로날 항체를 제조하는 방법을 예시한다.

모노클로날 항체를 제조하는 기술은 당업계에 공지되어 있으며, 예를 들어 상기의 문헌(Goding)에 기재되어 있다. 사용될 수 있는 면역원에는 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262를 함유하는 본 발명의 정제된 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 융합 단백질, 및 세포 표면에 재조합 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262를 발현하는 세포가 포함된다. 당업자는 불필요한 실험없이도 면역원을 선택할 수 있다.

생쥐, 예를 들어 Balb/c를 프로인트 완전 면역보강제에 유화된 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 면역원 1 내지 100 ㎍을 피하 또는 복강내 주사하여 면역화시켰다. 별법으로, 면역원을 MPL-TDM 면역보강제(Ribi Immunochemical Research, Hamilton, MT)에 유화시켜 동물의 뒷발바닥에 주사하여 면역화시켰다. 이어서, 면역화된 생쥐를 10 내지 12일 후에 선택된 면역보강제 내에 유화된 추가의 면역원으로 부스팅하였다. 그 이후, 수주 동안 생쥐를 추가 면역 주사로 부스팅할 수 있다. 안와후방 출혈법(retro-orbital bleeding)으로 생쥐에서 혈청 샘플을 주기적으로 채취한 후, ELISA 분석법으로 시험하여 항-PRO381, 항-PRO1269, 항-PRO1410, 항-PRO1755, 항-PRO1780, 항-PRO1788, 항-PRO3434, 항-PRO1927, 항-PRO3567, 항-PRO1295, 항-PRO1293, 항-PRO1303, 항-PRO4344, 항-PRO4354, 항-PRO4397, 항-PRO4407, 항-PRO1555, 항-PRO1096, 항-PRO2038 또는 항-PRO2262 항체를 검출하였다.

적합한 항체 역가가 검출되면, 항체에 대해 '양성'인 동물에게 PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262를 최종 정맥주사하였다. 3 내지 4일 후에 생쥐를 죽여 비장세포를 회수하였다. 이어서, 비장 세포를 선택된 쥐의 골수종 세포주, 예를 들어 ATCC CRL 1597로부터 입수가능한 P3X63AgU.1과 융합시켰다(35% 폴리에틸렌 글리콜 이용). 융합체는 비-융합세포, 골수종 하이브리드 및 비장세포 하이브리드의 증식을 억제하는 HAT(하이포크산틴, 아미노프테린 및 티미딘) 배지를 포함하는 96 웰 조직 배양 플레이트에서 배양될 수 있는 하이브리도마 세포를 생성하 였다.

PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262에 대한 반응성에 대해 하이브리도마 세포를 ELISA로 스크리닝할 수 있다. PRO381, PRO1269, PRO1410, PRO1755, PRO1780, PRO1788, PRO3434, PRO1927, PRO3567, PRO1295, PRO1293, PRO1303, PRO4344, PRO4354, PRO4397, PRO4407, PRO1555, PRO1096, PRO2038 또는 PRO2262 폴리펩티드에 대한 목적하는 모노클로날 항체를 분비하는 '양성' 하이브리도마 세포를 결정하는 방법은 당업자에게 잘 알려져 있다.

양성 하이브리도마 세포는 순계의 Balb/c 생쥐가 항-PRO381, 항-PRO1269, 항-PRO1410, 항-PRO1755, 항-PRO1780, 항-PRO1788, 항-PRO3434, 항-PRO1927, 항-PRO3567, 항-PRO1295, 항-PRO1293, 항-PRO1303, 항-PRO4344, 항-PRO4354, 항-PRO4397, 항-PRO4407, 항-PRO1555, 항-PRO1096, 항-PRO2038 또는 항-PRO2262 모노클로날 항체를 포함하는 복수를 생산하도록 복강 내에 주사될 수 있다. 별법으로, 하이브리도마 세포는 조직 배양 플라스크 또는 롤러 병에서 배양될 수 있다. 복수 내에서 생성된 모노클로날 항체는 황산암모늄 침전에 이은 겔 배제 크로마토그래피를 이용하여 정제할 수 있다. 별법으로, 단백질 A 또는 단백질 G에 대한 항체의 결합을 기초로 하는 친화 크로마토그래피를 이용할 수도 있다.

물질의 기탁:

다음 물질들은 미국 버지니아주 20110-2209 매나서스 유니버시티 블러버드 10801에 소재하는 아메리칸 타입 컬쳐 콜렉션(ATCC)에 기탁되었다.

물질	ATCC 기탁번호	기탁일
DNA44194-1317	209808	1998년 4월 28일
DNA66520-1536	203226	1998년 9월 15일
DNA68874-1622	203277	1998년 9월 22일
DNA76396-1698	203471	1998년 11월 17일
DNA71169-1709	203467	1998년 11월 17일
DNA77652-2505	203480	1998년 11월 17일
DNA77631-2537	203651	1999년 2월 9일
DNA82307-2531	203537	1998년 12월 15일
DNA56049-2543	203662	1999년 2월 9일

DNA59218-1559 203287 1998년 9월 29일

DNA60618-1557 203292 1998년 9월 29일

DNA65409-1566 203232 1998년 9월 15일

DNA84927-2585 203865 1999년 3월 23일

DNA92256-2596 203891 1999년 3월 30일

DNA83505-2606 132-PTA 1999년 5월 25일

DNA92264-2616 203969 1999년 4월 27일

DNA73744-1665 203322 1998년 10월 6일

기탁은 특허 절차상 미생물 기탁의 국제적 승인에 관한 부다페스트 조약 및 그의 규칙(부다페스트 조약 (Budapest Treaty))의 규정하에 이루어졌다. 이는 기탁일로부터 30년 동안 기탁물의 생존 배양물의 유지를 보장한다. 기탁물은 부다페스트 조약의 협약 하에 ATCC로부터 제넨테크 인크와 ATCC 사이 협정에 따라 분양될 것이며, 이는 관련 미국 특허의 허여시 또는 미국 또는 외국 특허 출원의 공개시(이 중 먼저인 때) 공공에 대한 기탁물의 배양 프로제니의 영구적이고 비제한적인 분양을 보장하고, 미국 특허 및 상표청장에 의해 35 USC §122 및 그에 따른 미국 특허 및 상표청장의 규칙(37 CFR §1.14 포함, 특히 886 OG 638 참조)에 따라 권리가 있는 것으로 결정한 이에게 프로제니의 분양을 보장한다.

본 출원의 양수인은 적합한 조건하에서 배양시 기탁 물질의 배양물이 사멸하거나 손실되거나 파손된 경우, 이를 통지하면 물질을 다른 동일한 물질로 즉시 교체할 것임을 동의하였다. 기탁 물질의 분양은 각국 정부의 권한으로 그 특허법에 따라 승인된 권리에 위배하여 본 발명을 실시하도록 허가하는 것으로서 해석되어서는 안된다.

앞서 기술한 명세서는 당업자가 본 발명을 실시할 수 있도록 하기에 충분한 것으로 생각된다. 기탁된 실시양태가 본 발명의 특정 측면의 한 예시로서 의도되는 것이므로 본 발명은 기탁된 작제물의 범위에 제한되지 않고, 기능적으로 동등한 임의의 작제물은 본 발명의 범위 내에 있다. 본원에서 물질의 기탁은 본원에 포함된 기재 내용이 본 발명의 최선의 양식을 포함한 임의의 측면을 실시하기에 부적절하다는 것을 의미하지는 않으며, 특허 청구 범위의 범위를 명세서에서 나타내는 구 체적인 설명에 제한하려는 것으로 해석되어서는 안된다. 실제로, 앞서의 상세한 설명으로부터 본원에 나타내고 기술된 것 이외에 본 발명의 다양한 변형이 당업자에게는 명백하고, 이는 첨부된 특허 청구의 범위 내에 있을 것이다.

발명의 효과

본 발명은 인간을 포함하는 포유동물에서 신생물성 세포의 생장 및 증식에 대한 진단 및 치료용 조성물과 그 방법에 관한 것이다. 본 발명은 종양 세포의 게놈에서 증폭되는 유전자를 확인하는 것을 기초로 한다. 그러한 유전자 증폭은 유전자 산물의 과다발현과 연관되며, 종양형성의 원인이 되는 것으로 생각된다. 따라서, 증폭 유전자에 의해 코딩된 단백질은 특정 암의 진단 및(또는) 치료(예방을 포함하여)에 있어 유용한 표적인 것으로 여겨지며, 종양 치료의 예후에 있어서 예시자로 작용할 수 있는 것으로, 본 발명에서는 이와 같은 단백질의 폴리펩티드에 관한 연구로 상기 목적을 이루고자 하였다.

(57) 청구의 범위

청구항 1.

서열 확인 번호 47의 아미노산 서열로 이루어진 PRO4407 폴리펩티드에 결합하는 단리된 모노클로날 항체.

청구항 2.

제1항에 있어서, 서열 확인 번호 47의 아미노산 서열로 이루어진 상기 폴리펩티드에 특이적으로 결합하는 것인 모노클로날 항체.

청구항 3.

제1항에 있어서, 서열 확인 번호 47의 아미노산 서열로 이루어진 상기 폴리펩티드를 발현하는 세포의 사멸을 유도하는 것인 모노클로날 항체.

청구항 4.

제3항에 있어서, 상기 세포가 동일한 조직 유형의 정상 세포에 비해 서열 확인 번호 47의 아미노산 서열로 이루어진 상기 폴리펩티드를 과다발현시키는 암세포인 모노클로날 항체.

청구항 5.

제1항에 있어서, 비-인간 상보성 결정 영역(CDR) 또는 인간 프레임워크 영역(FR)을 포함하는 모노클로날 항체.

청구항 6.

제1항에 있어서, 검출 가능하게 표지된 것인 모노클로날 항체.

청구항 7.

제1항에 있어서, Fab, Fab', F(ab')$_2$ 또는 F$_v$, 또는 단일쇄 Fv 항체인 모노클로날 항체.

청구항 8.

서열 확인 번호 47의 아미노산 서열로 이루어진 PRO4407 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 서열에 혼성화되며, 여기서, 상기 혼성화는 42℃에서 50% 포름아미드, 5x SSC (0.75M NaCl, 0.075M 시트르산 나트륨), 50mM 인산나트륨 (pH 6.8), 0.1% 피로인산나트륨, 5x 덴하르트(Denhardt) 용액, 초음파처리된 연어 정자 DNA (50μg/ml), 0.1% SDS, 및 10% 덱스트란 술페이트를 사용하여 혼성화한 후, 42℃에서 0.2x SSC (염화나트륨/시트르산 나트륨), 그리고 55℃에서 50% 포름아미드로 세척하고, 55℃에서 EDTA가 함유된 0.1x SSC를 이용한 고도로 엄격한 세척을 수행하는 조건을 사용하는 것인, 동일한 조직 유형의 정상 세포에 비해 종양 세포의 게놈에서 증폭된 것을 특징으로하는 단리된 핵산 분자 또는 그의 상보체.

청구항 9.

서열 확인 번호 47의 아미노산 서열로 이루어진 PRO4407 폴리펩티드를 함유할 것으로 의심되는 인간을 제외한 포유동물로부터 얻은 샘플을 서열 확인 번호 47의 아미노산 서열로 이루어진 상기 폴리펩티드에 대한 항체와 접촉시켜 샘플에서 상기 항체와 상기 폴리펩티드간의 결합 여부를 결정하는 것을 포함하는, 상기 샘플에서 상기 폴리펩티드의 존재를 결정하는 방법.

청구항 10.

제9항에 있어서, 상기 샘플이 서열 확인 번호 47의 아미노산 서열로 이루어진 PRO4407 폴리펩티드를 함유할 것으로 의심되는 세포를 포함하는 것인 방법.

청구항 11.

제10항에 있어서, 상기 세포가 암세포인 방법.

청구항 12.

(a) 인간을 제외한 포유동물로부터 얻은 조직 세포의 시험 샘플, 및 (b) 동일한 세포 유형의 공지된 정상 조직 세포인 대조용 샘플에서 서열 확인 번호 47의 아미노산 서열로 이루어진 PRO4407 폴리펩티드를 코딩하는 유전자의 발현 수준을 검출하는 것을 포함하며, 이 때 대조용 샘플에 비해 시험 샘플에서 발현 수준이 더 높으면 시험 조직 세포를 얻은 포유동물에 종양이 존재함을 알 수 있는, 인간을 제외한 포유동물의 종양 진단 방법.

청구항 13.

(a) 서열 확인 번호 47의 아미노산 서열로 이루어진 PRO4407 폴리펩티드에 대한 항체를 인간을 제외한 포유동물로부터 얻은 시험 샘플과 접촉시키는 단계, 및 (b) 시험 샘플에서 상기 항체와 서열 확인 번호 47의 아미노산 서열로 이루어진 상기 폴리펩티드간의 결합체 형성을 검출하는 단계를 포함하며, 이 때 결합체가 형성되면 상기 포유동물에 종양이 존재함을 알 수 있는, 인간을 제외한 포유동물의 종양 진단 방법.

청구항 14.

제13항에 있어서, 상기 항체가 검출가능하게 표지된 것인 방법.

청구항 15.

제13항에 있어서, 조직 세포의 상기 시험 샘플이 신생물성 세포 생장 또는 증식이 의심되는 개체로부터 얻은 것인 방법.

청구항 16.

적합한 포장 내에 서열 확인 번호 47의 아미노산 서열로 이루어진 PRO4407 폴리펩티드에 대한 항체, 및 담체를 포함하는 암 진단 키트.

청구항 17.

제16항에 있어서, 서열 확인 번호 47의 아미노산 서열로 이루어진 PRO4407 폴리펩티드를 함유할 것으로 의심되는 샘플에서 상기 폴리펩티드의 존재를 검출하기 위한 상기 항체의 사용 지침서를 추가로 포함하는 키트.

청구항 18.

후보 화합물을 서열 확인 번호 47의 아미노산 서열로 이루어진 PRO4407 폴리펩티드와 이들 두 성분이 상호작용하기에 충분한 시간 및 조건하에서 접촉시켜 상기 폴리펩티드의 생물학적 또는 면역학적 활성이 억제되는지 측정하는 것을 포함하는, 상기 폴리펩티드의 생물학적 또는 면역학적 활성을 억제하는 화합물을 확인하는 방법.

청구항 19.

제18항에 있어서, 상기 후보 화합물이 서열 확인 번호 47의 아미노산 서열로 이루어진 PRO4407 폴리펩티드에 대한 항체인 방법.

청구항 20.

제18항에 있어서, 서열 확인 번호 47의 아미노산 서열로 이루어진 상기 PRO4407 폴리펩티드, 또는 상기 후보 화합물이 고형 지지체에 고정된 것인 방법.

청구항 21.

제20항에 있어서, 고정되지 않은 성분이 검출가능하게 표지된 것인 방법.

청구항 22.

(a) 서열 확인 번호 47의 아미노산 서열로 이루어진 PRO4407 폴리펩티드의 존재하에 상기 폴리펩티드에 의해 정상적으로 유도되는 세포 반응의 유도에 적합한 조건에서 스크리닝될 후보 화합물 및 세포를 접촉시키는 단계, 및

(b) 시험 화합물이 효과적인 길항제인지 측정하기 위해 상기 세포 반응의 유도를 측정하는 단계

를 포함하며, 이 때 상기 세포 반응의 유도가 나타나지 않으면 그 화합물이 효과적인 길항제임을 의미하는, 상기 폴리펩티드의 활성을 억제하는 화합물을 확인하는 방법.

청구항 23.

서열 확인 번호 47의 아미노산 서열로 이루어진 PRO4407 폴리펩티드를 발현하는 세포를 후보 화합물과 접촉시켜 상기 폴리펩티드의 발현이 억제되는지 측정하는 것을 포함하는, 상기 폴리펩티드의 발현을 억제하는 화합물을 확인하는 방법.

청구항 24.

제23항에 있어서, 상기 후보 화합물이 안티센스 올리고뉴클레오티드인 방법.

청구항 25.

서열 확인 번호 47의 아미노산 서열로 이루어진 아미노산 서열을 코딩하는 단리된 핵산.

청구항 26.

서열 확인 번호 46의 뉴클레오티드 서열로 이루어진 단리된 핵산.

청구항 27.

서열 확인 번호 46의 뉴클레오티드 서열의 전장 코딩 서열로 이루어진 단리된 핵산.

청구항 28.

ATCC 기탁번호 203969로 기탁된 서열 확인 번호 46의 뉴클레오티드 서열 DNA의 전장 코딩 서열로 이루어진 단리된 핵산.

청구항 29.

제25항 내지 제28항 중 어느 한 항의 핵산을 포함하는 벡터.

청구항 30.

제29항에 있어서, 상기 벡터로 형질전환된 숙주세포에 의해 인식되는 조절 서열에 작동가능하게 연결된 벡터.

청구항 31.

제29항의 벡터를 포함하는 숙주세포.

청구항 32.

제31항에 있어서, CHO 세포인 숙주세포.

청구항 33.

제31항에 있어서, 대장균(*E. coli*)인 숙주세포.

청구항 34.

제31항에 있어서, 효모 세포인 숙주세포.

청구항 35.

제31항에 있어서, 배큘로바이러스-감염된 곤충 세포인 숙주세포.

청구항 36.

서열 확인 번호 47의 아미노산 서열로 이루어진 PRO4407 폴리펩티드의 발현에 적합한 조건하에서 제31항의 숙주세포를 배양하고, 그 세포 배양물로부터 상기 폴리펩티드를 회수하는 것을 포함하는 상기 폴리펩티드의 제조 방법.

청구항 37.

서열 확인 번호 47의 아미노산 서열로 이루어진 단리된 폴리펩티드.

청구항 38.

ATCC 기탁번호 203969로 기탁된 서열 확인 번호 46의 뉴클레오티드 서열 DNA의 전장 코딩 서열에 의해 코딩되는 아미노산 서열로 이루어진 단리된 폴리펩티드.

청구항 39.

에피토프 태그 서열 또는 면역글로불린의 Fc 영역의 아미노산 서열과 융합된 제37항 또는 제38항의 폴리펩티드를 포함하는 키메라 분자.

청구항 40.

제37항 또는 제38항의 폴리펩티드에 특이적으로 결합하는 모노클로날 항체.

청구항 41.

제40항에 있어서, Fab, Fab', $F(ab')_2$ 또는 F_v, 또는 단일쇄 Fv 항체인 모노클로날 항체.

청구항 42.

(a) 아미노산 서열 1 내지 25의 신호 펩티드가 결합되어 있지 않은, 서열 확인 번호 47의 아미노산 서열로 이루어지는 폴리펩티드를 코딩하는 뉴클레오티드 서열,

(b) 아미노산 서열 1 내지 25의 신호 펩티드가 결합되어 있는, 서열 확인 번호 47의 아미노산 서열로 이루어지는 폴리펩티드의 세포외 도메인을 코딩하는 뉴클레오티드 서열, 또는

(c) 아미노산 서열 1 내지 25의 신호 펩티드가 결합되어 있지 않은, 서열 확인 번호 47의 아미노산 서열로 이루어지는 폴리펩티드의 세포외 도메인을 코딩하는 뉴클레오티드 서열

로 이루어지는 단리된 핵산.

청구항 43.

(a) 아미노산 서열 1 내지 25의 신호 펩티드가 결합되어 있지 않은, 서열 확인 번호 47의 아미노산 서열로 이루어지는 폴리펩티드,

(b) 아미노산 서열 1 내지 25의 신호 펩티드가 결합되어 있는, 서열 확인 번호 47의 아미노산 서열로 이루어지는 폴리펩티드의 세포외 도메인, 또는

(c) 아미노산 서열 1 내지 25의 신호 펩티드가 결합되어 있지 않은, 서열 확 인 번호 47의 아미노산 서열로 이루어지는 폴리펩티드의 세포외 도메인

으로 이루어지는 단리된 폴리펩티드.

도면

도면1

TTCGTGACCCTTGAGAAAAGAGTTGGTGGTAAATGTGCCACGTCTTCTAAGAAGGGGGAGTCCTGAACTTGTCTG
AAGCCCTTGTCCGTAAGCCTTGAACTACGTTCTTAAATCTATGAAGTCGAGGGACCTTTCGCTGCTTTTGTAGGG
ACTTCTTTCCTTGCTTCAGCAAC**ATG**AGGCTTTTCTTGTGGAACGCGGTCTTGACTCTGTTCGTCACTTCTTTGA
TTGGGGCTTTGATCCCTGAACCAGAAGTGAAAATTGAAGTTCTCCAGAAGCCATTCATCTGCCATCGCAAGACCA
AAGGAGGGGATTTGATGTTGGTCCACTATGAAGGCTACTTAGAAAAGGACGGCTCCTTATTTCACTCCACTCACA
AACATAACAATGGTCAGCCCATTTGGTTTACCCTGGGCATCCTGGAGGCTCTCAAAGGTTGGGACCAGGGCTTGA
AAGGAATGTGTGTAGGAGAGAAGAGAAAGCTCATCATTCCTCCTGCTCTGGGCTATGGAAAAGAAGGAAAAGGTA
AAATTCCCCCAGAAAGTACACTGATATTTAATATTGATCTCCTGGAGATTCGAAATGGACCAAGATCCCATGAAT
CATTCCAAGAAATGGATCTTAATGATGACTGGAAACTCTCTAAAGATGAGGTTAAAGCATATTTAAAGAAGGAGT
TTGAAAAACATGGTGCGGTGGTGAATGAAAGTCATCATGATGCTTTGGTGGAGGATATTTTTGATAAAGAAGATG
AAGACAAAGATGGGTTTATATCTGCCAGAGAATTTACATATAAACACGATGAGTTA**TAG**AGATACATCTACCCTT
TTAATATAGCACTCATCTTTCAAGAGAGGGCAGTCATCTTTAAAGAACATTTTATTTTTATACAATGTTCTTTCT
TGCTTTGTTTTTATTTTTATATATTTTTTCTGACTCCTATTTAAAGAACCCCTTAGGTTTCTAAGTACCCATTT
CTTTCTGATAAGTTATTGGGAAGAAAAAGCTAATTGGTCTTTGAATAGAAGACTTCTGGACAATTTTTCACTTTC
ACAGATATGAAGCTTTGTTTTACTTTCTCACTTATAAATTTAAAATGTTGCAACTGGGAATATACCACGACATGA
GACCAGGTTATAGCACAAATTAGCACCCTATATTTCTGCTTCCCTCTATTTTCTCCAAGTTAGAGGTCAACATTT
GAAAAGCCTTTTGCAATAGCCCAAGGCTTGCTATTTTCATGTTATAATGAAATAGTTTATGTGTAACTGGCTCTG
AGTCTCTGCTTGAGGACCAGAGGAAAATGGTTGTTGGACCTGACTTGTTAATGGCTACTGCTTTACTAAGGAGAT
GTGCAATGCTGAAGTTAGAAACAAGGTTAATAGCCAGGCATGGTGGCTCATGCCTGTAATCCCAGCACTTTGGGA
GGCTGAGGCGGGCGGATCACCTGAGGTTGGGAGTTCGAGACCAGCCTGACCAACACGGAGAAACCCTATCTCTAC
TAAAAATACAAAGTAGCCCGGCGTGGTGATGCGTGCCTGTAATCCCAGCTACCCAGGAAGGCTGAGGCGGCAGAATC
ACTTGAACCCGAGGCCGAGGTTGCGGTAAGCCGAGATCACCTNCAGCCTGGACACTCTGTCTCGAAAAAAGAAAA
GAACACGGTTAATACCATATNAATATGTATGCATTGAGACATGCTACCTAGGACTTAAGCTGATGAAGCTTGGCT
CCTAGTGATTGGTGGCCTATTATGATAAATAGGACAAATCATTTATGTGTGAGTTTCTTTGTAATAAAATGTATC
AATATGTTATAGATGAGGTAGAAAGTTATATTTATATTCAATATTTACTTCTTAAGGCTAGCGGAATATCCTTCC
TGGTTCTTTAATGGGTAGTCTATAGTATATTATACTACAATAACATTGTATCATAAGATAAAGTAGTAAACCAGT
CTACATTTTCCCATTTCTGTCTCATCAAAAACTGAAGTTAGCTGGGTGTGGTGGCTCATGCCTGTAATCCCAGCA
CTTTGGGGGCCAAGGAGGGTGGATCACTTGAGATCAGGAGTTCAAGACCAGCCTGGCCAACATGGTGAAACCTTG
TCTCTACTAAAAATACAAAAATTAGCCAGGCGTGGTGGTGCACACCTGTAGTCCCAGCTACTCGGGAGGCTGAGA
CAGGAGATTTGCTTGAACCCGGGAGGCGGAGGTTGCAGTGAGCCAAGATTGTGCCACTGCACTCCAGCCTGGGTG
ACAGAGCAAGACTCCATCTCAAAAAAAAAAAAAAAGAAGCAGACCTACAGCAGCTACTATTGAATAAATACCTATC
CTGGATTTT

도면2

신호 펩티드 :	아미노산 1-20
N-글리코실화 부위 :	아미노산 176-180
소포체 표적화 서열 :	아미노산 208-212
FKBP-형 펩티딜-프롤릴 시스-트랜스 이소머라제 부위 :	아미노산 78-115; 118-132
EF-핸드 칼슘 결합 도메인 :	아미노산 191-204; 184-204; 140-160
S-100/ICaBP형 칼슘 결합 도메인 :	아미노산 183-204

MRLFLWNAVLTLFVTSLIGALIPEPEVKIEVLQKPFICHRKTKGGDLMLVHYEGYLEKDGSLFHSTHKHNNGQPI
WFTLGILEALKGWDQGLKGMCVGEKRKLIIPPALGYGKEGKGKIPPESTLIFNIDLLEIRNGPRSHESFQEMDLN
DDWKLSKDEVKAYLKKEFEKHGAVVNESHHDALVEDIFDKEDEDKDGFISAREFTYKHDEL

도면3

TCCCGGACCCTGCCGCCCTGCCACT**ATG**TCCCGCCGCTCTATGCTGCTTGCCTGGGCTCTCCCCAGCCTCCTTCG
ACTCGGAGCGGCTCAGGAGACAGAAGACCCGGCCTGCTGCAGCCCCATAGTGCCCCGGAACGAGTGGAAGGCCCT
GGCATCAGAGTGCGCCCAGCACCTGAGCCTGCCCTTACGCTATGTGGTGGTATCGCACACGGCGGGCAGCAGCTG
CAACACCCCCGCCTCGTGCCAGCAGCAGGCCCGGAATGTGCAGCACTACCACATGAAGACACTGGGCTGGTGCGA
CGTGGGCTACAACTTCCTGATTGGAGAAGACGGGCTCGTATACGAGGGCCGTGGCTGGAACTTCACGGGTGCCCA
CTCAGGTCACTTATGGAACCCCATGTCCATTGGCATCAGCTTCATGGGCAACTACATGGATCGGGTGCCCACACC
CCAGGCCATCCGGGCAGCCCAGGGTCTACTGGCCTGCGGTGTGGCTCAGGGAGCCCTGAGGTCCAACTATGTGCT
CAAAGGACACCGGGATGTGCAGCGTACACTCTCTCCAGGCAACCAGCTCTACCACCTCATCCAGAATTGGCCACA
CTACCGCTCCCCC**TGA**GGCCCTGCTGATCCGCACCCCATTCCTCCCCTCCCATGGCCAAAAACCCCACTGTCTCC
TTCTCCAATAAAGATGTAGCTC

도면4

신호 펩티드 : 아미노산 1-20

N-글리코실화 부위 : 아미노산 112-116

MSRRSMLLAWALPSLLRLGAAQETEDPACCSPIVPRNEWKALASECAQHLSLPLRYVVVSHTAGSSCNTPASCQQ
QARNVQHYHMKTLGWCDVGYNFLIGEDGLVYEGRGWNFTGAHSGHLWNPMSIGISFMGNYMDRVPTPQAIRAAQG
LLACGVAQGALRSNYVLKGHRDVQRTLSPGNQLYHLIQNWPHYRSP

도면5

GTCGAAGGTTATAAAAGCTTCCAGCCAAACGGCATTGAAGTTGAAGATACAACCTGACAGCACAGCCTGAGATCT
TGGGGATCCCTCAGCCTAACACCCACAGACGTCAGCTGGTGGATTCCCGCTGCATCAAGGCCTACCCACTGTCTCC
ATGCTGGGCTCTCCCTGCCTTCTGTGGCTCCTGGCCGTGACCTTCTTGGTTCCCAGAGCTCAGCCCTTGGCCCCT
CAAGACTTTGAAGAAGAGGAGGCAGATGAGACTGAGACGGCGTGGCCGCCTTTGCCGGCTGTCCCCTGCGACTAC
GACCACTGCCGACACCTGCAGGTGCCCTGCAAGGAGCTACAGAGGGTCGGGCCGGCGGCCTGCCTGTGCCCAGGA
CTCTCCAGCCCCGCCCAGCCGCCCGACCCGCCGCGCATGGGAGAAGTGCGCATTGCGGCCGAAGAGGGCCGCGCA
GTGGTCCACTGGTGTGCCCCCTTCTCCCCGGTCCTCCACTACTGGCTGCTGCTTTGGGACGGCAGCGAGGCTGCG
CAGAAGGGGCCCCCGCTGAACGCTACGGTCCGCAGAGCCGAACTGAAGGGGCTGAAGCCAGGGGGCATTTATGTC
GTTTGCGTAGTGGCCGCTAACGAGGCCGGGGCAAGCCGCGTGCCCCAGGCTGGAGGAGAGGGCCTCGAGGGGGCC
GACATCCCTGCCTTCGGGCCTTGCAGCCGCCTTGCGGTGCCGCCCAACCCCCGCACTCTGGTCCACGCGGCCGTC
GGGGTGGGCACGGCCCTGGCCCTGCTAAGCTGTGCCGCCCTGGTGTGGCACTTCTGCCTGCGCGATCGCTGGGGC
TGCCCGCGCCGAGCCGCCGCCCGAGCCGCAGGGGCGCTC**TGA**AAGGGGCCTGGGGGCATCTCGGGCACAGACAGC
CCCACCTGGGGCGCTCAGCCTGGCCCCCGGGAAAGAGGAAAACCCGCTGCCTCCAGGGAGGGCTGGACGGCGAGC
TGGGAGCCAGCCCCAGGCTCCAGGGCCACGGCGGAGTCATGGTTCTCAGGACTGAGCGCTTGTTTAGGTCCGGTA
CTTGGCGCTTTGTTTCCTGGCTGAGGTCTGGGAAGGAATAGAAAGGGGCCCCCAATTTTTTTTTAAGCGGCCAGA
TAATAAATAATGTAACCTTTGCGGTTAAAAAAAAAAAAAAAAAA

도면6

신호 펩티드 : 아미노산 1-20

막횡단 도메인 : 아미노산 194-220

N-글리코실화 부위 : 아미노산 132-136

MLGSPCLLWLLAVTFLVPRAQPLAPQDFEEEEADETETAWPPLPAVPCDYDHCRHLQVPCKELQRVGPAACLCPG
LSSPAQPPDPPRMGEVRIAAEEGRAVVHWCAPFSPVLHYWLLLWDGSEAAQKGPPLNATVRRAELKGLKPGGIYV
VCVVAANEAGASRVPQAGGEGLEGADIPAFGPCSRLAVPPNPRTLVHAAVGVGTALALLSCAALVWHFCLRDRWG
CPRRAAARAAGAL

도면7

CGCCAAGCATGCAGTAAAGGCTGAAAATCTGGGTCACAGCTGAGGAAGACCTCAGAC**ATG**GAGTCCAGGATGTGG
CCTGCGCTGCTGCTGTCCCACCTCCTCCCTCTCTGGCCACTGCTGTTGCTGCCCCTCCCACCGCCTGCTCAGGGC
TCTTCATCCTCCCCTCGAACCCCACCAGCCCCAGCCCGCCCCCCGTGTGCCAGGGGAGGCCCCTCGGCCCCACGT
CATGTGTGCGTGTGGGAGCGAGCACCTCCACCAAGCCGATCTCCTCGGGTCCCAAGATCACGTCGGCAAGTCCTG
CCTGGCACTGCACCCCCAGCCACCCCATCAGGCTTTGAGGAGGGGCCGCCCTCATCCCAATACCCCTGGGCTATC
GTGTGGGGTCCCACCGTGTCTCGAGAGGATGGAGGGGACCCCAACTCTGCCAATCCCGGATTTCTGGACTATGGT
TTTGCAGCCCCTCATGGGCTCGCAACCCCACACCCCAACTCAGACTCCATGCGAGGTGATGGAGATGGGCTTATC
CTTGGAGAGGCACCTGCCACCCTGCGGCCATTCCTGTTCGGGGGCCGTGGGGAAGGTGTGGACCCCCAGCTCTAT
GTCACAATTACCATCTCCATCATCATTGTTCTCGTGGCCACTGGCATCATCTTCAAGTTCTGCTGGGACCGCAGC
CAGAAGCGACGCAGACCCTCAGGGCAGCAAGGTGCCCTGAGGCAGGAGGAGAGCCAGCAGCCACTGACAGACCTG
TCCCCGGCTGGAGTCACTGTGCTGGGGGCCTTCGGGGACTCACCTACCCCCACCCCTGACCATGAGGAGCCCCGA
GGGGGACCCCGGCCTGGGATGCCCCACCCCAAGGGGGCTCCAGCCTTCCAGTTGAACCGG**TGA**GGGCAGGGGCAA
TGGGATGGGAGGGCAAAGAGGGAAGGCAACTTAGGTCTTCAGAGCTGGGGTGGGGGTGCCCTCTGGATGGGTAGT
GAGGAGGCAGGCGTGGCCTCCCACAGCCCCTGGCCCTCCCAAGGGGGCTGGACCAGCTCCTCTCTGGGAGGCACC
CTTCCTTCTCCCAGTCTCTCAGGATCTGTGTCCTATTCTCTGCTGCCCATAACTCCAACTCTGCCCTCTTTGGTT
TTTTCTCATGCCACCTTGTCTAAGACAACTCTGCCCTCTTAACCTTGATTCCCCCTCTTTGTCTTGAACTTCCCC
TTCTATTCTGGCCTACCCCTTGGTTCCTGACTGTGCCCTTTCCCTCTTCCTCTCAGGATTCCCCTGGTGAATCTG
TGATGCCCCCAATGTTGGGGTGCAGCCAAGCAGGAGGCCAAGGGGCCGGCACAGCCCCCATCCCACTGAGGGTGG
GGCAGCTGTGGGGAGCTGGGGCCACAGGGGCTCCTGGCTCCTGCCCCTTGCACACCACCCGGAACACTCCCCAGC
CCCACGGGCAATCCTATCTGCTCGCCCTCCTGCAGGTGGGGGCCTCACATATCTGTGACTTCGGGTCCCTGTCCC
CACCCTTGTGCACTCACATGAAAGCCTTGCACACTCACCTCCACCTTCACAGGCCATTTGCACACGCTCCTGCAC
CCTCTCCCCGTCCATACCGCTCCGCTCAGCTGACTCTCATGTTCTCTCGTCTCACATTTGCACTCTCTCCTTCCC
ACATTCTGTGCTCAGCTCACTCAGTGGTCAGCGTTTCCTGCACACTTTACCTCTCATGTGCGTTTCCCGGCCTGA
TGTTGTGGTGGTGTGCGGCGTGCTCACTCTCTCCCTCATGAACACCCACCCACCTCGTTTCCGCAGCCCCTGCGT
GCTGCTCCAGAGGTGGGTGGGAGGTGAGCTGGGGGCTCCTTGGGCCCTCATCGGTCATGGTCTCGTCCCATTCCA
CACCATTTGTTTCTCTGTCTCCCCATCCTACTCCAAGGATGCCGGCATCACCCTGAGGGCTCCCCCTTGGGAATG
GGGTAGTGAGGCCCCAGACTTCACCCCCAGCCCACTGCTAAAATCTGTTTTCTGACAGATGGGTTTTGGGGAGTC
GCCTGCTGCACTACATGAGAAAGGGACTCCCATTTGCCCTTCCCTTTCTCCTACAGTCCCTTTTGTCTTGTCTGT
CCTGGCTGTCTGTGTGTGTGCCATTCTCTGGACTTCAGAGCCCCCTGAGCCAGTCCTCCCTTCCCAGCCTCCCTT
TGGGCCTCCCTAACTCCACCTAGGCTGCCAGGGACCGGAGTCAGCTGGTTCAAGGCCATCGGGAGCTCTGCCTCC
AAGTCTACCCTTCCCTTCCCGGACTCCCTCCTGTCCCCTCCTTTCCTCCCTCCTTCCTTCCACTCTCCTTCCTTT
TGCTTCCCTGCCCTTTCCCCCTCCTCAGGTTCTTCCCTCCTTCTCACTGGTTTTTCCACCTTCCTCCTTCCCTTC
TTCCCTGGCTCCTAGGCTGTGATATATATTTTTGTATTATCTCTTTCTTCTTCTTGTGGTGATCATCTTGAATTA
CTGTGGGATGTAAGTTTCAAAATTTTCAAATAAAGCCTTTGCAAGATAA

도면8

신호 펩티드 : 아미노산 1-33

막횡단 도메인 : 아미노산 178-198

cAMP- 및 cGMP-의존성 단백질 키나아제 인산화 부위 :
아미노산 210-214

N-미리스토일화 부위 : 아미노산 117-123; 154-160; 214-220

세포 부착 서열 : 아미노산 149-152

MESRMWPALLLSHLLPLWPLLLLPLPPPAQGSSSSPRTPPAPARPPCARGGPSAPRHVCVWERAPPPSRSPRVPR
SRRQVLPGTAPPATPSGFEEGPPSSQYPWAIVWGPTVSREDGGDPNSANPGFLDYGFAAPHGLATPHPNSDSMRG
DGDGLILGEAPATLRPFLFGGRGEGVDPQLYVTITISIIIVLVATGIIFKFCWDRSQKRRRPSGQQGALRQEESQ
QPLTDLSPAGVTVLGAFGDSPTPTPDHEEPRGGPRPGMPHPKGAPAFQLNR

도면9

AGGGTCCCTTAGCCGGGCGCAGGGCGCGCAGCCCAGGCTGAGATCCGCGGCTTCCGTAGAAGTGAGCATGGCTGG
GCAGCGAGTGCTTCTTCTAGTGGGCTTCCTTCTCCCTGGGGTCCTGCTCTCAGAGGCTGCCAAAATCCTGACAAT
ATCTACAGTAGGTGGAAGCCATTATCTACTGATGGACCGGGTTTCTCAGATTCTTCAAGATCACGGTCATAATGT
CACCATGCTTAACCACAAAAGAGGTCCTTTTATGCCAGATTTTAAAAAGGAAGAAAAATCATATCAAGTTATCAG
TTGGCTTGCACCTGAAGATCATCAAAGAGAATTTAAAAAGAGTTTTGATTTCTTTCTGGAAGAAACTTTAGGTGG
CAGAGGAAAATTTGAAAACTTATTAAATGTTCTAGAATACTTGGCGTTGCAGTGCAGTCATTTTTTAAATAGAAA
GGATATCATGGATTCCTTAAAGAATGAGAACTTCGACATGGTGATAGTTGAAACTTTTGACTACTGTCCTTTCCT
GATTGCTGAGAAGCTTGGGAAGCCATTTGTGGCCATTCTTTCCACTTCATTCGGCTCTTTGGAATTTGGGCTACC
AATCCCCTTGTCTTATGTTCCAGTATTCCGTTCCTTGCTGACTGATCACATGGACTTCTGGGGCCGAGTGAAGAA
TTTTCTGATGTTCTTTAGTTTCTGCAGGAGGCAACAGCACATGCAGTCTACATTTGACAACACCATCAAGGAACA
TTTCACAGAAGGCTCTAGGCCAGTTTTGTCTCATCTTCTACTGAAAGCAGAGTTGTGGTTCATTAACTCTGACTT
TGCCTTTGATTTTGCTCGACCTCTGCTTCCCAACACTGTTTATGTTGGAGGCTTGATGGAAAAACCTATTAAACC
AGTACCACAAGACTTGGAGAACTTCATTGCCAAGTTTGGGGACTCTGGTTTTGTCCTTGTGACCTTGGGCTCCAT
GGTGAACACCTGTCAGAATCCGGAAATCTTCAAGGAGATGAACAATGCCTTTGCTCACCTACCCCAAGGGGTGAT
ATGGAAGTGTCAGTGTTCTCATTGGCCCAAAGATGTCCACCTGGCTGCAAATGTGAAAATTGTGGACTGGCTTCC
TCAGAGTGACCTCCTGGCTCACCCAAGCATCCGTCTGTTTGTCACCCACGGCGGGCAGAATAGCATAATGGAGGC
CATCCAGCATGGTGTGCCCATGGTGGGGATCCCTCTCTTTGGAGACCAGCCTGAAAACATGGTCCGAGTAGAAGC
CAAAAAGTTTGGTGTTTCTATTCAGTTAAAGAAGCTCAAGGCAGAGACATTGGCTCTTAAGATGAAACAAATCAT
GGAAGACAAGAGATACAAGTCCGCGGCAGTGGCTGCCAGTGTCATCCTGCGCTCCCACCCGCTCAGCCCCACACA
GCGGCTGGTGGGCTGGATTGACCACGTCCTCCAGACAGGGGGCGCGACGCACCTCAAGCCCTATGTCTTTCAGCA
GCCCTGGCATGAGCAGTACCTGTTCGACGTTTTTGTGTTTCTGCTGGGGCTCACTCTGGGGACTCTATGGCTTTG
TGGGAAGCTGCTGGGCATGGCTGTCTGGTGGCTGCGTGGGGCCAGAAAGGTGAAGGAGACATAAGGCCAGGTGCA
GCCTTGGCGGGGTCTGTTTGGTGGGCGATGTCACCATTTCTAGGGAGCTTCCCACTAGTTCTGGCAGCCCCATTC
TCTAGTCCTTCTAGTTATCTCCTGTTTTCTTGAAGAACAGGAAAAATGGCCAAAAATCATCCTTTCCACTTGCTA
ATTTTGCTACAAATTCATCCTTACTAGCTCCTGCCTGCTAGCAGAAATCTTTCCAGTCCTCTTGTCCTCCTTTGT
TTGCCATCAGCAAGGGCTATGCTGTGATTCTGTCTCTGAGTGACTTGGACCACTGACCCTCAGATTTCCAGCCTT
AAAATCCACCTTCCTTCTCATGCGCCTCTCCGAATCACACCCTGACTCTTCCAGCCTCCATGTCCAGACCTAGTC
AGCCTCTCTCACTCCTGCCCCTACTATCTATCATGGAATAACATCCAAGAAAGACACCTTGCATATTCTTTCAGT
TTCTGTTTTGTTCTCCCACATATTCTCTTCAATGCTCAGGAAGCCTGCCCTGTGCTTGAGAGTTCAGGGCCGGAC
ACAGGCTCACAGGTCTCCACATTGGGTCCCTGTCTCTGGTGCCCACAGTGAGCTCCTTCTTGGCTGAGCAGGCAT
GGAGACTGTAGGTTTCCAGATTTCCTGAAAAATAAAAGTTTACAGCGTTATCTCTCCCCAACCTCACTAA

도면10

신호 펩티드 : 아미노산 1-19

막횡단 도메인 : 아미노산 483-504

N-글리코실화 부위 : 아미노산 52-56

티로신 키나아제 인산화 부위 : 아미노산 68-75; 425-434

N-미리스토일화 부위 : 아미노산 16-22; 301-307; 370-376; 494-500

루이신 지퍼 패턴 : 아미노산 493-515

UDP-글루코로노실 부위 : 아미노산 241-294

MAGQRVLLLVGFLLPGVLLSEAAKILTISTVGGSHYLLMDRVSQILQDHGHNVTMLNHKRGPFMPDFKKEEKSYQ
VISWLAPEDHQREFKKSFDFFLEETLGGRGKFENLLNVLEYLALQCSHFLNRKDIMDSLKNENFDMVIVETFDYC
PFLIAEKLGKPFVAILSTSFGSLEFGLPIPLSYVPVFRSLLTDHMDFWGRVKNFLMFFSFCRRQQHMQSTFDNTI
KEHFTEGSRPVLSHLLLKAELWFINSDFAFDFARPLLPNTVYVGGLMEKPIKPVPQDLENFIAKFGDSGFVLVTL
GSMVNTCQNPEIFKEMNNAFAHLPQGVIWKCQCSHWPKDVHLAANVKIVDWLPQSDLLAHPSIRLFVTHGGQNSI
MEAIQHGVPMVGIPLFGDQPENMVRVEAKKFGVSIQLKKLKAETLALKMKQIMEDKRYKSAAVAASVILRSHPLS
PTQRLVGWIDHVLQTGGATHLKPYVFQQPWHEQYLFDVFVFLLGLTLGTLWLCGKLLGMAVWWLRGARKVKET

도면11

CGCGGCCGGGCCGCCGGGGTGAGCGTGCCGAGGCGGCTGTGGCGCAGGCTTCCAGCCCCCACC**ATG**CCGTGGCCC
CTGCTGCTGCTGCTGGCCGTGAGTGGGGCCCAGACAACCCGGCCATGCTTCCCCGGGTGCCAATGCGAGGTGGAG
ACCTTCGGCCTTTTCGACAGCTTCAGCCTGACTCGGGTGGATTGTAGCGGCCTGGGCCCCCACATCATGCCGGTG
CCCATCCCTCTGGACACAGCCCACTTGGACCTGTCCTCCAACCGGCTGGAGATGGTGAATGAGTCGGTGTTGGCGGGG
CCGGGCTACACGACGTTGGCTGGCCTGGATCTCAGCCACAACCTGCTCACCAGCATCTCACCCACTGCCTTCTCC
CGCCTTCGCTACCTGGAGTCGCTTGACCTCAGCCACAATGGCCTGACAGCCCTGCCAGCCGAGAGCTTCACCAGC
TCACCCCTGAGCGACGTGAACCTTAGCCACAACCAGCTCCGGGAGGTCTCAGTGTCTGCCTTCACGACGCACAGT
CAGGGCCGGGCACTACACGTGGACCTCTCCCACAACCTCATTCACCGCCTCGTGCCCCACCCCACGAGGGCCGGC
CTGCCTGCGCCCACCATTCAGAGCCTGAACCTGGCCTGGAACCGGCTCCATGCCGTGCCCAACCTCCGAGACTTG
CCCCTGCGCTACCTGAGCCTGGATGGGAACCCTCTAGCTGTCATTGGTCCGGGTGCCTTCGCGGGGCTGGGAGGC
CTTACACACCTGTCTCTGGCCAGCCTGCAGAGGCTCCCTGAGCTGGCGCCCAGTGGCTTCCGTGAGCTACCGGGC
CTGCAGGTCCTGGACCTGTCGGGCAACCCCAAGCTTAACTGGGCAGGAGCTGAGGTGTTTTCAGGCCTGAGCTCC
CTGCAGGAGCTGGACCTTTCGGGCACCAACCTGGTGCCCCTGCCTGAGGCGCTGCTCCTCCACCTCCCGGCACTG
CAGAGCGTCAGCGTGGGCCAGGATGTGCGGTGCCGGCGCCTGGTGCGGGAGGGCACCTACCCCCGGAGGCCTGGC
TCCAGCCCCAAGGTGCCCCTGCACTGCGTAGACACCCGGGAATCTGCTGCCAGGGGCCCCACCATCTTG**TGA**CAA
ATGGTGTGGCCCAGGGCCACATAACAGACTGCTGTCCTGGGCTGCCTCAGGTCCCGAGTAACTTATGTTCAATGT
GCCAACACCAGTGGGGAGCCCGCAGGCCTATGTGGCAGCGTCACCACAGGAGTTGTGGGCCTAGGAGAGGCTTTG
GACCTGGGAGCCACACCTAGGAGCAAAGTCTCACCCCTTTGTCTACGTTGCTTCCCCAAACCATGAGCAGAGGGA
CTTCGATGCCAAACCAGACTCGGGTCCCCTCCTGCTTCCCTTCCCCACTTATCCCCCAAGTGCCTTCCCTCATGC
CTGGGCCGGCCTGACCCGCAATGGGCAGAGGGTGGGTGGACCCCCTGCTGCAGGGCAGAGTTCAGGTCCACTGG
GCTGAGTGTCCCCTTGGGCCCATGGCCCAGTCACTCAGGGGCGAGTTTCTTTTCTAACATAGCCCTTTCTTTGCC
ATGAGGCCATGAGGCCCGCTTCATCCTTTTCTATTTCCCTAGAACCTTAATGGTAGAAGGAATTGCAAAGAATCA
AGTCCACCCTTCTCATGTGACAGATGGGGAAACTGAGGCCTTGAGAAGGAAAAAGGCTAATCTAAGTTCCTGCGG
GCAGTGGCATGACTGGAGCACAGCCTCCTGCCTCCCAGCCCGGACCCAATGCACTTTCTTGTCTCCTCTAATAAG
CCCCACCCTCCCCGCCTGGGCTCCCCTTGCTGCCCTTGCCTGTTCCCCATTAGCACAGGAGTAGCAGCAGCAGGA
CAGGCAAGAGCCTCACAAGTGGGACTCTGGGCCTCTGACCAGCTGTGCGGCATGGGCTAAGTCACTCTGCCCTTC
GGAGCCTCTGGAAGCTTAGGGCACATTGGTTCCAGCCTAGCCAGTTTCTCACCCTGGGTTGGGGTCCCCCAGCAT
CCAGACTGGAAACCTACCCATTTTCCCCTGAGCATCCTCTAGATGCTGCCCCAAGGAGTTGCTGCAGTTCTGGAG
CCTCATCTGGCTGGGATCTCCAAGGGGCCTCCTGGATTCAGTCCCCACTGGCCCTGAGCACGACAGCCCTTCTTA
CCCTCCCAGGAATGCCGTGAAAGGAGACAAGGTCTGCCCGACCCATGTCTATGCTCTACCCCCAGGGCAGCATCT
CAGCTTCCGAACCCTGGGCTGTTTCCTTAGTCTTCATTTTATAAAAGTTGTTGCCTTTTTAACGGAGTGTCACTT
TCAACCGGCCTCCCCTACCCCTGCTGGCCGGGGATGGAGACATGTCATTTGTAAAAGCAGAAAAAGGTTGCATTT
GTTCACTTTTGTAATATTGTCCTGGGCCTGTGTTGGGGTGTTGGGGGAAGCTGGGCATCAGTGGCCACATGGGCA
TCAGGGGCTGGCCCCACAGAGACCCCACAGGGCAGTGAGCTCTGTCTTCCCCCACCTGCCTAGCCCATCATCTAT
CTAACCGGTCCTTGATTTAATAAACACTATAAAAGGTTTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
AAAAAAAAAAA

도면12

신호 펩티드 :	아미노산 1-16
막횡단 도메인 :	아미노산 215-232; 287-304
N-글리코실화 부위 :	아미노산 74-78; 137-141
글리코사미노글리칸 부착 부위 :	아미노산 45-49
티로신 키나아제 인산화 부위 :	아미노산 318-326
N-미리스토일화 부위 :	아미노산 13-19; 32-38; 88-94; 214-220; 223-229
루이신 지퍼 패턴 :	아미노산 284-306

MPWPLLLLLAVSGAQTTRPCFPGCQCEVETFGLFDSFSLTRVDCSGLGPHIMPVPIPLDTAHLDLSSNRLEMVNE
SVLAGPGYTTLAGLDLSHNLLTSISPTAFSRLRYLESLDLSHNGLTALPAESFTSSPLSDVNLSHNQLREVSVSA
FTTHSQGRALHVDLSHNLIHRLVPHPTRAGLPAPTIQSLNLAWNRLHAVPNLRDLPLRYLSLDGNPLAVIGPGAF
AGLGGLTHLSLASLQRLPELAPSGFRELPGLQVLDLSGNPKLNWAGAEVFSGLSSLQELDLSGTNLVPLPEALLL
HLPALQSVSVGQDVRCRRLVREGTYPRRPGSSPKVPLHCVDTRESAARGPTIL

도면13

CAGGACCAGGTCTTCCTACGCTGGAGCAGCGGGGAGACAGCCACC**ATG**CACATCCTCGTGGTCCATGCCATGGTG
ATCCTGCTGACGCTGGGCCCGCCTCGAGCCGACGACAGCGAGTTCCAGGCGCTGCTGGACATCTGGTTTCCGGAG
GAGAAGCCACTGCCCACCGCCTTCCTGGTGGACACATCGGAGGAGGCGCTGCTGCTTCCTGACTGGCTGAAGCTG
CGCATGATCCGTTCTGAGGTGCTCCGCCTGGTGGACGCCGCCCTGCAGGACCTGGAGCCGCAGCAGCTGCTGCTG
TTCGTGCAGTCGTTTGGCATCCCCGTGTCCAGCATGAGCAAACTCCTCCAGTTCCTGGACCAGGCAGTGGCCCAC
GACCCCCAGACTCTGGAGCAGAACATCATGGACAAGAATTACATGGCCCACCTGGTGGAGGTCCAGCATGAGCGC
GGCGCCTCCGGAGGCCAGACTTTCCACTCCTTGCTCACAGCCTCCCTGCCGCCCCGCCGAGACAGCACAGAGGCA
CCCAAACCAAAGAGCAGCCCAGAGCAGCCCATAGGCCAGGGCCGGATTCGGGTGGGGACCCAGCTCCGGGTGCTG
GGCCCTGAGGACGACCTGGCTGGCATGTTCCTCCAGATTTTCCCGCTCAGCCCGGACCCTCGGTGGCAGAGCTCC
AGTCCCCGCCCCGTGGCCCTCGCCCTGCAGCAGGCCCTGGGCCAGGAGCTGGCCCGCGTCGTCCAGGGCAGCCCC
GAGGTGCCGGGCATCACGGTGCGTGTCCTGCAGGCCCTCGCCACCCTGCTCAGCTCCCCACACGGCGGTGCCCTG
GTGATGTCCATGCACCGTAGCCACTTCCTGGCCTGCCCGCTGCTGCGCCAGCTCTGCCAGTACCAGCGCTGTGTG
CCACAGGACACCGGCTTCTCCTCGCTCTTCCTGAAGGTGCTCCTGCAGATGCTGCAGTGGCTGGACAGCCCTGGC
GTGGAGGGCGGGCCCCTGCGGGCACAGCTCAGGATGCTTGCCAGCCAGGCCTCAGCCGGGCGCAGGCTCAGTGAT
GTGCGAGGGGGGCTCCTGCGCCTGGCCGAGGCCCTGGCCTTCCGTCAGGACCTGGAGGTGGTCAGCTCCACCGTC
CGTGCCGTCATCGCCACCCTGAGGTCTGGGGAGCAGTGCAGCGTGGAGCCGGACCTGATCAGCAAAGTCCTCCAG
GGGCTGATCGAGGTGAGGTCCCCCCACCTGGAGGAGCTGCTGACTGCATTCTTCTCTGCCACTGCGGATGCTGCC
TCCCCGTTTCCAGCCTGTAAGCCCGTTGTGGTGGTGAGCTCCCTGCTGCTGCAGGAGGAGGAGCCCCTGGCTGGG
GGGAAGCCGGGTGCGGACGGTGGCAGCCTGGAGGCCGTGCGGCTGGGGCCCTCGTCAGGCCTCCTAGTGGACTGG
CTGGAAATGCTGGACCCCGAGGTGGTCAGCAGCTGCCCCGACCTGCAGCTCAGGCTGCTCTTCTCCCGGAGGAAG
GGCAAAGGTCAGGCCCAGGTGCCCTCGTTCCGTCCCTACCTCCTGACCCTCTTCACGCATCAGTCCAGCTGGCCC
ACACTGCACCAGTGCATCCGAGTCCTGCTGGGCAAGAGCCGGGAACAGAGGTTCGACCCCTCTGCCTCTCTGGAC
TTCCTCTGGGCCTGCATCCATGTTCCTCGCATCTGGCAGGGGCGGGACCAGCGCACCCCGCAGAAGCGGCGGGAG
GAGCTGGTGCTGCGGGTCCAGGGCCCGGAGCTCATCAGCCTGGTGGAGCTGATCCTGGCCGAGGCGGAGACGCGG
AGCCAGGACGGGGACACAGCCGCCTGCAGCCTCATCCAGGCCCGGCTGCCCCTGCTGCTCAGCTGCTGCTGTGGG
GACGATGAGAGTGTCAGGAAGGTGACGGAGCACCTGTCAGGCTGCATCCAGCAGTGGGGAGACAGCGTGCTGGGA
AGGCGCTGCCGAGACCTTCTCCTGCAGCTCTACCTACAGCGGCCGGAGCTGCGGGTGCCCGTGCCTGAGGTCCTA
CTGCACAGCGAAGGGGCTGCCAGCAGCAGCGTCTGCAAGCTGGACGGACTCATCCACCGCTTCATCACGCTCCTT
GCGGACACCAGCGACTCCCGGGCGTTGGAGAACCGAGGGGCGGATGCCAGCATGGCCTGCCGGAAGCTGGCGGTG
GCGCACCCGCTGCTGCTGCTCAGGCACCTGCCCATGATCGCGGCGCTCCTGCACGGCCGCACCCACCTCAACTTC
CAGGAGTTCCGGCAGCAGAACCACCTGAGCTGCTTCCTGCACGTGCTGGGCCTGCTGGAGCTGCTGCAGCCGCAC
GTGTTCCGCAGCGAGCACCAGGGGGCGCTGTGGGACTGCCTTCTGTCCTTCATCCGCCTGCTGCTGAATTACAGG
AAGTCCTCCCGCCATCTGGCTGCCTTCATCAACAAGTTTGTGCAGTTCATCCATAAGTACATTACCTACAATGCC
CCAGCAGCCATCTCCTTCCTGCAGAAGCACGCCGACCCGCTCCACGACCTGTCCTTCGACAACAGTGACCTGGTG
ATGCTGAAATCCCTCCTTGCAGGGCTCAGCCTGCCCAGCAGGGACGACAGGACCGACCGAGGCCTGGACGAAGAG
GGCGAGGAGGAGAGCTCAGCCGGCTCCTTGCCCCTGGTCAGCGTCTCCCTGTTCACCCCTCTGACCGCGGCCGAG
ATGGCCCCCTACATGAAACGGCTTTCCCGGGGCCAAACGGTGGAGGATCTGCTGGAGGTTCTGAGTGACATAGAC
GAGATGTCCCGGCGGAGACCCGAGATCCTGAGCTTCTTCTCGACCAACCTGCAGCGGCTGATGAGCTCGGCCGAG
GAGTGTTGCCGCAACCTCGCCTTCAGCCTGGCCCTGCGCTCCATGCAGAACAGCCCCAGCATTGCAGCCGCTTTC
CTGCCCACGTTCATGTACTGCCTGGGCAGCCAGGACTTTGAGGTGGTGCAGACGGCCCTCCGGAACCTGCCTGAG
TACGCTCTCCTGTGCCAAGAGCACGCGGCTGTGCTGCTCCACCGGGCCTTCCTGGTGGGCATGTACGGCCAGATG
GACCCCAGCGCGCAGATCTCCGAGGCCCTGAGGATCCTGCATATGGAGGCCGTGATG**TGA**GCCTGTGGCAGCCGA
CCCCCCTCCAAGCCCCGGCCCGTCCCGTCCCCGGGGATCCTCGAGGCAAAGCCCAGGAAGCGTGGGCGTTGCTGG
TCTGTCCGAGGAGGTGAGGGCGCCGAGCCCTGAGGCCAGGCAGGCCCAGGAGCAATACTCCGAGCCCTGGGGTGG
CTCCGGGCCGGCCGCTGGCATCAGGGGCCGTCCAGCAAGCCCTCATTCACCTTCTGGGCCACAGCCCTGCCGCGG
AGCGGCGGATCCCCCCGGGCATGGCCTGGGCTGGTTTTGAATGAAACGACCTGAACTGTCAA

도면14

신호 펩티드 :	아미노산 1-16
cAMP- 및 cGMP-의존성 단백질 키나아제 인산화 부위 :	아미노산 154-158; 331-335; 616-620; 785-789; 891-895
N-미리스토일화 부위 :	아미노산 91-97; 136-142; 224-230; 435-441; 439-445, 443-449; 665-671; 698-704
아미드화 부위 :	아미노산 329-333; 634-638
올리고아데닐레이트 합성효소 부위 :	아미노산 96-135

MHILVVHAMVILLTLGPPRADDSEFQALLDIWFPEEKPLPTAFLVDTSEEALLLPDWLKLRMIRSEVLRLVDAAL
QDLEPQQLLLFVQSFGIPVSSMSKLLQFLDQAVAHDPQTLEQNIMDKNYMAHLVEVQHERGASGGQTFHSLLTAS
LPPRRDSTEAPKPKSSPEQPIGQGRIRVGTQLRVLGPEDDLAGMFLQIFPLSPDPRWQSSSPRPVALALQQALGQ
ELARVVQGSPEVPGITVRVLQALATLLSSPHGGALVMSMHRSHFLACPLLRQLCQYQRCVPQDTGFSSLFLKVLL
QMLQWLDSPGVEGGPLRAQLRMLASQASAGRRLSDVRGGLLRLAEALAFRQDLEVVSSTVRAVIATLRSGEQCSV
EPDLISKVLQGLIEVRSPHLEELLTAFFSATADAASPFPACKPVVVVSSLLLQEEEPLAGGKPGADGGSLEAVRL
GPSSGLLVDWLEMLDPEVVSSCPDLQLRLLFSRRKGKGQAQVPSFRPYLLTLFTHQSSWPTLHQCIRVLLGKSRE
QRFDPSASLDFLWACIHVPRIWQGRDQRTPQKRREELVLRVQGPELISLVELILAEAETRSQDGDTAACSLIQAR
LPLLLSCCCGDDESVRKVTEHLSGCIQQWGDSVLGRRCRDLLLQLYLQRPELRVPVPEVLLHSEGAASSSVCKLD
GLIHRFITLLADTSDSRALENRGADASMACRKLAVAHPLLLLRHLPMIAALLHGRTHLNFQEFRQQNHLSCFLHV
LGLLELLQPHVFRSEHQGALWDCLLSFIRLLLNYRKSSRHLAAFINKFVQFIHKYITYNAPAAISFLQKHADPLH
DLSFDNSDLVMLKSLLAGLSLPSRDDRTDRGLDEEGEEESSAGSLPLVSVSLFTPLTAAEMAPYMKRLSRGQTVE
DLLEVLSDIDEMSRRRPEILSFFSTNLQRLMSSAEECCRNLAFSLALRSMQNSPSIAAAFLPTFMYCLGSQDFEV
VQTALRNLPEYALLCQEHAAVLLHRAFLVGMYGQMDPSAQISEALRILHMEAVM

도면15

CCGGGCCATGCAGCCTCGGCCCCGCGGGCGCCCGCCGCGCACCCGAGGAGATGAGGCTCCGCAATGGCACCTTCC
TGACGCTGCTGCTCTTCTGCCTGTGCGCCTTCCTCTCGCTGTCCTGGTACGCGGCACTCAGCGGCCAGAAAGGCG
ACGTTGTGGACGTTTACCAGCGGGAGTTCCTGGCGCTGCGCGATCGGTTGCACGCAGCTGAGCAGGAGAGCCTCA
AGCGCTCCAAGGAGCTCAACCTGGTGCTGGACGAGATCAAGAGGGCCGTGTCAGAAAGGCAGGCGCTGCGAGACG
GAGACGGCAATCGCACCTGGGGCCGCCTAACAGAGGACCCCCGATTGAAGCCGTGGAACGGCTCACACCGGCACG
TGCTGCACCTGCCCACCGTCTTCCATCACCTGCCACACCTGCTGGCCAAGGAGAGCAGTCTGCAGCCCGCGGTGC
GCGTGGGCCAGGGCCGCACCGGAGTGTCGGTGGTGATGGGCATCCCGAGCGTGCGGCGCGAGGTGCACTCGTACC
TGACTGACACTCTGCACTCGCTCATCTCCGAGCTGAGCCCGCAGGAGAAGGAGGACTCGGTCATCGTGGTGCTGA
TCGCCGAGACTGACTCACAGTACACTTCGGCAGTGACAGAGAACATCAAGGCCTTGTTCCCCACGGAGATCCATT
CTGGGCTCCTGGAGGTCATCTCACCCTCCCCCCACTTCTACCCTGACTTCTCCCGCCTCCGAGAGTCCTTTGGGG
ACCCCAAGGAGAGAGTCAGGTGGAGGACCAAACAGAACCTCGATTACTGCTTCCTCATGATGTACGCGCAGTCCA
AAGGCATCTACTACGTGCAGCTGGAGGATGACATCGTGGCCAAGCCCAACTACCTGAGCACCATGAAGAACTTTG
CACTGCAGCAGCCTTCAGAGGACTGGATGATCCTGGAGTTCTCCCAGCTGGGCTTCATTGGTAAGATGTTCAAGT
CGCTGGACCTGAGCCTGATTGTAGAGTTCATTCTCATGTTCTACCGGGACAAGCCCATCGACTGGCTCCTGGACC
ATATTCTGTGGGTGAAAGTCTGCAACCCCGAGAAGGATGCGAAGCACTGTGACCGGCAGAAAGCCAACCTGCGGA
TCCGCTTCAAACCGTCCCTCTTCCAGCACGTGGGCACTCACTCCTCGCTGGCTGGCAAGATCCAGAAACTGAAGG
ACAAAGACTTTGGAAAGCAGGCGCTGCGGAAGGAGCATGTGAACCCGCCAGCAGAGGTGAGCACGAGCCTGAAGA
CATACCAGCACTTCACCCTGGAGAAAGCCTACCTGCGCGAGGACTTCTTCTGGGCCTTCACCCCTGCCGCGGGGG
ACTTCATCCGCTTCCGCTTCTTCCAACCTCTAAGACTGGAGCGGTTCTTCTTCCGCAGTGGGAACATCGAGCACC
CGGAGGACAAGCTCTTCAACACGTCTGTGGAGGTGCTGCCCTTCGACAACCCTCAGTCAGACAAGGAGGCCCTGC
AGGAGGGCCGCACCGCCACCCTCCGGTACCCTCGGAGCCCCGACGGCTACCTCCAGATCGGCTCCTTCTACAAGG
GAGTGGCAGAGGGAGAGGTGGACCCAGCCTTCGGCCCTCTGGAAGCACTGCGCCTCTCGATCCAGACGGACTCCC
CTGTGTGGGTGATTCTGAGCGAGATCTTCCTGAAAAAGGCCGACTAAGCTGCGGGCTTCTGAGGGTACCCTGTGG
CCAGCCCTGAAGCCCACATTTCTGGGGGTGTCGTCACTGCCGTCCCCGGAGGGCCAGATACGGCCCCGCCCAAAG
GGTTCTGCCTGGCGTCGGGCTTGGGCCGGCCTGGGGTCCGCCGCTGGCCCGGAGGCCCTAGGAGCTGGTGCTGCC
CCCGCCCGCCGGGCCGCGGAGGAGGCAGGCGGCCCCCACACTGTGCCTGAGGCCCGGAACCGTTCGCACCCGGCC
TGCCCCAGTCAGGCCGTTTTAGAAGAGCTTTTACTTGGGCGCCCGCCGTCTCTGGCGCGAACACTGGAATGCATA
TACTACTTTATGTGCTGTGTTTTTTATTCTTGGATACATTTGATTTTTTCACGTAAGTCCACATATACTTCTATA
AGAGCGTGACTTGTAATAAAGGGTTAATGAAGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
AAAAAAAAAAA

도면16

신호 펩티드 :	아미노산 1-23
N-글리코실화 부위 :	아미노산 5-9; 87-91; 103-107; 465-469
N-미리스토일화 부위 :	아미노산 6-12; 136-142; 370-376; 509-515

MRLRNGTFLTLLLFCLCAFLSLSWYAALSGQKGDVVDVYQREFLALRDRLHAAEQESLKRSKELNLVLDEIKRAV
SERQALRDGDGNRTWGRLTEDPRLKPWNGSHRHVLHLPTVFHHLPHLLAKESSLQPAVRVGQGRTGVSVVMGIPS
VRREVHSYLTDTLHSLISELSPQEKEDSVIVVLIAETDSQYTSAVTENIKALFPTEIHSGLLEVISPSPHFYPDF
SRLRESFGDPKERVRWRTKQNLDYCFLMMYAQSKGIYYVQLEDDIVAKPNYLSTMKNFALQQPSEDWMILEFSQL
GFIGKMFKSLDLSLIVEFILMFYRDKPIDWLLDHILWVKVCNPEKDAKHCDRQKANLRIRFKPSLFQHVGTHSSL
AGKIQKLKDKDFGKQALRKEHVNPPAEVSTSLKTYQHFTLEKAYLREDFFWAFTPAAGDFIRFRFFQPLRLERFF
FRSGNIEHPEDKLFNTSVEVLPFDNPQSDKEALQEGRTATLRYPRSPDGYLQIGSFYKGVAEGEVDPAFGPLEAL
RLSIQTDSPVWVILSEIFLKKAD

도면17

GCACCGCAGACGGCGCGGATCGCAGGGAGCCGGTCCGCCGCCGGAACGGGAGCCTGGGTGTGCGTGTGGAGTCCG
GACTCGTGGGAGACGATCGCGATGAACACGGTGCTGTCGCGGGCGAACTCACTGTTCGCCTTCTCGCTGAGCGTG
ATGGCGGCGCTCACCTTCGGCTGCTTCATCACCACCGCCTTCAAAGACAGGAGCGTCCCGGTGCGGCTGCACGTC
TCGCGGATCATGCTAAAAAATGTAGAAGATTTCACTGGACCTAGAGAAAGAAGTGATCTGGGATTTATCACATTT
GATATAACTGCTGATCTAGAGAATATATTTGATTGGAATGTTAAGCAGTTGTTTCTTTATTTATCAGCAGAATAT
TCAACAAAAAATAATGCTCTGAACCAAGTTGTCCTATGGGACAAGATTGTTTTGAGAGGTGATAATCCGAAGCTG
CTGCTGAAAGATATGAAAACAAAATATTTTTCTTTGACGATGGAAATGGTCTCAAGGGAAACAGGAATGTCACT
TTGACCCTGTCTTGGAACGTCGTACCAAATGCTGGAATTCTACCTCTTGTGACAGGATCAGGACACGTATCTGTC
CCATTTCCAGATACATATGAAATAACGAAGAGTTATTAAATTATTCTGAATTTGAAACAAAAA

도면18

신호 펩티드 :	아미노산 1-25
막횡단 도메인 :	아미노산 149-164
N-글리코실화 부위 :	아미노산 141-145
N-미리스토일화 부위 :	아미노산 25-31; 135-141
원핵생물 세포막 지질 단백질 지질 부착 부위 :	아미노산 16-27
세포 부착 서열 :	아미노산 112-115
TonB-의존성 수용체 단백질 시그너처 1 :	아미노산 1-21

MNTVLSRANSLFAFSLSVMAALTFGCFITTAFKDRSVPVRLHVSRIMLKNVEDFTGPRERSDLGFITFDITADLE
NIFDWNVKQLFLYLSAEYSTKNNALNQVVLWDKIVLRGDNPKLLLKDMKTKYFFFDDGNGLKGNRNVTLTLSWNV
VPNAGILPLVTGSGHVSVPFPDTYEITKSY

도면19

GACCGGTCCCTCCGGTCCTGGATGTGCGGACTCTGCTGCAGCGAGGGCTGCAGGCCCGCCGGGCGGTGCTCACCG
TGCCCTGGCTGGTGGAGTTTCTCTCCTTTGCTGACCATGTTGTTCCCTTGCTGGAATATTACCGGGACATCTTCA
CTCTCCTGCTGCGCCTGCACCGGAGCTTGGTGTTGTCGCAGGAGAGTGAGGGGAAGATGTGTTTCCTGAACAAGC
TGCTGCTACTTGCTGTCCTGGGCTGGCTTTTCCAGATTCCCACAGTCCCTGAGGACTTGTTCTTTCTGGAAGAGG
GTCCCTCATATGCCTTTGAGGTGGACACAGTAGCCCCAGAGCATGGCTTGGACAATGCGCCTGTGGTGGACCAGC
AGCTGCTCTACACCTGCTGCCCCTACATCGGAGAGCTCCGGAAACTGCTCGCTTCGTGGGTGTCAGGCAGTAGTG
GACGGAGTGGGGGCTTCATGAGGAAAATCACCCCCACCACTACCACCAGCCTGGGAGCCCAGCCTTCCCAGACCA
GCCAGGGGCTGCAGGCACAGCTCGCCCAGGCCTTTTTCCACAACCAGCCGCCCTCCTTGCGCCGGACCGTAGAGT
TCGTGGCAGAAAGAATTGGATCAAACTGTGTCAAACATATCAAGGCTACACTGGTGGCAGATCTGGTGCGCCAGG
CAGAGTCACTTCTCCAAGAGCAGCTGGTGACACAGGGAGAGGAAGGGGGAGACCCAGCCCAGCTGTTGGAGATCT
TGTGTTCCCAGCTGTGCCCTCACGGGGCCCAGGCATTGGCCCTGGGGCGGGAGTTCTGTCAAAGGAAGAGCCCTG
GGGCTGTGCGGGCGCTGCTTCCAGAGGAGACCCCGGCAGCCGTTCTGAGCAGTGCAGAGAACATTGCTGTGGGGC
TTGCAACAGAGAAAGCCTGTGCTTGGCTGTCAGCCAACATCACAGCACTGATCAGGAGGGAGGTGAAAGCAGCAG
TGAGTCGCACACTTCGAGCCCAGGGTCCTGAACCTGCTGCCCGGGGGGAGCGGAGGGGCTGCTCCCGCGCCTGAC
GTGCTCTCCTTGGCCGTGGGGCCACGGGACCCTGACGAGGGAGTCTCCCCAGAGCATCTGGAACAGCTCCTAGGC
CAGCTGGGCCAGACGCTGCGGTGCCGCCAGTTCCTGTGCCCACCTGCTGAGCAGCATCTGGCAAAGTGCTCTGTG
GAGTTAGCTTCCCTCCTCGTTGCAGATCAAATTCCTATCCTAGGGCCCCCGGCACAGTACAGGCTGGAGAGAGGG
CAGGCTCGAAGGCTTCTGCACATGCTGCTTTCCTTGTGGAAGGAAGACTTTCAGGGGCCGGTTCCGCTGCAGCTG
CTGCTGAGCCCAAGAAATGTGGGGCTTCTGGCAGACACAAGGCCAAGGGAGTGGGACTTGCTGCTATTCTTGCTA
CGGGAGCTGGTGGAGAAGGGTCTGATGGGACGGATGGAGATAGAGGCCTGCCTGGGCAGCCTCCACCAGGCCCAG
TGGCCAGGGGACTTTGCTGAAGAATTAGCAACACTGTCTAATCTGTTTCTAGCCGAGCCCCACCTGCCAGAACCC
CAGCTAAGAGCCTGTGAGTTGGTGCAGCCAAACCGGGGCACTGTGCTGGCCCAGAGCTAGGGCTGAGAAGTGGCC
CTGCCTTGGGCATTGCACCAGAACCCTGGACCCCCGCCTCACGAGGAGGCCCAAGTGCCCAATGCAGACCCTCAC
TGGTTGGGGTGTAGCTGGGTCTACAGTCAGACTTCCTGCTCTAAGGGTGTCACTGCCTGGCATCCCACCACGCGA
ATCCTAGAGGAAGGAGAGTTGGCCTGATTTGGGATTATGGCAGAAAAGTCCAGAGATGCCAGTCCTGGAGTAGAA
GAGGTGGTGTTTGTTTATCTCTTGGATACTAAATGAAATGAGGTGTGTGGGCTTGTCAACACAGAATTCAAGCCT
CATTTGCTATCCCAGCATCTCTTAAAACTTTGTAGTCTTGGAATTCATGACAGAGGCAAATGACTCCTGCTTAAC
TTATGAAGAAAGTTAAAACATGAATCTTGGGAGTCTACATTTTCTTATCACCAGGAGCTGGACTGCCATCTCCTT
ATAAATGCCTAACACAGGCCGGGTCTGGTGGCTCATGCCTGTAATCCCAGCACTTTGAGAGGCCTGAGGTCGGCGG
ACTGCCTGAGGTCAGGAATTCAAGACCAGCCTGGCCAACATGGCAAAACCCCATCTCTACTAAAAATAAAAAAAT
TATTAGCTGGGCATGGTGGTGTGTGCCTGTAATCCCAGCTACTCAGGAGGATGAGGCAGGAGACCTGCTTGAACC
TGGAGGTGGAGGTTGCAGTGAGCCGAGGTCGCACCACTGCACTCCAGTCTGGGTAACAGAGCGAGACTTTCTAGA
AAAAGCCTAACAAACAGATAAGGTAGGACTCAACCAACTGAAACCTGACTTTCCCCCTGTACCTTCAGCCCCTGT
GCAGGTAGTAACCTCTTGAGACCTCTCCCTGACCAGGGACCAAGCACAGGGCATTTAGAGCTTTTTAGAATAAAC
TGGTTTTCTTTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGGGCGGCCGCCCTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTT
TTTTTTTTTTTTTTTAAAAAGGGCTTTTATTAAAATTCTCCCCACACGATGGCTCCTGCAATCTGCCACAGCTCT
GGGGCGTGTCCTGTAGGGAAAGGCCCTGTTTTCCCTGAGGCGGGGCTGGGCTTGTCCATGGGTCCGCGGAGCTGG
CCGTGCTTGGCGCCCTGGCGTGTGTCTAGCTGCTTCTTGCCGGGCACAGAGCTGCGGGGTCTGGGGGCACCGGGA
GCTAAGAGCAGGCTCTGGTGCAGGGGTGGAGGCCTGTCTCTTAACCGACACCCTGAGGTGCTCCTGAGATGCTGG
GTCCACCCTGAGTGGCACGGGGAGCAGCTGTGGCCGGTGCTCCTTCYTAGGCCAGTCCTGGGGAAACTAAGCTCG
GGCCCTTCTTTGCAAAGACCGAGGATGGGGTGGGTGTGGGGGACTCATGGGGAATGGCCTGAGGAGCTACGTGTG
AAGAGGGCGCCGGTTTGTTGGCTGCAGCGGCCTGGAGCGCCTCTCTCCTGAGCCTCAGTTTCCCTTTCCGTCTAA
TGAAGAACATGCCGTCTCGGTGTCTCAGGGCTATTAGGACTTGCCCTCAGGAAGTGGCCTTGGACGAGCGTCATG
TTATTTTCACAACTGTCCTGCGACGTTGGCCTGGGCACGTCATGGAATGGCCCATGTCCCTCTGCTGCGTGGACG
TCGCGGTCGGGAGTGCGCAGCCAGAGGCGGGGCCAGACGTGCGCCTGGGGGTGAGGGGAGGCGCCCCGGGAGGGC
CTCACAGGAAGTTGGGCTCCCGCACCACCAGGCAGGGCGGGCTCCCGCCGCCGCCGCCACCACCGTCCAGGG
GCCGGTAGACAAAGTGGAAGTCGCGCTTGGGCTCGCTGCGCAGCAGGTAGCCCTTGATGCAGTGCGGCAGCGCGT
CGTCCGCCAGCTGGAAGCAGCGCCCGTCCACCAGCACGAACAGCCGGTGCGCCT

도면20

신호 펩티드 :	아미노산 1-18
N-글리코실화 부위 :	아미노산 244-248
미소체 C-말단 표적화 신호 :	아미노산 278-282

MCFLNKLLLLAVLGWLFQIPTVPEDLFFLEEGPSYAFEVDTVAPEHGLDNAPVVDQQLLYTCCPYIGELRKLLAS
WVSGSSGRSGGFMRKITPTTTTSLGAQPSQTSQGLQAQLAQAFFHNQPPSLRRTVEFVAERIGSNCVKHIKATLV
ADLVRQAESLLQEQLVTQGEEGGDPAQLLEILCSQLCPHGAQALALGREFCQRKSPGAVRALLPEETPAAVLSSA
ENIAVGLATEKACAWLSANITALIRREVKAAVSRTLRAQGPEPAARGERRGCSRA

도면21

GCCGAGTGGGACAAAGCCTGGGGCTGGGCGGGGGCC**ATG**GCGCTGCCATCCCGAATCCTGCTTTGGAAACTTGTG
CTTCTGCAGAGCTCTGCTGTTCTCCTGCACTCAGCGGTGGAGGAGACGGACGCGGGGCTGTACACCTGCAACCTGCAC
CATCACTACTGCCACCTCTACGAGAGCCTGGCCGTCCGCCTGGAGGTCACCGACGGCCCCCCGGCCACCCCCGCC
TACTGGGACGGCGAGAAGGAGGTGCTGGCGGTGGCGCGCGGCGCACCCGCGCTTCTGACCTGCGTGAACCGCGGG
CACGTGTGGACCGACCGGCACGTGGAGGAGGCTCAACAGGTGGTGCACTGGGACCGGCAGCCGCCCGGGGTCCCG
CACGACCGCGCGGACCGCCTGCTGGACCTCTACGCGTCGGGCGAGCGCCGCGCCTACGGGCCCCTTTTTCTGCGC
GACCGCGTGGCTGTGGGCGCGGATGCCTTTGAGCGCGGTGACTTCTCACTGCGTATCGAGCCGCTGGAGGTCGCC
GACGAGGGCACCTACTCCTGCCACCTGCACCACCATTACTGTGGCCTGCACGAACGCCGCGTCTTCCACCTGACG
GTCGCCGAACCCCACGCGGAGCCGCCCCCCCGGGGCTCTCCGGGCAACGGCTCCAGCCACAGCGGCGCCCCAGGC
CCAGACCCCACACTGGCGCGCGGCCACAACGTCATCAATGTCATCGTCCCCGAGAGCCGAGCCCACTTCTTCCAGCAG
CTGGGCTACGTGCTGGCCACGCTGCTGCTCTTCATCCTGCTACTGGTCACTGTCCTCCTGGCCGCCCGCAGGCGC
CGCGGAGGCTACGAATACTCGGACCAGAAGTCGGGAAAGTCAAAGGGGAAGGATGTTAACTTGGCGGAGTTCGCT
GTGGCTGCAGGGGACCAGATGCTTTACAGGAGTGAGGACATCCAGCTAGATTACAAAAACAACATCCTGAAGGAG
AGGGCGGAGCTGGCCCACAGCCCCCTGCCTGCCAAGTACATCGACCTAGACAAAGGGTTCCGGAAGGAGAACTGC
AAA**TAG**GGAGGCCCTGGGCTCCTGGCTGGGCCAGCAGCTGCACCTCTCCTGTCTGTGCTCCTCGGGGCATCTCCT
GATGCTCCGGGGCTCACCCCCCTTCCAGCGGCTGGTCCCGCTTTCCTGGAATTTGGCCTGGGCGTATGCAGAGGC
CGCCTCCACACCCCTCCCCCAGGGGCTTGGTGGCAGCATAGCCCCCACCCCTGCGGCCTTTGCTCACGGGTGGCC
CTGCCCACCCCTGGCACAACCAAAATCCCACTGATGCCCATCATGCCCTCAGACCCTTCTGGGCTCTGCCCGCTG
GGGGCCTGAAGACATTCCTGGAGGACACTCCCATCAGAACCTGGCAGCCCCAAAACTGGGGTCAGCCTCAGGGCA
GGAGTCCCACTCCTCCAGGGCTCTGCTCGTCCGGGGCTGGGAGATGTTCCTGGAGGAGGACACTCCCATCAGAAC
TTGGCAGCCTTGAAGTTGGGGTCAGCCTCGGCAGGAGTCCCACTCCTCCTGGGGTGCTGCCTGCCACCAAGAGCT
CCCCCACCTGTACCACCATGTGGGACTCCAGGCACCATCTGTTCTCCCCAGGGACCTGCTGACTTGAATGCCAGC
CCTTGCTCCTCTGTGTTGCTTTGGCCACCTGGGGCTGCACCCCCTGCCCTTTCTCTGCCCCATCCCTACCCTAG
CCTTGCTCTCAGCCACCTTGATAGTCACTGGGCTCCCTGTGACTTCTGACCCTGACACCCCTCCCTTGGACTCTG
CCTGGGCTGGAGTCTAGGGCTGGGGCTACATTTGGCTTCTGTACTGGCTGAGGACAGGGGAGGGAGTGAAGTTGG
TTTGGGGTGGCCTGTGTTGCCACTCTCAGCACCCCACATTTGCATCTGCTGGTGGACCTGCCACCATCACAATAA
AGTCCCCATCTGATTTTTAAAAAAAAAAAAAAAA

도면22

신호 펩티드 :	아미노산 1-19
막횡단 도메인 :	아미노산 237-262
N-글리코실화 부위 :	아미노산 205-209
세포 부착 서열 :	아미노산 151-154
코프로포르피리노겐 III 옥시다제 단백질 :	아미노산 115-141

MALPSRILLWKLVLLQSSAVLLHSAVEETDAGLYTCNLHHHYCHLYESLAVRLEVTDGPPATPAYWDGEKEVLAV
ARGAPALLTCVNRGHVWTDRHVEEAQQVVHWDRQPPGVPHDRADRLLDLYASGERRAYGPLFLRDRVAVGADAFE
RGDFSLRIEPLEVADEGTYSCHLHHHYCGLHERRVFHLTVAEPHAEPPPRGSPGNGSSHSGAPGPDPTLARGHNV
INVIVPESRAHFFQQLGYVLATLLLFILLLVTVLLAARRRRGGYEYSDQKSGKSKGKDVNLAEFAVAAGDQMLYR
SEDIQLDYKNNILKERAELAHSPLPAKYIDLDKGFRKENCK

도면23

CAAGCAGGTCATCCCCTTGGTGACCTTCAAAGAGAAGCAGAGAGGGCAGAGGTGGGGGCACAGGGAAAGGGTGA
CCTCTGAGATTCCCCTTTTCCCCAGACTTTGGAAGTGACCCACC**ATG**GGGCTCAGCATCTTTTTGCTCCTGTGT
GTTCTTGGGCTCAGCCAGGCAGCCACACCGAAGATTTTCAATGGCACTGAGTGTGGGCGTAACTCACAGCCGTGG
CAGGTGGGGCTGTTTGAGGGCACCAGCCTGCGCTGCGGGGGTGTCCTTATTGACCACAGGTGGGTCCTCACAGCG
GCTCACTGCAGCGGCAGCAGGTACTGGGTGCGCCTGGGGGAACACAGCCTCAGCCAGCTCGACTGGACCGAGCAG
ATCCGGCACAGCGGCTTCTCTGTGACCCATCCCGGCTACCTGGGAGCCTCGACGAGCCACGAGCACGACCTCCGG
CTGCTGCGGCTGCGCCTGCCCGTCCGCGTAACCAGCAGCGTTCAACCCCTGCCCCTGCCCAATGACTGTGCAACC
GCTGGCACCGAGTGCCACGTCTCAGGCTGGGGCATCACCAACCACCCACGGAACCCATTCCCGGATCTGCTCCAG
TGCCTCAACCTCTCCATCGTCTCCCATGCCACCTGCCATGGTGTGTATCCCGGGAGAATCACGAGCAACATGGTG
TGTGCAGGCGGCGTCCCGGGGCAGGATGCCTGCCAGGGTGATTCTGGGGGCCCCCTGGTGTGTGGGGGAGTCCTT
CAAGGTCTGGTGTCCTGGGGGTCTGTGGGGCCCTGTGGACAAGATGGCATCCCTGGAGTCTACACCTATATTTGC
AAGTATGTGGACTGGATCCGGATGATCATGAGGAACAAC**TGA**CCTGTTTCCTCCACCTCCACCCCCACCCCTTAA
CTTGGGTACCCCTCTGGCCCTCAGAGCACCAATATCTCCTCCATCACTTCCCCTAGCTCCACTCTTGTTGGCCTG
GGAACTTCTTGGAACTTTAACTCCTGCCAGCCCTTCTAAGACCCACGAGCGGGGTGAGAGAAGTGTGCAATAGTC
TGGAATAAATATAAATGAAGGAGGGGCAAAAAAAAAAAAAA

도면24

신호 펩티드 : 아미노산 1-17

N-글리코실화 부위 : 아미노산 24-28; 163-167

세린 프로테아제, 트립신 족, 히스티딘 활성 부위 : 아미노산 58-64

세린 프로테아제, 트립신 족, 히스티딘 단백질 도메인 : 아미노산 47-64; 196-207; 218-242

크링글 도메인 단백질 부위 : 아미노산 47-65; 194-207

애플 도메인 단백질 부위 : 아미노산 220-248

MGLSIFLLLCVLGLSQAATPKIFNGTECGRNSQPWQVGLFEGTSLRCGGVLIDHRWVLTAAHCSGSRYWVRLGEH
SLSQLDWTEQIRHSGFSVTHPGYLGASTSHEHDLRLLRLRLPVRVTSSVQPLPLPNDCATAGTECHVSGWGITNH
PRNPFPDLLQCLNLSIVSHATCHGVYPGRITSNMVCAGGVPGQDACQGDSGGPLVCGGVLQGLVSWGSVGPCGQD
GIPGVYTYICKYVDWIRMIMRNN

도면25

AGCAGCCTCTGCCCGACCCGGCTCGTGCGGACCCCAGGACCGGGCGCGGGACGCGTGCGTCCAGCCTCCGGCGCT
GCGGAGACCCGCGGCTGGGTCCGGGGAGGCCCCAAACCCGCCCCCGCCAGAACCCCGCCCCAAATTCCCACCTCC
TCCAGAAGCCCCGCCCACTCCCGAGCCCCGAGAGCTCCGCGCACCTGGGCGCCATCCGCCCTGGCTCCGCTGCAC
GAGCTCCACGCCCGTACCCCGGCGTCACGCTCAGCCCGCGGTGCTCGCACACCTGAGACTCATCTCGCTTCGACC
CCGCCGCCGCCGCCGCCCGGCATCCTGAGCACGGAGACAGTCTCCAGCTGCCGTTC**ATG**CTTCCTCCCCAGCCTT
CCGCAGCCCACCAGGGAAGGGGCGGTAGGAGTGGCCTTTTACCAAAGGGACCGGCGATGCTCTGCAGGCTGTGCT
GGCTGGTCTCGTACAGCTTGGCTGTGCTGTTGCTCGGCTGCCTGCTCTTCCTGAGGAAGGCGGCCAAGCCCGCAG
GAGACCCCACGGCCCACCAGCCTTTCTGGGCTCCCCCAACACCCCGTCACAGCCGGTGTCCACCCAACCACACAG
TGTCTAGCGCCTCTCTGTCCCTGCCTAGCCGTCACCGTCTCTTCTTGACCTATCGTCACTGCCGAAATTTCTCTA
TCTTGCTGGAGCCTTCAGGCTGTTCCAAGGATACCTTCTTGCTCCTGGCCATCAAGTCACAGCCTGGTCACGTGG
AGCGACGTGCGGCTATCCGCAGCACGTGGGGCAGGGTGGGGGATGGGCTAGGGGCCGGCAGCTGAAGCTGGTGT
TCCTCCTAGGGGTGGCAGGATCCGCTCCCCCAGCCCAGCTGCTGGCCTATGAGAGTAGGGAGTTTGATGACATCC
TCCAGTGGGACTTCACTGAGGACTTCTTCAACCTGACGCTCAAGGAGCTGCACCTGCAGCGCTGGGTGGTGGCTG
CCTGCCCCCAGGCCCATTTCATGCTAAAGGGAGATGACGATGTCTTTGTCCACGTCCCCAACGTGTTAGAGTTCC
TGGATGGCTGGGACCCAGCCCAGGACCTCCTGGTGGGAGATGTCATCCGCCAAGCCCTGCCCAACAGGAACACTA
AGGTCAAATACTTCATCCCACCCTCAATGTACAGGGCCACCCACTACCCACCCTATGCTGGTGGGGGAGGATATG
TCATGTCCAGAGCCACAGTGCGGCGCCTCCAGGCTATCATGGAAGATGCTGAACTCTTCCCCATTGATGATGTCT
TTGTGGGTATGTGCCTGAGGAGGCTGGGGCTGAGCCCTATGCACCATGCTGGCTTCAAGACATTTGGAATCCGGC
GGCCCCTGGACCCCTTAGACCCCTGCCTGTATAGGGGGCTCCTGCTGGTTCACCGCCTCAGCCCCCTCGAGATGT
GGACCATGTGGGCACTGGTGACAGATGAGGGGCTCAAGTGTGCAGCTGGCCCCATACCCCAGCGC**TGA**AGGGTGG
GTTGGGCAACAGCCTGAGAGTGGACTCAGTGTTGATTCTCTATCGTGATGCGAAATTGATGCCTGCTGCTCTACA
GAAAATGCCAACTTGGTTTTTTAACTCCTCTCACCCTGTTAGCTCTGATTAAAAACACTGCAACCCAA

도면26

신호 펩티드 : 아미노산 1-39

II형 막횡단 도메인 : 아미노산 30-49

N-글리코실화 부위 : 아미노산 79-83; 104-108; 192-196

카제인 키나아제 II 인산화 부위 : 아미노산 194-198; 352-356

N-미리스토일화 부위 : 아미노산 14-20; 160-166; 367-373

원핵생물 세포막 지질단백질 지질 부착 부위 : 아미노산 35-46

MLPPQPSAAHQGRGGRSGLLPKGPAMLCRLCWLVSYSLAVLLLGCLLFLRKAAKPAGDPTAHQPFWAPPTPRHSR
CPPNHTVSSASLSLPSRHRLFLTYRHCRNFSILLEPSGCSKDTFLLLAIKSQPGHVERRAAIRSTWGRVGGWARG
RQLKLVFLLGVAGSAPPAQLLAYESREFDDILQWDFTEDFFNLTLKELHLQRWVVAACPQAHFMLKGDDDVFVHV
PNVLEFLDGWDPAQDLLVGDVIRQALPNRNTKVKYFIPPSMYRATHYPPYAGGGGYVMSRATVRRLQAIMEDAEL
FPIDDVFVGMCLRRLGLSPMHHAGFKTFGIRRPLDPLDPCLYRGLLLVHRLSPLEMWTMWALVTDEGLKCAAGPIPQR

도면27

CTCGGCTGGATTTAAGGTTGCCGCTAGCCGCCTGGGAATTTAAGGGACCCACACTACCTTCCCGAAGTTGAAGGC
AAGCGGTGATTGTTTGTAGACGGCGCTTTGTC**ATG**GGACCTGTGCGGTTGGGAATATTGCTTTTCCTTTTTTTGG
CCGTGCACGAGGCTTGGGCTGGGATGTTGAAGGAGGAGGACGATGACACAGAACGCTTGCCCAGCAAATGCGAAG
TGTGTAAGCTGCTGAGCACAGAGCTACAGGCGGAACTGAGTCGCACCGGTCGATCTCGAGAGGTGCTGGAGCTGG
GGCAGGTGCTGGATACAGGCAAGAGGAAGAGACACGTGCCTTACAGCGTTTCAGAGACAAGGCTGGAAGAGGCCT
TAGAGAATTTATGTGAGCGGATCCTGGACTATAGTGTTCACGCTGAGCGCAAGGGCTCACTGAGATATGCCAAGG
GTCAGAGTCAGACCATGGCAACACTGAAAGGCCTAGTGCAGAAGGGGGTGAAGGTGGATCTGGGGATCCCTCTGG
AGCTTTGGGATGAGCCCAGCGTGGAGGTCACATACCTCAAGAAGCAGTGTGAGACCATGTTGGAGGAGTTTGAAG
ACATTGTGGGAGACTGGTACTTCCACCATCAGGAGCAGCCCCTACAAAATTTTCTCTGTGAAGGTCATGTGCTCC
CAGCTGCTGAAACTGCATGTCTACAGGAAACTTGGACTGGAAAGGAGATCACAGATGGGGAAGAGAAAACAGAAG
GGGAGGAAGAGCAGGAGGAGGAGGAGGAAGAGGAGGAAGAGGAAGGGGGAGACAAGATGACCAAGACAGGAAGCC
ACCCCAAACTTGACCGAGAAGATCTT**TGA**CCCTTGCCTTTGAGCCCCCAGGAGGGGAAGGGATCATGGAGAGCCC
TCTAAAGCCTGCACTCTCCCTGCTCCACAGCTTTCAGGGTGTGTTTATGAGTGACTCCACCCAAGCTTGTAGCTG
TTCTCTCCCATCTAACCTCAGGCAAGATCCTGGTGAAACAGCATGACATGGCTTCTGGGGTGGAGGGTGGGGGTG
GAGGTCCTGCTCCTAGAGATGAACTCTATCCAGCCCCTTAATTGGCAGGTGTATGTGCTGACAGTACTGAAAGCT
TTCCTCTTTAACTGATCCCACCCCCACCCAAAAGTCAGCAGTGGCACTGGAGCTGTGGGCTTTGGGGAAGTCACT
TAGCTCCTTAAGGTCTGTTTTTAGACCCTTCCAAGGAAGAGGCCAGAACGGACATTCTCTGCGATCTATATACAT
TGCCTGTATCCAGGAGGCTACACACCAGCAAACCGTGAAGGAGAATGGGACACTGGGTCATGGCCTGGAGTTGCT
GATAATTTAGGTGGGATAGATACTTGGTCTACTTAAGCTCAATGTAACCCAGAGCCCACCATATAGTTTTATAGG
TGCTCAACTTTCTATATCGCTATTAAACTTTTTTCTTTTTTTTCTA

도면28

신호 펩티드 :	아미노산 1-21
cAMP- 및 cGMP-의존성 단백질 키나아제 인산화 부위 :	아미노산 106-110
카제인 키나아제 II 인산화 부위 :	아미노산 36-40; 80-84; 84-88; 158-162; 202-206; 207-211; 213-217
N-미리스토일화 부위 :	아미노산 115-121
아미드화 부위 :	아미노산 70-74

MGPVRLGILLFLFLAVHEAWAGMLKEEDDDTERLPSKCEVCKLLSTELQAELSRTGRSREVLELGQVLDTGKRKR
HVPYSVSETRLEEALENLCERILDYSVHAERKGSLRYAKGQSQTMATLKGLVQKGVKVDLGIPLELWDEPSVEVT
YLKKQCETMLEEFEDIVGDWYFHHQEQPLQNFLCEGHVLPAAETACLQETWTGKEITDGEEKTEGEEEQEEEEEE
EEEEGGDKMTKTGSHPKLDREDL

도면29

CGGACGCGTGGGCGCTGAGCCCCGGAGGCCAGGGCGTCCGGGGCTGCGCCACTTCCGAGGGCCGAGCGCTGCCGG
TCCCGGCGGTGCGACACGGCCGGGAGGAGGAGAACAACGCAAGGGGCTCAACCGTCGGTCGCTGGAGCCCCCCC
GGGGCGTGGCCTCCCGCCCCCTCAGCTGGGGAGGGCGGGGCTCGCTGCCCCCTGCTGCCGACTGCGACCCTTACA
GGGGAGGGAGGGCGCAGGCCGCGCGGAG**ATG**AGGAGGAGGCTGCGCCTACGCAGGGACGCATTGCTCACGCTGCT
CCTTGGCGCCTCCCTGGGCCTCTTACTCTATGCGCAGCGCGACGGCGCGGCCCCGACGGCGAGCGCGCCGCGAGG
GCGAGGGAGGGCGGCACCGAGGCCCACCCCCGGACCCCGCGCGTTCCAGTTACCCGACGCGGGTGCAGCCCCGCC
GGCCTACGAAGGGGACACACCGGCGCCGCCCACGCCTACGGGACCCTTTGACTTCGCCCGCTATTTGCGCGCCAA
GGACCAGCGGCGGTTTCCACTGCTCATTAACCAGCCGCACAAGTGCCGCGGCGACGGCGCACCCGGTGGCCGCCC
GGACCTGCTTATTGCTGTCAAGTCGGTGGCAGAGGACTTCGAGCGGCGCCAAGCCGTGCGCCAGACGTGGGGCGC
GGAGGGTCGCGTGCAGGGGGCGCTGGTGCGCCGCGTGTTCTTGCTGGGCGTGCCCAGGGGCGCAGGCTCGGGCGG
GGCCGACGAAGTTGGGGAGGGCGCGCGAACCCACTGGCGCGCCCTGCTGCGGGCCGAGAGCCTTGCGTATGCGGA
CATCCTGCTCTGGGCCTTCGACGACACCTTTTTTAACCTAACGCTCAAGGAGATCCACTTTCTAGCCTGGGCCTC
AGCTTTCTGCCCCGACGTGCGCTTCGTTTTTAAGGGCGACGCAGATGTGTTCGTGAACGTGGGAAATCTCCTGGA
GTTCCTGGCGCCGCGGGACCCGGCGCAAGACCTGCTTGCTGGTGACGTAATTGTGCATGCGCGGCCCATCCGCAC
GCGGGCTAGCAAGTACTACATCCCCGAGGCCGTGTACGGCCTGCCCGCCTATCCGGCCTACGCGGGCGGCGGTGG
CTTTGTGCTTTCCGGGGCCACGCTGCACCGCCTGGCTGGCGCCTGTGCGCAGGTCGAGCTCTTCCCCATCGACGA
CGTCTTTCTGGGCATGTGTCTGCAGCGCCTGCGGCTCACGCCCGAGCCTCACCCTGCCTTCCGCACCTTTGGCAT
CCCCCAGCCTTCAGCCGCGCCGCATTTGAGCACCTTCGACCCCTGCTTTTACCGTGAGCTGGTTGTAGTGCACGG
GCTCTCGGCCGCTGACATCTGGCTTATGTGGCGCCTGCTGCACGGGCCGCATGGGCCAGCCTGTGCGCATCCACA
GCCTGTCGCTGCAGGCCCCTTCCAATGGGACTCC**TAG**CTCCCCACTACAGCCCCAAGCTCCTAACTCAGACCCAG
AATGGAGCCGGTTTCCCAGATTATTGCCGTGTATGTGGTTCTTCCCTGATCACCAGGTGCCTGTCTCCACAGGATCCC
AGGGGATGGGGGTTAAGCTTGGCTCCTGGCGGTCCACCCTGCTGGAACCAGTTGAAACCCGTGTAATGGTGACCC
TTTGAGCGAGCCAAGGCTGGGTGGTAGATGACCATCTCTTGTCCAACAGGTCCCAGAGCAGTGGATATGTCTGGT
CCTCCTAGTAGCACAGAGGTGTGTTCTGGTGTGGTGGCAGGGACTTAGGGAATCCTACCACTCTGCTGGATTTGG
AACCCCCTAGGCTGACGCGGACGTATGCAGAGGCTCTCAAGGCCAGGCCCCACAGGGAGGTGGAGGGGCTCCGGC
CGCCACAGCCTGAATTCATGAACCTGGCAGGCACTTTGCCATAGCTCATCTGAAAACAGATATTATGCTTCCCAC
AACCTCTCCTGGGCCCAGGTGTGGCTGAGCACCAGGGATGGAGCCACACATAAGGGACAAATGAGTGCACGGTCC
TACCTAGTCTTTCCTCACCTCCTGAACTCACACAACAATGCCAGTCTCCCACTGGAGGCTGTATCCCCTCAGAGG
AGCCAAGGAATGTCTTCCCCTGAGATGCCACCACTATTAATTTCCCCATATGCTTCAACCACCCCCTTGCTCAAA
AAACCAATACCCACACTTACCTTAATACAAACATCCCAGCAACAGCACATGGCAGGCCATTGCTGAGGGCACAGG
TGCTTTATTGGAGAGGGGATGTGGGCAGGGGATAAGGAAGGTTCCCCCATTCCAGGAGGATGGGAACAGTCCTGG
CTGCCCCTGACAGTGGGGATATGCAAGGGGCTCTGGCCAGGCCACAGTCCAAATGGGAAGACACCAGTCAGTCAC
AAAAGTCGGGAGCGCCACACAAACCTGGCTATAAGGCCCAGGAACCATATAGGAGCCTGAGACAGGTCCCCTGCA
CATTCATCATTAAACTATACAGGATGAGGCTGTACATGAGTTAATTACAAAAGAGTCATATTTACAAAAATCTGT
ACACACATTTGAAAAACTCACAAAATTGTCATCTATGTATCACAAGTTGCTAGACCCAAAATATTAAAAATGGGA
TAAAATTNNTTTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

도면30

신호 펩티드 : 아미노산 1-27

N-글리코실화 부위 : 아미노산 203-207

카제인 키나아제 II 인산화 부위 : 아미노산 124-128; 205-209; 351-355; 368-372

N-미리스토일화 부위 : 아미노산 18-24; 31-37; 110-116; 157-163; 161-167; 163-169; 366-372

세포 부착 서열 : 아미노산 107-110

```
MRRRLRLRRDALLTLLLGASLGLLLYAQRDGAAPTASAPRGRGRAAPRPTPGPRAFQLPDAGAAPPAYEGDTPAP
PTPTGPFDFARYLRAKDQRRFPLLINQPHKCRGDGAPGGRPDLLIAVKSVAEDFERRQAVRQTWGAEGRVQGALV
RRVFLLGVPRGAGSGGADEVGEGARTHWRALLRAESLAYADILLWAFDDTFFNLTLKEIHFLAWASAFCPDVRFV
FKGDADVFVNVGNLLEFLAPRDPAQDLLAGDVIVHARPIRTRASKYYIPEAVYGLPAYPAYAGGGGFVLSGATLH
RLAGACAQVELFPIDDVFLGMCLQRLRLTPEPHPAFRTFGIPQPSAAPHLSTFDPCFYRELVVVHGLSAADIWLM
WRLLHGPHGPACAHPQPVAAGPFQWDS
```

도면31

```
ATGAAAGTGATAATCAGGCAGCCCAAATGATTGTTAATAAGGATCAAATGAGATCGTGTATGTGGGTCCAATCAA
TTGATTCTACACAAAGGAGCCTGGGGAGGGGCCATGGTGCCAATGCACTTACTGGGGAGACTGGAGAAGCCGCTT
CTCCTCCTGTGCTGCGCCTCCTTCCTACTGGGGCTGGCTTTGCTGGGCATAAAGACGGACATCACCCCCGTTGCT
TATTTCTTTCTCACATTGGGTGGCTTCTTCTTGTTTGCCTATCTCCTGGTCCGGTTTCTGGAATGGGGGCTTCGGTCC
CAGCTCCAATCAATGCAGACTGAGAGCCCAGGGCCCTCAGGCAATGCACGGGACAATGAAGCCTTTGAAGTGCCA
GTCTATGAAGAGGCCGTGGTGGGACTAGAATCCCAGTGCCGCCCCCAAGAGTTGGACCAACCACCCCCCTACAGC
ACTGTTGTGATACCCCCAGCACCTGAGGAGGAACAACCTAGCCATCCAGAGGGGTCCAGGAGAGCCAAACTGGAA
CAGAGGCGAATGGCCTCAGAGGGGTCCATGGCCCAGGAAGGAAGCCCTGGAAGAGCTCCAATCAACCTTCGGCTT
CGGGGACCACGGGCTGTGTCCACTGCTCCTGATCTGCAGAGCTTGGCGGCAGTCCCCACATTAGAGCCTCTGACT
CCACCCCCTGCCTATGATGTCTGCTTTGGTCACCCTGATGATGATAGTGTTTTTTATGAGGACAACTGGGCACCCCC
TTAAATGACTCTCCCAAGATTTCTCTTCTCTCCACACCAGACCTCGTTCATTTGACTAACATTTTCCAGCGCCTA
CTATGTGTCAGAAACAAGTGTTTCTGCCTGGACATCATAAATGGGGACTTGGACCCTGAGGAGAGTCAGGCCACG
GTAAGCCCTTCCCAGCTGAGATATGGGTGGCATAATTTGAGTCTTCTGGCAACATTTGGTGACCTACCCCATATC
CAATATTTCCAGCGTTAGATTGAGGATGAGGTAGGGAGGTGATCCAGAGAAGGCGGAGAAGGAAGAAGTAACCTCTGA
GTGGCGGCTATTGCTTCTGTTCCAGGTGCTGTTCGAGCTGTTAGAACCCTTAGGCTTGACAGCTTTGTGAGTTAT
TATTGAAAAATGAGGATTCCAAGAGTCAGAGGAGTTTGATAATGTGCACGAGGGCACACTGCTAGTAAATAACAT
TAAAATAACTGGAATGAA
```

도면32

신호 펩티드 : 아미노산 1-25

막횡단 도메인 : 아미노산 41-59

카제인 키나아제 II 인산화 부위 : 아미노산 129-133; 173-177

N-미리스토일화 부위 : 아미노산 133-139

```
MVPMHLLGRLEKPLLLLCCASFLLGLALLGIKTDITPVAYFFLTLGGFFLFAYLLVRFLEWGLRSQLQSMQTESP
GPSGNARDNEAFEVPVYEEAVVGLESQCRPQELDQPPPYSTVVIPPAPEEEQPSHPEGSRRAKLEQRRMASEGSM
AQEGSPGRAPINLRLRGPRAVSTAPDLQSLAAVPTLEPLTPPPAYDVCFGHPDDDSVFYEDNWAPP
```

도면33

```
CGGCTCGAGCCCGCCCGGAAGTGCCCGAGGGGCCGCGATGGAGCTGGGGGAGCCGGGCGCTCGGTAGCGCGGCGG
GCAAGGCAGGCGCCATGACCCTGATTGAAGGGGTGGGTGATGAGGTGACCGTCCTTTTCTCGGTGCTTGCCTGCC
TTCTGGTGCTGGCCCTTGCCTGGGTCTCAACGCACACCGCTGAGGGCGGGGACCCACTGCCCCAGCCGTCAGGGA
CCCCAACGCCATCCCAGCCCAGCGCAGCCATGGCAGCTACCGACAGCATGAGAGGGGAGGCCCCAGGGGCAGAGACC
CCCAGCCTGAGACACAGAGGTCAAGCTGCACAGCCAGAGCCCAGCACGGGGTTCACAGCAACACCGCCAGCCCCG
GACTCCCCGCAGGAGCCCCTCGTGCTACGGCTGAAATTCCTCAATGATTCAGAGCAGGTGGCCAGGGCCTGGCCC
CACGACACCATTGGCTCCTTGAAAAGGACCCAGTTTCCCGGCCGGGAACAGCAGGTGCGACTCATCTACCAAGGG
CAGCTGCTAGGCGACGACACCCAGACCCTGGGCAGCCTTCACCTCCCTCCCAACTGCGTTCTCCACTGCCACGTG
TCCACGAGAGTCGGTCCCCCAAATCCCCCCTGCCCGCCGGGGTCCGAGCCCGGCCCCTCCGGGCTGGAAATCGGCAG
CCTGCTGCTGCCCCTGCTGCTCCTGCTGTTGCTGCTGCTCTGGTACTGCCAGATCCAGTACCGGCCCTTCTTTCC
CCTGACCGCCACTCTGGGCCTGGCCGGCTTCACCCTGCTCCTCAGTCTCCTGGCCTTTGCCATGTACCGCCCGTA
GTGCCTCCGCGGGCGCTTGGCAGCGTCGCCGGCCCCTCCGGACCTTGCTCCCCGCGCCGCGGCGGGAGCTGCTGC
CTGCCCAGGCCCGCCTCTCCGGCCTGCCTCTTCCCGCTGCCCTGGAGCCCAGCCCTGCGCCGCAGAGGACTCCCG
GGACTGGCGGAGGCCCCGCCCTGCGACCGCCGGGGCTCGGGGCCACCTCCCGGGGCTGCTGAACCTCAGCCCGCA
CTGGGAGTGGGCTCCTCGGGGTCGGGCATCTGCTGTCGCTGCCTCGGCCCCGGGCAGAGCCGGGCCGCCCCGGGG
GCCCGTCTTAGTGTTCTGCCGGAGGACCCAGCCGCCTCCAATCCCTGACAGCTCCTTGGGCTGAGTTGGGGACGC
CAGGTCGGTGGGAGGCTGGTGAAGGGGAGCGGGGAGGGGCAGAGGAGTTCCCCGGAACCCGTGCAGATTAAAGTA
ACTGTGAAGTTTTAAAAAAAAAAAAAAAAAA
```

도면34

신호 펩티드 : 아미노산 1-31

막횡단 도메인 : 아미노산 11-32; 195-217

N-글리코실화 부위 : 아미노산 111-115

카제인 키나아제 II 인산화 부위 : 아미노산 2-6; 98-102; 191-195

N-미리스토일화 부위 : 아미노산 146-152; 192-198

MTLIEGVGDEVTVLFSVLACLLVLALAWVSTHTAEGGDPLPQPSGTPTPSQPSAAMAATDSMRGEAPGAETPSLR
HRGQAAQPEPSTGFTATPPAPDSPQEPLVLRLKFLNDSEQVARAWPHDTIGSLKRTQFPGREQQVRLIYQGQLLG
DDTQTLGSLHLPPNCVLHCHVSTRVGPPNPPCPPGSEPGPSGLEIGSLLLPLLLLLLLLLWYCQIQYRPFFPLTA
TLGLAGFTLLLSLLAFAMYRP

도면35

TTTCCTCACTGACTATAAAAGAATAGAGAAGGAAGGGCTTCAGTGACCGGCTGCCTGGCTGACTTACAGCAGTCA
GACTCTGACAGGATC**ATG**GCTATGATGGAGGTCCAGGGGGGACCCAGCCTGGGACAGACCTGCGTGCTGATCGTG
ATCTTCACAGTGCTCCTGCAGTCTCTCTGTGTGGCTGTAACTTACGTGTACTTTACCAACGAGCTGAAGCAGATG
CAGGACAAGTACTCCAAAAGTGGCATTGCTTGTTTCTTAAAAGAAGATGACAGTTATTGGGACCCCAATGACGAA
GAGAGTATGAACAGCCCCTGCTGGCAAGTCAAGTGGCAACTCCGTCAGCTCGTTAGAAAGATGATTTTGAGAACC
TCTGAGGAAACCATTTCTACAGTTCAAGAAAAGCAACAAAATATTTCTCCCCTAGTGAGAGAAAGAGGTCCTCAG
AGAGTAGCAGCTCACATAACTGGGACCAGAGGAAGAAGCAACACATTGTCTTCTCCAAACTCCAAGAATGAAAAG
GCTCTGGGCCGCAAAATAAACTCCTGGGAATCATCAAGGAGTGGGCATTCATTCCTGAGCAACTTGCACTTGAGG
AATGGTGAACTGGTCATCCATGAAAAAGGGTTTTACTACATCTATTCCCAAACATACTTTCGATTTCAGGAGGAA
ATAAAAGAAAACACAAAGAACGACAAACAAATGGTCCAATATATTTACAAATACACAAGTTATCCTGACCCTATA
TTGTTGATGAAAAGTGCTAGAAATAGTTGTTGGTCTAAAGATGCAGAATATGGACTCTATTCCATCTATCAAGGG
GGAATATTTGAGCTTAAGGAAAATGACAGAATTTTTGTTTCTGTAACAAATGAGCACTTGATAGACATGGACCAT
GAAGCCAGTTTTTTCGGGGCCTTTTTAGTTGGC**TAA**CTGACCTGGAAAGAAAAAGCAATAACCTCAAAGTGACTATTC
AGTTTTCAGGATGATACACTATGAAGATGTTTCAAAAAATCTGACCAAAACAAACAAACAGAAA

도면36

신호 펩티드 : 아미노산 1-32

티로신 키나아제 인산화 부위 : 아미노산 233-241

아미드화 부위 : 아미노산 147-151

MAMMEVQGGPSLGQTCVLIVIFTVLLQSLCVAVTYVYFTNELKQMQDKYSKSGIACFLKEDDSYWDPNDEESMNS
PCWQVKWQLRQLVRKMILRTSEETISTVQEKQQNISPLVRERGPQRVAAHITGTRGRSNTLSSPNSKNEKALGRK
INSWESSRSGHSFLSNLHLRNGELVIHEKGFYYIYSQTYFRFQEEIKENTKNDKQMVQYIYKYTSYPDPILLMKS
ARNSCWSKDAEYGLYSIYQGGIFELKENDRIFVSVTNEHLIDMDHEASFFGAFLVG

도면37

ATCACTTCTGAGCACGGAGCA**ATG**GCCTCTCGCTGGGCTGTGCAGCTGCTGCTCGTGGCAGCCTGGAGCATGGGC
TGTGGTGAGGCCCTCAAGTGCTACACCTGCAAGGAGCCCATGACCAGTGCTTCCTGCAGGACCATTACCCGCTGC
AAGCCAGAGGACACAGCCTGCATGACCACGCTGGTGACGGTGGAGGCAGAGTACCCCTTCAACCAGAGCCCCGTG
GTGACCCGCTCCTGCTCCAGCTCCTGTGTGGCCACCGACCCCGACAGCATCGGGGCCGCCCACCTGATCTTCTGC
TGCTTCCGAGACCTCTGCAACTCGGAACTC**TGA**ACCCAGGGCGGCAGGGCGGAAGGTGCTCCTCAGGCACCTCCT
CTCTGACGGGGCCTGGCTCCACCTGTGATCACCTCCCCCTGCTTCCTGCTGCTGTGGCACAGCTCACTCATGGGG
TCTGAGGGGAGAGAAGCACACCAGGGGCGCCCTCTGCCTTCCATACCCCACGCTTATAAAACATAACTAAGCCAA
AAAAAAAAAAAAAAAA

도면38

MASRWAVQLLLVAAWSMGCGEALKCYTCKEPMTSASCRTITRCKPEDTACMTTLVTVEAEYPFNQSPVVTRSCSS
SCVATDPDSIGAAHLIFCCFRDLCNSEL

도면39

GCGGCCGCGGAGGGAAGGGGTGGGTCGGTGGGTCTGACAGCGGGTCTGCGTAGGCGGCAGCGTCTGTCCCTCCCA
GCCTCTCGCTCCGCGCC**ATG**GGCGGGCCCCGGGCTCTGCTGGCCGCACTCTGGGCGCTGGAAGCCGCCGGGACCGCC
GCGCTTCGCATCGGAGCCTTCAACATTCAGAGCTTCGGTGACAGCAAAGTGTCGGACCCCGCTTGCGGCAGCATC
ATCGCGAAGATCCTGGCTGGCTATGACCTCGCGCTGGTGCAGGAGGTGCGAGACCCAGACCTCAGCGCCGTGTCC
GCGCTCATGGAGCAGATCAACAGCGTGTCCGAGCACGAGTACAGCTTTGTGAGCAGCCAGCCCCTGGGCCGGGAC
CAGTACAAGGAGATGTACCTGTTCGTGTACAGGAAAGACGCGGTGTCGGTCGTGGACACCTACCTGTACCCAGAC
CCCGAGGACGTCTTCAGCCGCGAGCCCTTCGTGGTCAAGTTCTCGGCCCCCGGCACCGGTGAGCGGGCCCCGCCC
CTCCCCTCCCGCCGAGCTCTGACGCCCCCACCCCTTCCCGCAGCAGCACAGAACCTGGTGCTGATCCCGCTGCAC
GCGGCGCCGCATCAAGCCGTGGCGGAGATCGACGCGCTCTACGACGTGTACCTGGACGTGATCGACAAGTGGGGC
ACCGACGACATGCTGTTCCTGGGCGACTTCAACGCCGACTGCAGCTATGTGCGGGCGCAGGACTGGGCCGCCATC
CGTCTGAGGAGCAGTGAGGTCTTCAAGTGGCTCATCCCTGACAGCGCCGACACCACGGTGGGCAACTCAGACTGC
GCCTACGACCGCATTGTGGCCTGTGGCGCCCGCCTGCGCCGGAGCCTGAAGCCCCAGTCGGCCACCGTGCACGAC
TTCCAGGAGGAATTCGGCCTGGACCAGACTCAGGCTCTTGCCATCAGCGACCACTTTCCAGTGGAGGTGACCCTC
AAGTTCCACCGA**TGA**CTCGAGGCCTGACTGGGGCATGCCACCTGCAGACCCTGGCTCTGAGGAATGGCCCAACAG
TGGCCCCTTCAGGGTGGCAGCCACCCTTCAGTGAGGCCCCAAGGCAGAGTCGGCTGGGCGTGGACCAGGGGCATGGAC
ACGTGATGTGCTGCTCTGTACCTCCGTTCCCCATCTGTGGGACGGGCTGGATC

도면40

MGGPRALLAALWALEAAGTAALRIGAFNIQSFGDSKVSDPACGSIIAKILAGYDLALVQEVRDPDLSAVSALMEQ
INSVSEHEYSFVSSQPLGRDQYKEMYLFVYRKDAVSVVDTYLYPDPEDVFSREPFVVKFSAPGTGERAPPLPSRR
ALTPPPLPAAAQNLVLIPLHAAPHQAVAEIDALYDVYLDVIDKWGTDDMLFLGDFNADCSYVRAQDWAAIRLRSS
EVFKWLIPDSADTTVGNSDCAYDRIVACGARLRRSLKPQSATVHDFQEEFGLDQTQALAISDHFPVEVTLKFHR

<110> Genentech, Inc.

Botstein,David

Goddard,Audrey

Gurney,Austin,L.

Roy,Margaret,Ann

Watanabe,Colin,K

Wood,William,I.

<120> COMPOSITONS AND METHODS FOR THE TREATMENT OF TUMOR

<130> P2831R1PCT

<140> PCT/US99/28551

<141> 1999-12-02

<150> PCT/US99/05028

<151> 1999-03-08

<150> PCT/US99/20111

<151> 1999-09-01

<150> US 60/162,506

<151> 1999-10-29

<150> PCT/US99/28313

<151> 1999-11-30

<150> PCT/US99/28634

<151> 1999-12-01

<160> 124

<210> 1

<211> 2336

<212> DNA

<213> Homo Sapien

<220>

<221> unsure

<222> 1620, 1673

<223> unknown base

<400> 1

ttcgtgaccc ttgagaaaag agttggtggt aaatgtgcca cgtcttctaa 50

gaagggggag tcctgaactt gtctgaagcc cttgtccgta agccttgaac 100

tacgttctta aatctatgaa gtcgagggac ctttcgctgc ttttgtaggg 150

acttctttcc ttgcttcagc aacatgaggc ttttcttgtg gaacgcggtc 200

ttgactctgt tcgtcacttc tttgattggg gctttgatcc ctgaaccaga 250

agtgaaaatt gaagttctcc agaagccatt catctgccat cgcaagacca 300

aaggagggga tttgatgttg gtccactatg aaggctactt agaaaaggac 350 ggctccttat ttcactccac tcacaaacat aacaatggtc agcccatttg 400

gtttaccctg ggcatcctgg aggctctcaa aggttgggac cagggcttga 450

aaggaatgtg tgtaggagag aagagaaagc tcatcattcc tcctgctctg 500

ggctatggaa aagaaggaaa aggtaaaatt cccccagaaa gtacactgat 550

atttaatatt gatctcctgg agattcgaaa tggaccaaga tcccatgaat 600

cattccaaga aatggatctt aatgatgact ggaaactctc taaagatgag 650

gttaaagcat atttaaagaa ggagtttgaa aaacatggtg cggtggtgaa 700

tgaaagtcat catgatgctt tggtggagga tatttttgat aaagaagatg 750

aagacaaaga tgggtttata tctgccagag aatttacata taaacacgat 800

gagttataga gatacatcta cccttttaat atagcactca tctttcaaga 850

gagggcagtc atctttaaag aacattttat ttttatacaa tgttctttct 900

tgctttgttt tttattttta tatatttttt ctgactccta tttaaagaac 950

cccttaggtt tctaagtacc catttctttc tgataagtta ttgggaagaa 1000

aaagctaatt ggtctttgaa tagaagactt ctggacaatt tttcactttc 1050

acagatatga agctttgttt tactttctca cttataaatt taaaatgttg 1100

caactgggaa tataccacga catgagacca ggttatagca caaattagca 1150

ccctatattt ctgcttccct ctattttctc caagttagag gtcaacattt 1200 gaaaagcctt ttgcaatagc ccaaggcttg ctattttcat gttataatga 1250

aatagtttat gtgtaactgg ctctgagtct ctgcttgagg accagaggaa 1300

aatggttgtt ggacctgact tgttaatggc tactgcttta ctaaggagat 1350

gtgcaatgct gaagttagaa acaaggttaa tagccaggca tggtggctca 1400

tgcctgtaat cccagcactt tgggaggctg aggcgggcgg atcacctgag 1450

gttgggagtt cgagaccagc ctgaccaaca cggagaaacc ctatctctac 1500

taaaaataca aagtagcccg gcgtggtgat gcgtgcctgt aatcccagct 1550

acccaggaag gctgaggcgg cagaatcact tgaacccgag gccgaggttg 1600

cggtaagccg agatcacctn cagcctggac actctgtctc gaaaaaagaa 1650

aagaacacgg ttaataccat atnaatatgt atgcattgag acatgctacc 1700

taggacttaa gctgatgaag cttggctcct agtgattggt ggcctattat 1750

gataaatagg acaaatcatt tatgtgtgag tttctttgta ataaaatgta 1800

tcaatatgtt atagatgagg tagaaagtta tatttatatt caatatttac 1850

ttcttaaggc tagcggaata tccttcctgg ttctttaatg ggtagtctat 1900

agtatattat actacaataa cattgtatca taagataaag tagtaaacca 1950

gtctacattt tcccatttct gtctcatcaa aaactgaagt tagctgggtg 2000

tggtggctca tgcctgtaat cccagcactt tgggggccaa ggagggtgga 2050 tcacttgaga tcaggagttc aagaccagcc tggccaacat ggtgaaacct 2100

tgtctctact aaaaatacaa aaattagcca ggcgtggtgg tgcacacctg 2150

tagtcccagc tactcgggag gctgagacag gagatttgct tgaacccggg 2200

aggcggaggt tgcagtgagc caagattgtg ccactgcact ccagcctggg 2250

tgacagagca agactccatc tcaaaaaaaa aaaaaagaag cagacctaca 2300

gcagctacta ttgaataaat acctatcctg gatttt 2336

<210> 2
<211> 211
<212> PRT
<213> Homo Sapien

<400> 2

```
Met Arg Leu Phe Leu Trp Asn Ala Val Leu Thr Leu Phe Val Thr
  1               5                  10                  15

Ser Leu Ile Gly Ala Leu Ile Pro Glu Pro Glu Val Lys Ile Glu
                 20                  25                  30

Val Leu Gln Lys Pro Phe Ile Cys His Arg Lys Thr Lys Gly Gly
                 35                  40                  45

Asp Leu Met Leu Val His Tyr Glu Gly Tyr Leu Glu Lys Asp Gly
                 50                  55                  60

Ser Leu Phe His Ser Thr His Lys His Asn Asn Gly Gln Pro Ile
                 65                  70                  75

Trp Phe Thr Leu Gly Ile Leu Glu Ala Leu Lys Gly Trp Asp Gln
```

80 85 90

Gly Leu Lys Gly Met Cys Val Gly Glu Lys Arg Lys Leu Ile Ile

95 100 105

Pro Pro Ala Leu Gly Tyr Gly Lys Glu Gly Lys Gly Lys Ile Pro

110 115 120

Pro Glu Ser Thr Leu Ile Phe Asn Ile Asp Leu Leu Glu Ile Arg

125 130 135

Asn Gly Pro Arg Ser His Glu Ser Phe Gln Glu Met Asp Leu Asn

140 145 150

Asp Asp Trp Lys Leu Ser Lys Asp Glu Val Lys Ala Tyr Leu Lys

155 160 165

Lys Glu Phe Glu Lys His Gly Ala Val Val Asn Glu Ser His His

170 175 180

Asp Ala Leu Val Glu Asp Ile Phe Asp Lys Glu Asp Glu Asp Lys

185 190 195

Asp Gly Phe Ile Ser Ala Arg Glu Phe Thr Tyr Lys His Asp Glu

200 205 210

Leu

211

<210> 3

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 3

ctttccttgc ttcagcaaca tgaggc 26

<210> 4

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 4

gcccagagca ggaggaatga tgagc 25

<210> 5

<211> 49

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 5

gtggaacgcg gtcttgactc tgttcgtcac ttctttgatt ggggctttg 49

<210> 6

<211> 697

<212> DNA

<213> Homo Sapien

<400> 6

tcccggaccc tgccgccctg ccactatgtc ccgccgctct atgctgcttg 50

cctgggctct ccccagcctc cttcgactcg gagcggctca ggagacagaa 100

gacccggcct gctgcagccc catagtgccc cggaacgagt ggaaggccct 150

ggcatcagag tgcgcccagc acctgagcct gcccttacgc tatgtggtgg 200

tatcgcacac ggcgggcagc agctgcaaca cccccgcctc gtgccagcag 250

caggcccgga atgtgcagca ctaccacatg aagacactgg gctggtgcga 300

cgtgggctac aacttcctga ttggagaaga cgggctcgta tacgagggcc 350

gtggctggaa cttcacgggt gcccactcag gtcacttatg gaaccccatg 400

tccattggca tcagcttcat gggcaactac atggatcggg tgcccacacc 450

ccaggccatc cgggcagccc agggtctact ggcctgcggt gtggctcagg 500

gagccctgag gtccaactat gtgctcaaag gacaccggga tgtgcagcgt 550

acactctctc caggcaacca gctctaccac ctcatccaga attggccaca 600

ctaccgctcc ccctgaggcc ctgctgatcc gcaccccatt cctcccctcc 650

catggccaaa aaccccactg tctccttctc caataaagat gtagctc 697

<210> 7

<211> 196

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 7

Met Ser Arg Arg Ser Met Leu Leu Ala Trp Ala Leu Pro Ser Leu
1   5   10   15

Leu Arg Leu Gly Ala Ala Gln Glu Thr Glu Asp Pro Ala Cys Cys
                20   25   30

Ser Pro Ile Val Pro Arg Asn Glu Trp Lys Ala Leu Ala Ser Glu
                35   40   45

Cys Ala Gln His Leu Ser Leu Pro Leu Arg Tyr Val Val Val Ser
                50   55   60

His Thr Ala Gly Ser Ser Cys Asn Thr Pro Ala Ser Cys Gln Gln
                65   70   75

Gln Ala Arg Asn Val Gln His Tyr His Met Lys Thr Leu Gly Trp
                80   85   90

Cys Asp Val Gly Tyr Asn Phe Leu Ile Gly Glu Asp Gly Leu Val
                95   100   105

Tyr Glu Gly Arg Gly Trp Asn Phe Thr Gly Ala His Ser Gly His
                110   115   120

Leu Trp Asn Pro Met Ser Ile Gly Ile Ser Phe Met Gly Asn Tyr
                125   130   135

Met Asp Arg Val Pro Thr Pro Gln Ala Ile Arg Ala Ala Gln Gly
                140   145   150

Leu Leu Ala Cys Gly Val Ala Gln Gly Ala Leu Arg Ser Asn Tyr
                155   160   165

Val Leu Lys Gly His Arg Asp Val Gln Arg Thr Leu Ser Pro Gly

170 175 180

Asn Gln Leu Tyr His Leu Ile Gln Asn Trp Pro His Tyr Arg Ser

185 190 195

Pro

196

<210> 8

<211> 1170

<212> DNA

<213> Homo Sapien

<400> 8

gtcgaaggtt ataaaagctt ccagccaaac ggcattgaag ttgaagatac 50

aacctgacag cacagcctga gatcttgggg atccctcagc ctaacaccca 100

cagacgtcag ctggtggatt cccgctgcat caaggcctac ccactgtctc 150

catgctgggc tctccctgcc ttctgtggct cctggccgtg accttcttgg 200

ttcccagagc tcagcccttg gcccctcaag actttgaaga agaggaggca 250

gatgagactg agacggcgtg gccgcctttg ccggctgtcc cctgcgacta 300

cgaccactgc cgacacctgc aggtgccctg caaggagcta cagagggtcg 350

ggccggcggc ctgcctgtgc ccaggactct ccagccccgc ccagccgccc 400

gacccgccgc gcatgggaga agtgcgcatt gcggccgaag agggccgcgc 450 agtggtccac tggtgtgccc ccttctcccc ggtcctccac tactggctgc 500

tgctttggga cggcagcgag gctgcgcaga aggggccccc gctgaacgct 550

acggtccgca gagccgaact gaaggggctg aagccagggg gcatttatgt 600

cgtttgcgta gtggccgcta acgaggccgg ggcaagccgc gtgccccagg 650

ctggaggaga gggcctcgag ggggccgaca tccctgcctt cgggccttgc 700

agccgccttg cggtgccgcc caaccccgc actctggtcc acgcggccgt 750

cggggtgggc acggccctgg ccctgctaag ctgtgccgcc ctggtgtggc 800

acttctgcct gcgcgatcgc tggggctgcc cgcgccgagc cgccgcccga 850

gccgcagggg cgctctgaaa ggggcctggg ggcatctcgg gcacagacag 900

ccccacctgg ggcgctcagc ctggcccccg ggaaagagga aaacccgctg 950

cctccaggga gggctggacg gcgagctggg agccagcccc aggctccagg 1000

gccacggcgg agtcatggtt ctcaggactg agcgcttgtt taggtccggt 1050

acttggcgct ttgtttcctg gctgaggtct gggaaggaat agaaaggggc 1100

ccccaatttt tttttaagcg gccagataat aaataatgta acctttgcgg 1150

ttaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1170

<210> 9

<211> 238

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 9

```
Met Leu Gly Ser Pro Cys Leu Leu Trp Leu Leu Ala Val Thr Phe
  1               5                  10                  15

Leu Val Pro Arg Ala Gln Pro Leu Ala Pro Gln Asp Phe Glu Glu
                 20                  25                  30

Glu Glu Ala Asp Glu Thr Glu Thr Ala Trp Pro Pro Leu Pro Ala
                 35                  40                  45

Val Pro Cys Asp Tyr Asp His Cys Arg His Leu Gln Val Pro Cys
                 50                  55                  60

Lys Glu Leu Gln Arg Val Gly Pro Ala Ala Cys Leu Cys Pro Gly
                 65                  70                  75

Leu Ser Ser Pro Ala Gln Pro Pro Asp Pro Pro Arg Met Gly Glu
                 80                  85                  90

Val Arg Ile Ala Ala Glu Glu Gly Arg Ala Val Val His Trp Cys
                 95                 100                 105

Ala Pro Phe Ser Pro Val Leu His Tyr Trp Leu Leu Leu Trp Asp
                110                 115                 120

Gly Ser Glu Ala Ala Gln Lys Gly Pro Pro Leu Asn Ala Thr Val
                125                 130                 135

Arg Arg Ala Glu Leu Lys Gly Leu Lys Pro Gly Gly Ile Tyr Val
                140                 145                 150

Val Cys Val Val Ala Ala Asn Glu Ala Gly Ala Ser Arg Val Pro
                155                 160                 165
```

Gln Ala Gly Gly Glu Gly Leu Glu Gly Ala Asp Ile Pro Ala Phe

170 175 180

Gly Pro Cys Ser Arg Leu Ala Val Pro Pro Asn Pro Arg Thr Leu

185 190 195

Val His Ala Ala Val Gly Val Gly Thr Ala Leu Ala Leu Leu Ser

200 205 210

Cys Ala Ala Leu Val Trp His Phe Cys Leu Arg Asp Arg Trp Gly

215 220 225

Cys Pro Arg Arg Ala Ala Ala Arg Ala Ala Gly Ala Leu

230 235 238

<210> 10

<211> 2524

<212> DNA

<213> Homo Sapien

<400> 10

cgccaagcat gcagtaaagg ctgaaaatct gggtcacagc tgaggaagac 50

ctcagacatg gagtccagga tgtggcctgc gctgctgctg tcccacctcc 100

tccctctctg gccactgctg ttgctgcccc tcccaccgcc tgctcagggc 150

tcttcatcct cccctcgaac cccaccagcc ccagcccgcc ccccgtgtgc 200

caggggaggc ccctcggccc cacgtcatgt gtgcgtgtgg gagcgagcac 250

ctccaccaag ccgatctcct cgggtcccaa gatcacgtcg gcaagtcctg 300 cctggcactg cacccccagc caccccatca ggctttgagg aggggccgcc 350

ctcatcccaa taccccctggg ctatcgtgtg gggtcccacc gtgtctcgag 400

aggatggagg ggaccccaac tctgccaatc ccggatttct ggactatggt 450

tttgcagccc ctcatgggct cgcaacccca cacccccaact cagactccat 500

gcgaggtgat ggagatgggc ttatccttgg agaggcacct gccaccctgc 550

ggccattcct gttcgggggc cgtggggaag gtgtggaccc ccagctctat 600

gtcacaatta ccatctccat catcattgtt ctcgtggcca ctggcatcat 650

cttcaagttc tgctgggacc gcagccagaa gcgacgcaga ccctcagggc 700

agcaaggtgc cctgaggcag gaggagagcc agcagccact gacagacctg 750

tccccggctg gagtcactgt gctgggggcc ttcggggact cacctacccc 800

cacccctgac catgaggagc cccgaggggg accccggcct gggatgcccc 850

accccaaggg ggctccagcc ttccagttga accggtgagg gcaggggcaa 900

tgggatggga gggcaaagag ggaaggcaac ttaggtcttc agagctgggg 950

tgggggtgcc ctctggatgg gtagtgagga ggcaggcgtg gcctcccaca 1000

gcccctggcc ctcccaaggg ggctggacca gctcctctct gggaggcacc 1050

cttccttctc ccagtctctc aggatctgtg tcctattctc tgctgcccat 1100

aactccaact ctgccctctt tggtttttttc tcatgccacc ttgtctaaga 1150 caactctgcc ctcttaacct tgattccccc tctttgtctt gaacttcccc 1200

ttctattctg gcctacccct tggttcctga ctgtgccctt tccctcttcc 1250

tctcaggatt cccctggtga atctgtgatg cccccaatgt tggggtgcag 1300

ccaagcagga ggccaagggg ccggcacagc ccccatccca ctgagggtgg 1350

ggcagctgtg gggagctggg gccacagggg ctcctggctc ctgccccttg 1400

cacaccaccc ggaacactcc ccagccccac gggcaatcct atctgctcgc 1450

cctcctgcag gtgggggcct cacatatctg tgacttcggg tccctgtccc 1500

cacccttgtg cactcacatg aaagccttgc acactcacct ccaccttcac 1550

aggccatttg cacacgctcc tgcaccctct ccccgtccat accgctccgc 1600

tcagctgact ctcatgttct ctcgtctcac atttgcactc tctccttccc 1650

acattctgtg ctcagctcac tcagtggtca gcgtttcctg cacactttac 1700

ctctcatgtg cgtttcccgg cctgatgttg tggtggtgtg cggcgtgctc 1750

actctctccc tcatgaacac ccacccacct cgtttccgca gcccctgcgt 1800

gctgctccag aggtgggtgg gaggtgagct gggggctcct tgggccctca 1850

tcggtcatgg tctcgtccca ttccacacca tttgtttctc tgtctcccca 1900

tcctactcca aggatgccgg catcaccctg agggctcccc cttgggaatg 1950

gggtagtgag gccccagact tcacccccag cccactgcta aaatctgttt 2000 tctgacagat gggttttggg gagtcgcctg ctgcactaca tgagaaaggg 2050

actcccattt gcccttccct ttctcctaca gtcccttttg tcttgtctgt 2100

cctggctgtc tgtgtgtgtg ccattctctg gacttcagag ccccctgagc 2150

cagtcctccc ttcccagcct ccctttgggc ctccctaact ccacctaggc 2200

tgccagggac cggagtcagc tggttcaagg ccatcgggag ctctgcctcc 2250

aagtctaccc ttcccttccc ggactccctc ctgtcccctc ctttcctccc 2300

tccttccttc cactctcctt ccttttgctt ccctgccctt tccccctcct 2350

caggttcttc cctccttctc actggttttt ccaccttcct ccttcccttc 2400

ttccctggct cctaggctgt gatatatatt tttgtattat ctctttcttc 2450

ttcttgtggt gatcatcttg aattactgtg ggatgtaagt ttcaaaattt 2500

tcaaataaag cctttgcaag ataa 2524

<210> 11

<211> 276

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 11

Met Glu Ser Arg Met Trp Pro Ala Leu Leu Leu Ser His Leu Leu
1 5 10 15

Pro Leu Trp Pro Leu Leu Leu Leu Pro Leu Pro Pro Pro Ala Gln
20 25 30

Gly Ser Ser Ser Ser Pro Arg Thr Pro Pro Ala Pro Ala Arg Pro

35 40 45

Pro Cys Ala Arg Gly Gly Pro Ser Ala Pro Arg His Val Cys Val

50 55 60

Trp Glu Arg Ala Pro Pro Pro Ser Arg Ser Pro Arg Val Pro Arg

65 70 75

Ser Arg Arg Gln Val Leu Pro Gly Thr Ala Pro Pro Ala Thr Pro

80 85 90

Ser Gly Phe Glu Glu Gly Pro Pro Ser Ser Gln Tyr Pro Trp Ala

95 100 105

Ile Val Trp Gly Pro Thr Val Ser Arg Glu Asp Gly Gly Asp Pro

110 115 120

Asn Ser Ala Asn Pro Gly Phe Leu Asp Tyr Gly Phe Ala Ala Pro

125 130 135

His Gly Leu Ala Thr Pro His Pro Asn Ser Asp Ser Met Arg Gly

140 145 150

Asp Gly Asp Gly Leu Ile Leu Gly Glu Ala Pro Ala Thr Leu Arg

155 160 165

Pro Phe Leu Phe Gly Gly Arg Gly Glu Gly Val Asp Pro Gln Leu

170 175 180

Tyr Val Thr Ile Thr Ile Ser Ile Ile Ile Val Leu Val Ala Thr

185 190 195

Gly Ile Ile Phe Lys Phe Cys Trp Asp Arg Ser Gln Lys Arg Arg

200 205 210

Arg Pro Ser Gly Gln Gln Gly Ala Leu Arg Gln Glu Glu Ser Gln

215 220 225

Gln Pro Leu Thr Asp Leu Ser Pro Ala Gly Val Thr Val Leu Gly

230 235 240

Ala Phe Gly Asp Ser Pro Thr Pro Thr Pro Asp His Glu Glu Pro

245 250 255

Arg Gly Gly Pro Arg Pro Gly Met Pro His Pro Lys Gly Ala Pro

260 265 270

Ala Phe Gln Leu Asn Arg

275 276

<210> 12
<211> 2320
<212> DNA
<213> Homo Sapien

<400> 12
agggtccctt agccgggcgc agggcgcgca gcccaggctg agatccgcgg 50

cttccgtaga agtgagcatg gctgggcagc gagtgcttct tctagtgggc 100

ttccttctcc ctggggtcct gctctcagag gctgccaaaa tcctgacaat 150

atctacagta ggtggaagcc attatctact gatggaccgg gtttctcaga 200

ttcttcaaga tcacggtcat aatgtcacca tgcttaacca caaaagaggt 250

ccttttatgc cagattttaa aaaggaagaa aaatcatatc aagttatcag 300 ttggcttgca cctgaagatc atcaaagaga atttaaaaag agttttgatt 350

tctttctgga agaaacttta ggtggcagag gaaaatttga aaacttatta 400

aatgttctag aatacttggc gttgcagtgc agtcattttt taaatagaaa 450

ggatatcatg gattccttaa agaatgagaa cttcgacatg gtgatagttg 500

aaacttttga ctactgtcct ttcctgattg ctgagaagct tgggaagcca 550

tttgtggcca ttctttccac ttcattcggc tctttggaat ttgggctacc 600

aatccccttg tcttatgttc cagtattccg ttccttgctg actgatcaca 650

tggacttctg ggccgagtg aagaattttc tgatgttctt tagtttctgc 700

aggaggcaac agcacatgca gtctacattt gacaacacca tcaaggaaca 750

tttcacagaa ggctctaggc cagttttgtc tcatcttcta ctgaaagcag 800

agttgtggtt cattaactct gactttgcct ttgattttgc tcgacctctg 850

cttcccaaca ctgtttatgt tggaggcttg atggaaaaac ctattaaacc 900

agtaccacaa gacttggaga acttcattgc caagtttggg gactctggtt 950

ttgtccttgt gaccttgggc tccatggtga acacctgtca gaatccggaa 1000

atcttcaagg agatgaacaa tgcctttgct cacctacccc aaggggtgat 1050

atggaagtgt cagtgttctc attggcccaa agatgtccac ctggctgcaa 1100

atgtgaaaat tgtggactgg cttcctcaga gtgacctcct ggctcaccca 1150 agcatccgtc tgtttgtcac ccacggcggg cagaatagca taatggaggc 1200

catccagcat ggtgtgccca tggtggggat ccctctcttt ggagaccagc 1250

ctgaaaacat ggtccgagta gaagccaaaa agtttggtgt ttctattcag 1300

ttaaagaagc tcaaggcaga gacattggct cttaagatga aacaaatcat 1350

ggaagacaag agatacaagt ccgcggcagt ggctgccagt gtcatcctgc 1400

gctcccaccc gctcagcccc acacagcggc tggtgggctg gattgaccac 1450

gtcctccaga cagggggcgc gacgcacctc aagccctatg tctttcagca 1500

gccctggcat gagcagtacc tgttcgacgt ttttgtgttt ctgctggggc 1550

tcactctggg gactctatgg ctttgtggga agctgctggg catggctgtc 1600

tggtggctgc gtggggccag aaaggtgaag gagacataag gccaggtgca 1650

gccttggcgg ggtctgtttg gtgggcgatg tcaccatttc tagggagctt 1700

cccactagtt ctggcagccc cattctctag tccttctagt tatctcctgt 1750

tttcttgaag aacaggaaaa atggccaaaa atcatccttt ccacttgcta 1800

attttgctac aaattcatcc ttactagctc ctgcctgcta gcagaaatct 1850

ttccagtcct cttgtcctcc tttgtttgcc atcagcaagg gctatgctgt 1900

gattctgtct ctgagtgact tggaccactg accctcagat ttccagcctt 1950

aaaatccacc ttccttctca tgcgcctctc cgaatcacac cctgactctt 2000 ccagcctcca tgtccagacc tagtcagcct ctctcactcc tgcccctact 2050

atctatcatg gaataacatc caagaaagac accttgcata ttctttcagt 2100

ttctgttttg ttctcccaca tattctcttc aatgctcagg aagcctgccc 2150

tgtgcttgag agttcagggc cggacacagg ctcacaggtc tccacattgg 2200

gtccctgtct ctggtgccca cagtgagctc cttcttggct gagcaggcat 2250

ggagactgta ggtttccaga tttcctgaaa aataaaagtt tacagcgtta 2300

tctctcccca acctcactaa 2320

<210> 13
<211> 523
<212> PRT
<213> Homo Sapien

<400> 13
Met Ala Gly Gln Arg Val Leu Leu Leu Val Gly Phe Leu Leu Pro
1 5 10 15

Gly Val Leu Leu Ser Glu Ala Ala Lys Ile Leu Thr Ile Ser Thr
20 25 30

Val Gly Gly Ser His Tyr Leu Leu Met Asp Arg Val Ser Gln Ile
35 40 45

Leu Gln Asp His Gly His Asn Val Thr Met Leu Asn His Lys Arg
50 55 60

Gly Pro Phe Met Pro Asp Phe Lys Lys Glu Glu Lys Ser Tyr Gln

65 70 75

Val Ile Ser Trp Leu Ala Pro Glu Asp His Gln Arg Glu Phe Lys

80 85 90

Lys Ser Phe Asp Phe Phe Leu Glu Glu Thr Leu Gly Gly Arg Gly

95 100 105

Lys Phe Glu Asn Leu Leu Asn Val Leu Glu Tyr Leu Ala Leu Gln

110 115 120

Cys Ser His Phe Leu Asn Arg Lys Asp Ile Met Asp Ser Leu Lys

125 130 135

Asn Glu Asn Phe Asp Met Val Ile Val Glu Thr Phe Asp Tyr Cys

140 145 150

Pro Phe Leu Ile Ala Glu Lys Leu Gly Lys Pro Phe Val Ala Ile

155 160 165

Leu Ser Thr Ser Phe Gly Ser Leu Glu Phe Gly Leu Pro Ile Pro

170 175 180

Leu Ser Tyr Val Pro Val Phe Arg Ser Leu Leu Thr Asp His Met

185 190 195

Asp Phe Trp Gly Arg Val Lys Asn Phe Leu Met Phe Phe Ser Phe

200 205 210

Cys Arg Arg Gln Gln His Met Gln Ser Thr Phe Asp Asn Thr Ile

215 220 225

Lys Glu His Phe Thr Glu Gly Ser Arg Pro Val Leu Ser His Leu

230 235 240

Leu Leu Lys Ala Glu Leu Trp Phe Ile Asn Ser Asp Phe Ala Phe

245 250 255

Asp Phe Ala Arg Pro Leu Leu Pro Asn Thr Val Tyr Val Gly Gly

260 265 270

Leu Met Glu Lys Pro Ile Lys Pro Val Pro Gln Asp Leu Glu Asn

275 280 285

Phe Ile Ala Lys Phe Gly Asp Ser Gly Phe Val Leu Val Thr Leu

290 295 300

Gly Ser Met Val Asn Thr Cys Gln Asn Pro Glu Ile Phe Lys Glu

305 310 315

Met Asn Asn Ala Phe Ala His Leu Pro Gln Gly Val Ile Trp Lys

320 325 330

Cys Gln Cys Ser His Trp Pro Lys Asp Val His Leu Ala Ala Asn

335 340 345

Val Lys Ile Val Asp Trp Leu Pro Gln Ser Asp Leu Leu Ala His

350 355 360

Pro Ser Ile Arg Leu Phe Val Thr His Gly Gly Gln Asn Ser Ile

365 370 375

Met Glu Ala Ile Gln His Gly Val Pro Met Val Gly Ile Pro Leu

380 385 390

Phe Gly Asp Gln Pro Glu Asn Met Val Arg Val Glu Ala Lys Lys

395 400 405

Phe Gly Val Ser Ile Gln Leu Lys Lys Leu Lys Ala Glu Thr Leu
410 415 420

Ala Leu Lys Met Lys Gln Ile Met Glu Asp Lys Arg Tyr Lys Ser
425 430 435

Ala Ala Val Ala Ala Ser Val Ile Leu Arg Ser His Pro Leu Ser
440 445 450

Pro Thr Gln Arg Leu Val Gly Trp Ile Asp His Val Leu Gln Thr
455 460 465

Gly Gly Ala Thr His Leu Lys Pro Tyr Val Phe Gln Gln Pro Trp
470 475 480

His Glu Gln Tyr Leu Phe Asp Val Phe Val Phe Leu Leu Gly Leu
485 490 495

Thr Leu Gly Thr Leu Trp Leu Cys Gly Lys Leu Leu Gly Met Ala
500 505 510

Val Trp Trp Leu Arg Gly Ala Arg Lys Val Lys Glu Thr
515 520 523

<210> 14
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 14
tgcctttgct cacctacccc aagg 24

<210> 15

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 15

tcaggctggt ctccaaagag aggg 24

<210> 16

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 16

cccaaagatg tccacctggc tgcaaatgtg aaaattgtgg actgg 45

<210> 17

<211> 2639

<212> DNA

<213> Homo Sapien

<400> 17

cgcggccggg ccgccggggt gagcgtgccg aggcggctgt ggcgcaggct 50

tccagccccc accatgccgt ggcccctgct gctgctgctg gccgtgagtg 100 gggcccagac aacccggcca tgcttccccg ggtgccaatg cgaggtggag 150

accttcggcc ttttcgacag cttcagcctg actcgggtgg attgtagcgg 200

cctgggcccc cacatcatgc cggtgcccat ccctctggac acagcccact 250

tggacctgtc ctccaaccgg ctggagatgg tgaatgagtc ggtgttggcg 300

gggccgggct acacgacgtt ggctggcctg gatctcagcc acaacctgct 350

caccagcatc tcacccactg ccttctcccg ccttcgctac ctggagtcgc 400

ttgacctcag ccacaatggc ctgacagccc tgccagccga gagcttcacc 450

agctcacccc tgagcgacgt gaaccttagc cacaaccagc tccgggaggt 500

ctcagtgtct gccttcacga cgcacagtca gggccgggca ctacacgtgg 550

acctctccca caacctcatt caccgcctcg tgccccaccc cacgagggcc 600

ggcctgcctg cgcccaccat tcagagcctg aacctggcct ggaaccggct 650

ccatgccgtg cccaacctcc gagacttgcc cctgcgctac ctgagcctgg 700

atgggaaccc tctagctgtc attggtccgg gtgccttcgc ggggctggga 750

ggccttacac acctgtctct ggccagcctg cagaggctcc ctgagctggc 800

gcccagtggc ttccgtgagc taccgggcct gcaggtcctg gacctgtcgg 850

gcaaccccaa gcttaactgg gcaggagctg aggtgttttc aggcctgagc 900

tccctgcagg agctggacct ttcgggcacc aacctggtgc ccctgcctga 950 ggcgctgctc ctccacctcc cggcactgca gagcgtcagc gtgggccagg 1000

atgtgcggtg ccggcgcctg gtgcgggagg gcacctaccc ccggaggcct 1050

ggctccagcc ccaaggtgcc cctgcactgc gtagacaccc gggaatctgc 1100

tgccaggggc cccaccatct tgtgacaaat ggtgtggccc agggccacat 1150

aacagactgc tgtcctgggc tgcctcaggt cccgagtaac ttatgttcaa 1200

tgtgccaaca ccagtgggga gcccgcaggc ctatgtggca gcgtcaccac 1250

aggagttgtg ggcctaggag aggctttgga cctgggagcc acacctagga 1300

gcaaagtctc accccctttgt ctacgttgct tccccaaacc atgagcagag 1350

ggacttcgat gccaaaccag actcgggtcc cctcctgctt cccttcccca 1400

cttatccccc aagtgccttc cctcatgcct gggccggcct gacccgcaat 1450

gggcagaggg tgggtgggac cccctgctgc agggcagagt tcaggtccac 1500

tgggctgagt gtccccttgg gcccatggcc cagtcactca ggggcgagtt 1550

tcttttctaa catagccctt tctttgccat gaggccatga ggcccgcttc 1600

atccttttct atttccctag aaccttaatg gtagaaggaa ttgcaaagaa 1650

tcaagtccac ccttctcatg tgacagatgg ggaaactgag gccttgagaa 1700

ggaaaaaggc taatctaagt tcctgcgggc agtggcatga ctggagcaca 1750

gcctcctgcc tcccagcccg gacccaatgc actttcttgt ctcctctaat 1800 aagccccacc ctccccgcct gggctcccct tgctgccctt gcctgttccc 1850

cattagcaca ggagtagcag cagcaggaca ggcaagagcc tcacaagtgg 1900

gactctgggc ctctgaccag ctgtgcggca tgggctaagt cactctgccc 1950

ttcggagcct ctggaagctt agggcacatt ggttccagcc tagccagttt 2000

ctcaccctgg gttggggtcc cccagcatcc agactggaaa cctacccatt 2050

ttcccctgag catcctctag atgctgcccc aaggagttgc tgcagttctg 2100

gagcctcatc tggctgggat ctccaagggg cctcctggat tcagtcccca 2150

ctggccctga gcacgacagc ccttcttacc ctcccaggaa tgccgtgaaa 2200

ggagacaagg tctgcccgac ccatgtctat gctctacccc cagggcagca 2250

tctcagcttc cgaaccctgg gctgtttcct tagtcttcat tttataaaag 2300

ttgttgcctt tttaacggag tgtcactttc aaccggcctc ccctacccct 2350

gctggccggg gatggagaca tgtcatttgt aaaagcagaa aaaggttgca 2400

tttgttcact tttgtaatat tgtcctgggc ctgtgttggg gtgttggggg 2450

aagctgggca tcagtggcca catgggcatc aggggctggc cccacagaga 2500

ccccacaggg cagtgagctc tgtcttcccc cacctgccta gcccatcatc 2550

tatctaaccg gtccttgatt taataaacac tataaaaggt ttaaaaaaaa 2600

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaa 2639

<210> 18

<211> 353

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 18

```
Met Pro Trp Pro Leu Leu Leu Leu Leu Ala Val Ser Gly Ala Gln
  1               5                  10                  15

Thr Thr Arg Pro Cys Phe Pro Gly Cys Gln Cys Glu Val Glu Thr
                 20                  25                  30

Phe Gly Leu Phe Asp Ser Phe Ser Leu Thr Arg Val Asp Cys Ser
                 35                  40                  45

Gly Leu Gly Pro His Ile Met Pro Val Pro Ile Pro Leu Asp Thr
                 50                  55                  60

Ala His Leu Asp Leu Ser Ser Asn Arg Leu Glu Met Val Asn Glu
                 65                  70                  75

Ser Val Leu Ala Gly Pro Gly Tyr Thr Thr Leu Ala Gly Leu Asp
                 80                  85                  90

Leu Ser His Asn Leu Leu Thr Ser Ile Ser Pro Thr Ala Phe Ser
                 95                 100                 105

Arg Leu Arg Tyr Leu Glu Ser Leu Asp Leu Ser His Asn Gly Leu
                110                 115                 120

Thr Ala Leu Pro Ala Glu Ser Phe Thr Ser Ser Pro Leu Ser Asp
                125                 130                 135
```

Val Asn Leu Ser His Asn Gln Leu Arg Glu Val Ser Val Ser Ala

140 145 150

Phe Thr Thr His Ser Gln Gly Arg Ala Leu His Val Asp Leu Ser

155 160 165

His Asn Leu Ile His Arg Leu Val Pro His Pro Thr Arg Ala Gly

170 175 180

Leu Pro Ala Pro Thr Ile Gln Ser Leu Asn Leu Ala Trp Asn Arg

185 190 195

Leu His Ala Val Pro Asn Leu Arg Asp Leu Pro Leu Arg Tyr Leu

200 205 210

Ser Leu Asp Gly Asn Pro Leu Ala Val Ile Gly Pro Gly Ala Phe

215 220 225

Ala Gly Leu Gly Gly Leu Thr His Leu Ser Leu Ala Ser Leu Gln

230 235 240

Arg Leu Pro Glu Leu Ala Pro Ser Gly Phe Arg Glu Leu Pro Gly

245 250 255

Leu Gln Val Leu Asp Leu Ser Gly Asn Pro Lys Leu Asn Trp Ala

260 265 270

Gly Ala Glu Val Phe Ser Gly Leu Ser Ser Leu Gln Glu Leu Asp

275 280 285

Leu Ser Gly Thr Asn Leu Val Pro Leu Pro Glu Ala Leu Leu Leu

290 295 300

His Leu Pro Ala Leu Gln Ser Val Ser Val Gly Gln Asp Val Arg

305 310 315

Cys Arg Arg Leu Val Arg Glu Gly Thr Tyr Pro Arg Arg Pro Gly

320 325 330

Ser Ser Pro Lys Val Pro Leu His Cys Val Asp Thr Arg Glu Ser

335 340 345

Ala Ala Arg Gly Pro Thr Ile Leu

350 353

<210> 19

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 19

ccctgccagc cgagagcttc acc 23

<210> 20

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 20

ggttggtgcc cgaaaggtcc agc 23

<210> 21

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 21

caaccccaag cttaactggg caggagctga ggtgttttca ggcc 44

<210> 22

<211> 3437

<212> DNA

<213> Homo Sapien

<400> 22

caggaccagg tcttcctacg ctggagcagc ggggagacag ccaccatgca 50

catcctcgtg gtccatgcca tggtgatcct gctgacgctg ggcccgcctc 100

gagccgacga cagcgagttc caggcgctgc tggacatctg gtttccggag 150

gagaagccac tgcccaccgc cttcctggtg gacacatcgg aggaggcgct 200

gctgcttcct gactggctga agctgcgcat gatccgttct gaggtgctcc 250

gcctggtgga cgccgccctg caggacctgg agccgcagca gctgctgctg 300

ttcgtgcagt cgtttggcat ccccgtgtcc agcatgagca aactcctcca 350

gttcctggac caggcagtgg cccacgaccc ccagactctg gagcagaaca 400

tcatggacaa gaattacatg gcccacctgg tggaggtcca gcatgagcgc 450 ggcgcctccg gaggccagac tttccactcc ttgctcacag cctccctgcc 500

gccccgccga gacagcacag aggcacccaa accaaagagc agcccagagc 550

agcccatagg ccagggccgg attcgggtgg ggacccagct ccgggtgctg 600

ggccctgagg acgacctggc tggcatgttc ctccagattt tcccgctcag 650

cccggaccct cggtggcaga gctccagtcc ccgccccgtg gccctcgccc 700

tgcagcaggc cctgggccag gagctggccc gcgtcgtcca gggcagcccc 750

gaggtgccgg gcatcacggt gcgtgtcctg caggccctcg ccaccctgct 800

cagctcccca cacggcggtg ccctggtgat gtccatgcac cgtagccact 850

tcctggcctg cccgctgctg cgccagctct gccagtacca gcgctgtgtg 900

ccacaggaca ccggcttctc ctcgctcttc ctgaaggtgc tcctgcagat 950

gctgcagtgg ctggacagcc ctggcgtgga gggcgggccc ctgcgggcac 1000

agctcaggat gcttgccagc caggcctcag ccgggcgcag gctcagtgat 1050

gtgcgagggg ggctcctgcg cctggccgag gccctggcct tccgtcagga 1100

cctggaggtg gtcagctcca ccgtccgtgc cgtcatcgcc accctgaggt 1150

ctggggagca gtgcagcgtg gagccggacc tgatcagcaa agtcctccag 1200

gggctgatcg aggtgaggtc cccccacctg gaggagctgc tgactgcatt 1250

cttctctgcc actgcggatg ctgcctcccc gtttccagcc tgtaagcccg 1300 ttgtggtggt gagctccctg ctgctgcagg aggaggagcc cctggctggg 1350

gggaagccgg gtgcggacgg tggcagcctg gaggccgtgc ggctggggcc 1400

ctcgtcaggc ctcctagtgg actggctgga aatgctggac cccgaggtgg 1450

tcagcagctg ccccgacctg cagctcaggc tgctcttctc ccggaggaag 1500

ggcaaaggtc aggcccaggt gccctcgttc cgtccctacc tcctgaccct 1550

cttcacgcat cagtccagct ggcccacact gcaccagtgc atccgagtcc 1600

tgctgggcaa gagccgggaa cagaggttcg acccctctgc ctctctggac 1650

ttcctctggg cctgcatcca tgttcctcgc atctggcagg ggcgggacca 1700

gcgcaccccg cagaagcggc gggaggagct ggtgctgcgg gtccagggcc 1750

cggagctcat cagcctggtg gagctgatcc tggccgaggc ggagacgcgg 1800

agccaggacg gggacacagc cgcctgcagc ctcatccagg cccggctgcc 1850

cctgctgctc agctgctgct gtggggacga tgagagtgtc aggaaggtga 1900

cggagcacct gtcaggctgc atccagcagt ggggagacag cgtgctggga 1950

aggcgctgcc gagaccttct cctgcagctc tacctacagc ggccggagct 2000

gcgggtgccc gtgcctgagg tcctactgca cagcgaaggg gctgccagca 2050

gcagcgtctg caagctggac ggactcatcc accgcttcat cacgctcctt 2100

gcggacacca gcgactcccg ggcgttggag aaccgagggg cggatgccag 2150 catggcctgc cggaagctgg cggtggcgca cccgctgctg ctgctcaggc 2200

acctgcccat gatcgcggcg ctcctgcacg gccgcaccca cctcaacttc 2250

caggagttcc ggcagcagaa ccacctgagc tgcttcctgc acgtgctggg 2300

cctgctggag ctgctgcagc cgcacgtgtt ccgcagcgag caccaggggg 2350

cgctgtggga ctgccttctg tccttcatcc gcctgctgct gaattacagg 2400

aagtcctccc gccatctggc tgccttcatc aacaagtttg tgcagttcat 2450

ccataagtac attacctaca atgccccagc agccatctcc ttcctgcaga 2500

agcacgccga cccgctccac gacctgtcct tcgacaacag tgacctggtg 2550

atgctgaaat ccctccttgc agggctcagc ctgcccagca gggacgacag 2600

gaccgaccga ggcctggacg aagagggcga ggaggagagc tcagccggct 2650

ccttgcccct ggtcagcgtc tccctgttca cccctctgac cgcggccgag 2700

atggccccct acatgaaacg gctttcccgg ggccaaacgg tggaggatct 2750

gctggaggtt ctgagtgaca tagacgagat gtcccggcgg agacccgaga 2800

tcctgagctt cttctcgacc aacctgcagc ggctgatgag ctcggccgag 2850

gagtgttgcc gcaacctcgc cttcagcctg gccctgcgct ccatgcagaa 2900

cagccccagc attgcagccg ctttcctgcc cacgttcatg tactgcctgg 2950

gcagccagga ctttgaggtg gtgcagacgg ccctccggaa cctgcctgag 3000 tacgctctcc tgtgccaaga gcacgcggct gtgctgctcc accgggcctt 3050

cctggtgggc atgtacggcc agatggaccc cagcgcgcag atctccgagg 3100

ccctgaggat cctgcatatg gaggccgtga tgtgagcctg tggcagccga 3150

ccccccctcca agccccggcc cgtcccgtcc ccggggatcc tcgaggcaaa 3200

gcccaggaag cgtgggcgtt gctggtctgt ccgaggaggt gagggcgccg 3250

agccctgagg ccaggcaggc ccaggagcaa tactccgagc cctggggtgg 3300

ctccgggccg gccgctggca tcaggggccg tccagcaagc cctcattcac 3350

cttctgggcc acagccctgc cgcggagcgg cggatccccc cgggcatggc 3400

ctgggctggt tttgaatgaa acgacctgaa ctgtcaa 3437

<210> 23

<211> 1029

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 23

Met His Ile Leu Val Val His Ala Met Val Ile Leu Leu Thr Leu
1 5 10 15

Gly Pro Pro Arg Ala Asp Asp Ser Glu Phe Gln Ala Leu Leu Asp
20 25 30

Ile Trp Phe Pro Glu Glu Lys Pro Leu Pro Thr Ala Phe Leu Val

35 40 45

Asp Thr Ser Glu Glu Ala Leu Leu Leu Pro Asp Trp Leu Lys Leu

50 55 60

Arg Met Ile Arg Ser Glu Val Leu Arg Leu Val Asp Ala Ala Leu

65 70 75

Gln Asp Leu Glu Pro Gln Gln Leu Leu Leu Phe Val Gln Ser Phe

80 85 90

Gly Ile Pro Val Ser Ser Met Ser Lys Leu Leu Gln Phe Leu Asp

95 100 105

Gln Ala Val Ala His Asp Pro Gln Thr Leu Glu Gln Asn Ile Met

110 115 120

Asp Lys Asn Tyr Met Ala His Leu Val Glu Val Gln His Glu Arg

125 130 135

Gly Ala Ser Gly Gly Gln Thr Phe His Ser Leu Leu Thr Ala Ser

140 145 150

Leu Pro Pro Arg Arg Asp Ser Thr Glu Ala Pro Lys Pro Lys Ser

155 160 165

Ser Pro Glu Gln Pro Ile Gly Gln Gly Arg Ile Arg Val Gly Thr

170 175 180

Gln Leu Arg Val Leu Gly Pro Glu Asp Asp Leu Ala Gly Met Phe

185 190 195

Leu Gln Ile Phe Pro Leu Ser Pro Asp Pro Arg Trp Gln Ser Ser

200 205 210

Ser Pro Arg Pro Val Ala Leu Ala Leu Gln Gln Ala Leu Gly Gln

215 220 225

Glu Leu Ala Arg Val Val Gln Gly Ser Pro Glu Val Pro Gly Ile

230 235 240

Thr Val Arg Val Leu Gln Ala Leu Ala Thr Leu Leu Ser Ser Pro

245 250 255

His Gly Gly Ala Leu Val Met Ser Met His Arg Ser His Phe Leu

260 265 270

Ala Cys Pro Leu Leu Arg Gln Leu Cys Gln Tyr Gln Arg Cys Val

275 280 285

Pro Gln Asp Thr Gly Phe Ser Ser Leu Phe Leu Lys Val Leu Leu

290 295 300

Gln Met Leu Gln Trp Leu Asp Ser Pro Gly Val Glu Gly Gly Pro

305 310 315

Leu Arg Ala Gln Leu Arg Met Leu Ala Ser Gln Ala Ser Ala Gly

320 325 330

Arg Arg Leu Ser Asp Val Arg Gly Gly Leu Leu Arg Leu Ala Glu

335 340 345

Ala Leu Ala Phe Arg Gln Asp Leu Glu Val Val Ser Ser Thr Val

350 355 360

Arg Ala Val Ile Ala Thr Leu Arg Ser Gly Glu Gln Cys Ser Val

365 370 375

Glu Pro Asp Leu Ile Ser Lys Val Leu Gln Gly Leu Ile Glu Val

380 385 390

Arg Ser Pro His Leu Glu Glu Leu Leu Thr Ala Phe Phe Ser Ala

395 400 405

Thr Ala Asp Ala Ala Ser Pro Phe Pro Ala Cys Lys Pro Val Val

410 415 420

Val Val Ser Ser Leu Leu Leu Gln Glu Glu Glu Pro Leu Ala Gly

425 430 435

Gly Lys Pro Gly Ala Asp Gly Gly Ser Leu Glu Ala Val Arg Leu

440 445 450

Gly Pro Ser Ser Gly Leu Leu Val Asp Trp Leu Glu Met Leu Asp

455 460 465

Pro Glu Val Val Ser Ser Cys Pro Asp Leu Gln Leu Arg Leu Leu

470 475 480

Phe Ser Arg Arg Lys Gly Lys Gly Gln Ala Gln Val Pro Ser Phe

485 490 495

Arg Pro Tyr Leu Leu Thr Leu Phe Thr His Gln Ser Ser Trp Pro

500 505 510

Thr Leu His Gln Cys Ile Arg Val Leu Leu Gly Lys Ser Arg Glu

515 520 525

Gln Arg Phe Asp Pro Ser Ala Ser Leu Asp Phe Leu Trp Ala Cys

530 535 540

Ile His Val Pro Arg Ile Trp Gln Gly Arg Asp Gln Arg Thr Pro

545 550 555

Gln Lys Arg Arg Glu Glu Leu Val Leu Arg Val Gln Gly Pro Glu

560 565 570

Leu Ile Ser Leu Val Glu Leu Ile Leu Ala Glu Ala Glu Thr Arg

575 580 585

Ser Gln Asp Gly Asp Thr Ala Ala Cys Ser Leu Ile Gln Ala Arg

590 595 600

Leu Pro Leu Leu Leu Ser Cys Cys Cys Gly Asp Asp Glu Ser Val

605 610 615

Arg Lys Val Thr Glu His Leu Ser Gly Cys Ile Gln Gln Trp Gly

620 625 630

Asp Ser Val Leu Gly Arg Arg Cys Arg Asp Leu Leu Leu Gln Leu

635 640 645

Tyr Leu Gln Arg Pro Glu Leu Arg Val Pro Val Pro Glu Val Leu

650 655 660

Leu His Ser Glu Gly Ala Ala Ser Ser Ser Val Cys Lys Leu Asp

665 670 675

Gly Leu Ile His Arg Phe Ile Thr Leu Leu Ala Asp Thr Ser Asp

680 685 690

Ser Arg Ala Leu Glu Asn Arg Gly Ala Asp Ala Ser Met Ala Cys

695 700 705

Arg Lys Leu Ala Val Ala His Pro Leu Leu Leu Leu Arg His Leu

710 715 720

Pro Met Ile Ala Ala Leu Leu His Gly Arg Thr His Leu Asn Phe

725 730 735

Gln Glu Phe Arg Gln Gln Asn His Leu Ser Cys Phe Leu His Val

740 745 750

Leu Gly Leu Leu Glu Leu Leu Gln Pro His Val Phe Arg Ser Glu

755 760 765

His Gln Gly Ala Leu Trp Asp Cys Leu Leu Ser Phe Ile Arg Leu

770 775 780

Leu Leu Asn Tyr Arg Lys Ser Ser Arg His Leu Ala Ala Phe Ile

785 790 795

Asn Lys Phe Val Gln Phe Ile His Lys Tyr Ile Thr Tyr Asn Ala

800 805 810

Pro Ala Ala Ile Ser Phe Leu Gln Lys His Ala Asp Pro Leu His

815 820 825

Asp Leu Ser Phe Asp Asn Ser Asp Leu Val Met Leu Lys Ser Leu

830 835 840

Leu Ala Gly Leu Ser Leu Pro Ser Arg Asp Asp Arg Thr Asp Arg

845 850 855

Gly Leu Asp Glu Glu Gly Glu Glu Glu Ser Ser Ala Gly Ser Leu

860 865 870

Pro Leu Val Ser Val Ser Leu Phe Thr Pro Leu Thr Ala Ala Glu

875 880 885

Met Ala Pro Tyr Met Lys Arg Leu Ser Arg Gly Gln Thr Val Glu

890 895 900

Asp Leu Leu Glu Val Leu Ser Asp Ile Asp Glu Met Ser Arg Arg

905 910 915

Arg Pro Glu Ile Leu Ser Phe Phe Ser Thr Asn Leu Gln Arg Leu

920 925 930

Met Ser Ser Ala Glu Glu Cys Cys Arg Asn Leu Ala Phe Ser Leu

935 940 945

Ala Leu Arg Ser Met Gln Asn Ser Pro Ser Ile Ala Ala Ala Phe

950 955 960

Leu Pro Thr Phe Met Tyr Cys Leu Gly Ser Gln Asp Phe Glu Val

965 970 975

Val Gln Thr Ala Leu Arg Asn Leu Pro Glu Tyr Ala Leu Leu Cys

980 985 990

Gln Glu His Ala Ala Val Leu Leu His Arg Ala Phe Leu Val Gly

995 1000 1005

Met Tyr Gly Gln Met Asp Pro Ser Ala Gln Ile Ser Glu Ala Leu

1010 1015 1020

Arg Ile Leu His Met Glu Ala Val Met

1025 1029

<210> 24

<211> 2186

<212> DNA

<213> Homo Sapien

<400> 24

ccgggccatg cagcctcggc cccgcgggcg cccgccgcgc acccgaggag 50

atgaggctcc gcaatggcac cttcctgacg ctgctgctct tctgcctgtg 100

cgccttcctc tcgctgtcct ggtacgcggc actcagcggc cagaaaggcg 150

acgttgtgga cgtttaccag cgggagttcc tggcgctgcg cgatcggttg 200

cacgcagctg agcaggagag cctcaagcgc tccaaggagc tcaacctggt 250

gctggacgag atcaagaggg ccgtgtcaga aaggcaggcg ctgcgagacg 300

gagacggcaa tcgcacctgg ggccgcctaa cagaggaccc ccgattgaag 350

ccgtggaacg gctcacaccg gcacgtgctg cacctgccca ccgtcttcca 400

tcacctgcca cacctgctgg ccaaggagag cagtctgcag cccgcggtgc 450

gcgtgggcca gggccgcacc ggagtgtcgg tggtgatggg catcccgagc 500

gtgcggcgcg aggtgcactc gtacctgact gacactctgc actcgctcat 550

ctccgagctg agcccgcagg agaaggagga ctcggtcatc gtggtgctga 600

tcgccgagac tgactcacag tacacttcgg cagtgacaga gaacatcaag 650

gccttgttcc ccacggagat ccattctggg ctcctggagg tcatctcacc 700

ctccccccac ttctaccctg acttctcccg cctccgagag tcctttgggg 750

accccaagga gagagtcagg tggaggacca aacagaacct cgattactgc 800 ttcctcatga tgtacgcgca gtccaaaggc atctactacg tgcagctgga 850

ggatgacatc gtggccaagc ccaactacct gagcaccatg aagaactttg 900

cactgcagca gccttcagag gactggatga tcctggagtt ctcccagctg 950

ggcttcattg gtaagatgtt caagtcgctg gacctgagcc tgattgtaga 1000

gttcattctc atgttctacc gggacaagcc catcgactgg ctcctggacc 1050

atattctgtg ggtgaaagtc tgcaaccccg agaaggatgc gaagcactgt 1100

gaccggcaga aagccaacct gcggatccgc ttcaaaccgt ccctcttcca 1150

gcacgtgggc actcactcct cgctggctgg caagatccag aaactgaagg 1200

acaaagactt tggaaagcag gcgctgcgga aggagcatgt gaacccgcca 1250

gcagaggtga gcacgagcct gaagacatac cagcacttca ccctggagaa 1300

agcctacctg cgcgaggact tcttctgggc cttcacccct gccgcggggg 1350

acttcatccg cttccgcttc ttccaacctc taagactgga gcggttcttc 1400

ttccgcagtg ggaacatcga gcacccggag gacaagctct tcaacacgtc 1450

tgtggaggtg ctgcccttcg acaaccctca gtcagacaag gaggccctgc 1500

aggagggccg caccgccacc ctccggtacc ctcggagccc cgacggctac 1550

ctccagatcg gctccttcta caagggagtg gcagagggag aggtggaccc 1600

agccttcggc cctctggaag cactgcgcct ctcgatccag acggactccc 1650 ctgtgtgggt gattctgagc gagatcttcc tgaaaaaggc cgactaagct 1700

gcgggcttct gagggtaccc tgtggccagc cctgaagccc acatttctgg 1750

gggtgtcgtc actgccgtcc ccggagggcc agatacggcc ccgcccaaag 1800

ggttctgcct ggcgtcgggc ttgggccggc ctggggtccg ccgctggccc 1850

ggaggcccta ggagctggtg ctgccccgc ccgccgggcc gcggaggagg 1900

caggcggccc ccacactgtg cctgaggccc ggaaccgttc gcacccggcc 1950

tgccccagtc aggccgtttt agaagagctt ttacttgggc gcccgccgtc 2000

tctggcgcga acactggaat gcatatacta ctttatgtgc tgtgtttttt 2050

attcttggat acatttgatt ttttcacgta agtccacata tacttctata 2100

agagcgtgac ttgtaataaa gggttaatga agaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2150

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaa 2186

<210> 25

<211> 548

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 25

```
Met Arg Leu Arg Asn Gly Thr Phe Leu Thr Leu Leu Leu Phe Cys
  1               5                  10                  15

Leu Cys Ala Phe Leu Ser Leu Ser Trp Tyr Ala Ala Leu Ser Gly
                 20                  25                  30
```

Gln Lys Gly Asp Val Val Asp Val Tyr Gln Arg Glu Phe Leu Ala

35 40 45

Leu Arg Asp Arg Leu His Ala Ala Glu Gln Glu Ser Leu Lys Arg

50 55 60

Ser Lys Glu Leu Asn Leu Val Leu Asp Glu Ile Lys Arg Ala Val

65 70 75

Ser Glu Arg Gln Ala Leu Arg Asp Gly Asp Gly Asn Arg Thr Trp

80 85 90

Gly Arg Leu Thr Glu Asp Pro Arg Leu Lys Pro Trp Asn Gly Ser

95 100 105

His Arg His Val Leu His Leu Pro Thr Val Phe His His Leu Pro

110 115 120

His Leu Leu Ala Lys Glu Ser Ser Leu Gln Pro Ala Val Arg Val

125 130 135

Gly Gln Gly Arg Thr Gly Val Ser Val Val Met Gly Ile Pro Ser

140 145 150

Val Arg Arg Glu Val His Ser Tyr Leu Thr Asp Thr Leu His Ser

155 160 165

Leu Ile Ser Glu Leu Ser Pro Gln Glu Lys Glu Asp Ser Val Ile

170 175 180

Val Val Leu Ile Ala Glu Thr Asp Ser Gln Tyr Thr Ser Ala Val

185 190 195

Thr Glu Asn Ile Lys Ala Leu Phe Pro Thr Glu Ile His Ser Gly

200 205 210

Leu Leu Glu Val Ile Ser Pro Ser Pro His Phe Tyr Pro Asp Phe

215 220 225

Ser Arg Leu Arg Glu Ser Phe Gly Asp Pro Lys Glu Arg Val Arg

230 235 240

Trp Arg Thr Lys Gln Asn Leu Asp Tyr Cys Phe Leu Met Met Tyr

245 250 255

Ala Gln Ser Lys Gly Ile Tyr Tyr Val Gln Leu Glu Asp Asp Ile

260 265 270

Val Ala Lys Pro Asn Tyr Leu Ser Thr Met Lys Asn Phe Ala Leu

275 280 285

Gln Gln Pro Ser Glu Asp Trp Met Ile Leu Glu Phe Ser Gln Leu

290 295 300

Gly Phe Ile Gly Lys Met Phe Lys Ser Leu Asp Leu Ser Leu Ile

305 310 315

Val Glu Phe Ile Leu Met Phe Tyr Arg Asp Lys Pro Ile Asp Trp

320 325 330

Leu Leu Asp His Ile Leu Trp Val Lys Val Cys Asn Pro Glu Lys

335 340 345

Asp Ala Lys His Cys Asp Arg Gln Lys Ala Asn Leu Arg Ile Arg

350 355 360

Phe Lys Pro Ser Leu Phe Gln His Val Gly Thr His Ser Ser Leu

365 370 375

Ala Gly Lys Ile Gln Lys Leu Lys Asp Lys Asp Phe Gly Lys Gln

380 385 390

Ala Leu Arg Lys Glu His Val Asn Pro Pro Ala Glu Val Ser Thr

395 400 405

Ser Leu Lys Thr Tyr Gln His Phe Thr Leu Glu Lys Ala Tyr Leu

410 415 420

Arg Glu Asp Phe Phe Trp Ala Phe Thr Pro Ala Ala Gly Asp Phe

425 430 435

Ile Arg Phe Arg Phe Phe Gln Pro Leu Arg Leu Glu Arg Phe Phe

440 445 450

Phe Arg Ser Gly Asn Ile Glu His Pro Glu Asp Lys Leu Phe Asn

455 460 465

Thr Ser Val Glu Val Leu Pro Phe Asp Asn Pro Gln Ser Asp Lys

470 475 480

Glu Ala Leu Gln Glu Gly Arg Thr Ala Thr Leu Arg Tyr Pro Arg

485 490 495

Ser Pro Asp Gly Tyr Leu Gln Ile Gly Ser Phe Tyr Lys Gly Val

500 505 510

Ala Glu Gly Glu Val Asp Pro Ala Phe Gly Pro Leu Glu Ala Leu

515 520 525

Arg Leu Ser Ile Gln Thr Asp Ser Pro Val Trp Val Ile Leu Ser

530 535 540

Glu Ile Phe Leu Lys Lys Ala Asp
545 548

<210> 26

<211> 663

<212> DNA

<213> Homo Sapien

<400> 26

gcaccgcaga cggcgcggat cgcagggagc cggtccgccg ccggaacggg 50

agcctgggtg tgcgtgtgga gtccggactc gtgggagacg atcgcgatga 100

acacggtgct gtcgcgggcg aactcactgt tcgccttctc gctgagcgtg 150

atggcggcgc tcaccttcgg ctgcttcatc accaccgcct tcaaagacag 200

gagcgtcccg gtgcggctgc acgtctcgcg gatcatgcta aaaaatgtag 250

aagatttcac tggacctaga gaaagaagtg atctgggatt tatcacattt 300

gatataactg ctgatctaga gaatatattt gattggaatg ttaagcagtt 350

gtttctttat ttatcagcag aatattcaac aaaaaataat gctctgaacc 400

aagttgtcct atgggacaag attgttttga gaggtgataa tccgaagctg 450

ctgctgaaag atatgaaaac aaaatatttt ttctttgacg atggaaatgg 500

tctcaaggga aacaggaatg tcactttgac cctgtcttgg aacgtcgtac 550

caaatgctgg aattctacct cttgtgacag gatcaggaca cgtatctgtc 600 ccatttccag atacatatga aataacgaag agttattaaa ttattctgaa 650

tttgaaacaa aaa 663

<210> 27

<211> 180

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 27

Met Asn Thr Val Leu Ser Arg Ala Asn Ser Leu Phe Ala Phe Ser
1 5 10 15

Leu Ser Val Met Ala Ala Leu Thr Phe Gly Cys Phe Ile Thr Thr
20 25 30

Ala Phe Lys Asp Arg Ser Val Pro Val Arg Leu His Val Ser Arg
35 40 45

Ile Met Leu Lys Asn Val Glu Asp Phe Thr Gly Pro Arg Glu Arg
50 55 60

Ser Asp Leu Gly Phe Ile Thr Phe Asp Ile Thr Ala Asp Leu Glu
65 70 75

Asn Ile Phe Asp Trp Asn Val Lys Gln Leu Phe Leu Tyr Leu Ser
80 85 90

Ala Glu Tyr Ser Thr Lys Asn Asn Ala Leu Asn Gln Val Val Leu
95 100 105

Trp Asp Lys Ile Val Leu Arg Gly Asp Asn Pro Lys Leu Leu Leu
110 115 120

Lys Asp Met Lys Thr Lys Tyr Phe Phe Phe Asp Asp Gly Asn Gly

125 130 135

Leu Lys Gly Asn Arg Asn Val Thr Leu Thr Leu Ser Trp Asn Val

140 145 150

Val Pro Asn Ala Gly Ile Leu Pro Leu Val Thr Gly Ser Gly His

155 160 165

Val Ser Val Pro Phe Pro Asp Thr Tyr Glu Ile Thr Lys Ser Tyr

170 175 180

<210> 28

<211> 3580

<212> DNA

<213> Homo Sapien

<400> 28

gaccggtccc tccggtcctg gatgtgcgga ctctgctgca gcgagggctg 50

caggcccgcc gggcggtgct caccgtgccc tggctggtgg agtttctctc 100

ctttgctgac catgttgttc ccttgctgga atattaccgg gacatcttca 150

ctctcctgct gcgcctgcac cggagcttgg tgttgtcgca ggagagtgag 200

gggaagatgt gtttcctgaa caagctgctg ctacttgctg tcctgggctg 250

gcttttccag attcccacag tccctgagga cttgttcttt ctggaagagg 300

gtccctcata tgcctttgag gtggacacag tagccccaga gcatggcttg 350

gacaatgcgc ctgtggtgga ccagcagctg ctctacacct gctgccccta 400 catcggagag ctccggaaac tgctcgcttc gtgggtgtca ggcagtagtg 450

gacggagtgg gggcttcatg aggaaaatca cccccaccac taccaccagc 500

ctgggagccc agccttccca gaccagccag gggctgcagg cacagctcgc 550

ccaggccttt ttccacaacc agccgccctc cttgcgccgg accgtagagt 600

tcgtggcaga aagaattgga tcaaactgtg tcaaacatat caaggctaca 650

ctggtggcag atctggtgcg ccaggcagag tcacttctcc aagagcagct 700

ggtgacacag ggagaggaag ggggagaccc agcccagctg ttggagatct 750

tgtgttccca gctgtgccct cacggggccc aggcattggc cctggggcgg 800

gagttctgtc aaaggaagag ccctggggct gtgcgggcgc tgcttccaga 850

ggagaccccg gcagccgttc tgagcagtgc agagaacatt gctgtggggc 900

ttgcaacaga gaaagcctgt gcttggctgt cagccaacat cacagcactg 950

atcaggaggg aggtgaaagc agcagtgagt cgcacacttc gagcccaggg 1000

tcctgaacct gctgcccggg gggagcggag gggctgctcc cgcgcctgac 1050

gtgctctcct tggccgtggg gccacgggac cctgacgagg gagtctcccc 1100

agagcatctg gaacagctcc taggccagct gggccagacg ctgcggtgcc 1150

gccagttcct gtgcccacct gctgagcagc atctggcaaa gtgctctgtg 1200

gagttagctt ccctcctcgt tgcagatcaa attcctatcc tagggccccc 1250 ggcacagtac aggctggaga gagggcaggc tcgaaggctt ctgcacatgc 1300

tgctttcctt gtggaaggaa gactttcagg ggccggttcc gctgcagctg 1350

ctgctgagcc caagaaatgt ggggcttctg gcagacacaa ggccaaggga 1400

gtgggacttg ctgctattct tgctacggga gctggtggag aagggtctga 1450

tgggacggat ggagatagag gcctgcctgg gcagcctcca ccaggcccag 1500

tggccagggg actttgctga agaattagca acactgtcta atctgtttct 1550

agccgagccc cacctgccag aaccccagct aagagcctgt gagttggtgc 1600

agccaaaccg gggcactgtg ctggcccaga gctagggctg agaagtggcc 1650

ctgccttggg cattgcacca gaaccctgga cccccgcctc acgaggaggc 1700

ccaagtgccc aatgcagacc ctcactggtt ggggtgtagc tgggtctaca 1750

gtcagacttc ctgctctaag ggtgtcactg cctggcatcc caccacgcga 1800

atcctagagg aaggagagtt ggcctgattt gggattatgg cagaaaagtc 1850

cagagatgcc agtcctggag tagaagaggt ggtgtttgtt tatctcttgg 1900

atactaaatg aaatgaggtg tgtgggcttg tcaacacaga attcaagcct 1950

catttgctat cccagcatct cttaaaactt tgtagtcttg gaattcatga 2000

cagaggcaaa tgactcctgc ttaacttatg aagaaagtta aaacatgaat 2050

cttgggagtc tacattttct tatcaccagg agctggactg ccatctcctt 2100 ataaatgcct aacacaggcc gggtctggtg gctcatgcct gtaatcccag 2150

cactttgaga ggcctgaggt cggcggactg cctgaggtca ggaattcaag 2200

accagcctgg ccaacatggc aaaaccccat ctctactaaa aataaaaaaa 2250

ttattagctg ggcatggtgg tgtgtgcctg taatcccagc tactcaggag 2300

gatgaggcag gagacctgct tgaacctgga ggtggaggtt gcagtgagcc 2350

gaggtcgcac cactgcactc cagtctgggt aacagagcga gactttctag 2400

aaaaagccta acaaacagat aaggtaggac tcaaccaact gaaacctgac 2450

tttccccctg taccttcagc ccctgtgcag gtagtaacct cttgagacct 2500

ctccctgacc agggaccaag cacagggcat ttagagcttt ttagaataaa 2550

ctggttttct ttaaaaaaaa aaaaaaaaaa agggcggccg cccttttttt 2600

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt taaaaagggc 2650

ttttattaaa attctcccca cacgatggct cctgcaatct gccacagctc 2700

tggggcgtgt cctgtaggga aaggccctgt tttccctgag gcggggctgg 2750

gcttgtccat gggtccgcgg agctggccgt gcttggcgcc ctggcgtgtg 2800

tctagctgct tcttgccggg cacagagctg cggggtctgg gggcaccggg 2850

agctaagagc aggctctggt gcaggggtgg aggcctgtct cttaaccgac 2900

accctgaggt gctcctgaga tgctgggtcc accctgagtg gcacggggag 2950 cagctgtggc cggtgctcct tcytaggcca gtcctgggga aactaagctc 3000

gggcccttct ttgcaaagac cgaggatggg gtgggtgtgg gggactcatg 3050

gggaatggcc tgaggagcta cgtgtgaaga gggcgccggt ttgttggctg 3100

cagcggcctg gagcgcctct ctcctgagcc tcagtttccc tttccgtcta 3150

atgaagaaca tgccgtctcg gtgtctcagg gctattagga cttgccctca 3200

ggaagtggcc ttggacgagc gtcatgttat tttcacaact gtcctgcgac 3250

gttggcctgg gcacgtcatg gaatggccca tgtccctctg ctgcgtggac 3300

gtcgcggtcg ggagtgcgca gccagaggcg gggccagacg tgcgcctggg 3350

ggtgagggga ggcgccccgg gagggcctca caggaagttg ggctcccgca 3400

ccaccaggca gggcgggctc ccgccgccgc cgccgccacc accgtccagg 3450

ggccggtaga caaagtggaa gtcgcgcttg ggctcgctgc gcagcaggta 3500

gcccttgatg cagtgcggca gcgcgtcgtc cgccagctgg aagcagcgcc 3550

cgtccaccag cacgaacagc cggtgcgcct 3580

<210> 29

<211> 280

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 29

```
Met Cys Phe Leu Asn Lys Leu Leu Leu Leu Ala Val Leu Gly Trp
  1               5                  10                  15
```

```
Leu Phe Gln Ile Pro Thr Val Pro Glu Asp Leu Phe Phe Leu Glu
                20                  25                  30

Glu Gly Pro Ser Tyr Ala Phe Glu Val Asp Thr Val Ala Pro Glu
                35                  40                  45

His Gly Leu Asp Asn Ala Pro Val Val Asp Gln Gln Leu Leu Tyr
                50                  55                  60

Thr Cys Cys Pro Tyr Ile Gly Glu Leu Arg Lys Leu Leu Ala Ser
                65                  70                  75

Trp Val Ser Gly Ser Ser Gly Arg Ser Gly Gly Phe Met Arg Lys
                80                  85                  90

Ile Thr Pro Thr Thr Thr Thr Ser Leu Gly Ala Gln Pro Ser Gln
                95                 100                 105

Thr Ser Gln Gly Leu Gln Ala Gln Leu Ala Gln Ala Phe Phe His
               110                 115                 120

Asn Gln Pro Pro Ser Leu Arg Arg Thr Val Glu Phe Val Ala Glu
               125                 130                 135

Arg Ile Gly Ser Asn Cys Val Lys His Ile Lys Ala Thr Leu Val
               140                 145                 150

Ala Asp Leu Val Arg Gln Ala Glu Ser Leu Leu Gln Glu Gln Leu
               155                 160                 165

Val Thr Gln Gly Glu Glu Gly Gly Asp Pro Ala Gln Leu Leu Glu
               170                 175                 180
```

Ile Leu Cys Ser Gln Leu Cys Pro His Gly Ala Gln Ala Leu Ala
185 190 195

Leu Gly Arg Glu Phe Cys Gln Arg Lys Ser Pro Gly Ala Val Arg
200 205 210

Ala Leu Leu Pro Glu Glu Thr Pro Ala Ala Val Leu Ser Ser Ala
215 220 225

Glu Asn Ile Ala Val Gly Leu Ala Thr Glu Lys Ala Cys Ala Trp
230 235 240

Leu Ser Ala Asn Ile Thr Ala Leu Ile Arg Arg Glu Val Lys Ala
245 250 255

Ala Val Ser Arg Thr Leu Arg Ala Gln Gly Pro Glu Pro Ala Ala
260 265 270

Arg Gly Glu Arg Arg Gly Cys Ser Arg Ala
275 280

<210> 30
<211> 1990
<212> DNA
<213> Homo Sapien

<400> 30
gccgagtggg acaaagcctg gggctgggcg ggggccatgg cgctgccatc 50

ccgaatcctg ctttggaaac ttgtgcttct gcagagctct gctgttctcc 100

tgcactcagc ggtggaggag acggacgcgg ggctgtacac ctgcaacctg 150 caccatcact actgccacct ctacgagagc ctggccgtcc gcctggaggt 200

caccgacggc cccccggcca cccccgccta ctgggacggc gagaaggagg 250

tgctggcggt ggcgcgcggc gcacccgcgc ttctgacctg cgtgaaccgc 300

gggcacgtgt ggaccgaccg gcacgtggag gaggctcaac aggtggtgca 350

ctgggaccgg cagccgcccg gggtcccgca cgaccgcgcg gaccgcctgc 400

tggacctcta cgcgtcgggc gagcgccgcg cctacgggcc cctttttctg 450

cgcgaccgcg tggctgtggg cgcggatgcc tttgagcgcg gtgacttctc 500

actgcgtatc gagccgctgg aggtcgccga cgagggcacc tactcctgcc 550

acctgcacca ccattactgt ggcctgcacg aacgccgcgt cttccacctg 600

acggtcgccg aaccccacgc ggagccgccc ccccggggct ctccgggcaa 650

cggctccagc cacagcggcg ccccaggccc agaccccaca ctggcgcgcg 700

gccacaacgt catcaatgtc atcgtccccg agagccgagc ccacttcttc 750

cagcagctgg gctacgtgct ggccacgctg ctgctcttca tcctgctact 800

ggtcactgtc ctcctggccg cccgcaggcg ccgcggaggc tacgaatact 850

cggaccagaa gtcgggaaag tcaaagggga aggatgttaa cttggcggag 900

ttcgctgtgg ctgcagggga ccagatgctt tacaggagtg aggacatcca 950

gctagattac aaaaacaaca tcctgaagga gagggcggag ctggcccaca 1000 gccccctgcc tgccaagtac atcgacctag acaaagggtt ccggaaggag 1050

aactgcaaat agggaggccc tgggctcctg gctgggccag cagctgcacc 1100

tctcctgtct gtgctcctcg gggcatctcc tgatgctccg gggctcaccc 1150

cccttccagc ggctggtccc gctttcctgg aatttggcct gggcgtatgc 1200

agaggccgcc tccacacccc tcccccaggg gcttggtggc agcatagccc 1250

ccacccctgc ggcctttgct cacgggtggc cctgcccacc cctggcacaa 1300

ccaaaatccc actgatgccc atcatgccct cagacccttc tgggctctgc 1350

ccgctggggg cctgaagaca ttcctggagg acactcccat cagaacctgg 1400

cagccccaaa actggggtca gcctcagggc aggagtccca ctcctccagg 1450

gctctgctcg tccggggctg ggagatgttc ctggaggagg acactcccat 1500

cagaacttgg cagccttgaa gttggggtca gcctcggcag gagtcccact 1550

cctcctgggg tgctgcctgc caccaagagc tcccccacct gtaccaccat 1600

gtgggactcc aggcaccatc tgttctcccc agggacctgc tgacttgaat 1650

gccagccctt gctcctctgt gttgctttgg gccacctggg gctgcacccc 1700

ctgccctttc tctgccccat ccctacccta gccttgctct cagccacctt 1750

gatagtcact gggctccctg tgacttctga ccctgacacc cctcccttgg 1800

actctgcctg ggctggagtc tagggctggg gctacatttg gcttctgtac 1850 tggctgagga caggggaggg agtgaagttg gtttggggtg gcctgtgttg 1900

ccactctcag caccccacat ttgcatctgc tggtggacct gccaccatca 1950

caataaagtc cccatctgat ttttaaaaaa aaaaaaaaaa 1990

<210> 31

<211> 341

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 31

```
Met Ala Leu Pro Ser Arg Ile Leu Leu Trp Lys Leu Val Leu Leu
  1               5                  10                  15

Gln Ser Ser Ala Val Leu Leu His Ser Ala Val Glu Glu Thr Asp
                 20                  25                  30

Ala Gly Leu Tyr Thr Cys Asn Leu His His His Tyr Cys His Leu
                 35                  40                  45

Tyr Glu Ser Leu Ala Val Arg Leu Glu Val Thr Asp Gly Pro Pro
                 50                  55                  60

Ala Thr Pro Ala Tyr Trp Asp Gly Glu Lys Glu Val Leu Ala Val
                 65                  70                  75

Ala Arg Gly Ala Pro Ala Leu Leu Thr Cys Val Asn Arg Gly His
                 80                  85                  90

Val Trp Thr Asp Arg His Val Glu Glu Ala Gln Gln Val Val His
                 95                 100                 105

Trp Asp Arg Gln Pro Pro Gly Val Pro His Asp Arg Ala Asp Arg
```

110 115 120

Leu Leu Asp Leu Tyr Ala Ser Gly Glu Arg Arg Ala Tyr Gly Pro

125 130 135

Leu Phe Leu Arg Asp Arg Val Ala Val Gly Ala Asp Ala Phe Glu

140 145 150

Arg Gly Asp Phe Ser Leu Arg Ile Glu Pro Leu Glu Val Ala Asp

155 160 165

Glu Gly Thr Tyr Ser Cys His Leu His His His Tyr Cys Gly Leu

170 175 180

His Glu Arg Arg Val Phe His Leu Thr Val Ala Glu Pro His Ala

185 190 195

Glu Pro Pro Pro Arg Gly Ser Pro Gly Asn Gly Ser Ser His Ser

200 205 210

Gly Ala Pro Gly Pro Asp Pro Thr Leu Ala Arg Gly His Asn Val

215 220 225

Ile Asn Val Ile Val Pro Glu Ser Arg Ala His Phe Phe Gln Gln

230 235 240

Leu Gly Tyr Val Leu Ala Thr Leu Leu Leu Phe Ile Leu Leu Leu

245 250 255

Val Thr Val Leu Leu Ala Ala Arg Arg Arg Arg Gly Gly Tyr Glu

260 265 270

Tyr Ser Asp Gln Lys Ser Gly Lys Ser Lys Gly Lys Asp Val Asn

275 280 285

Leu Ala Glu Phe Ala Val Ala Ala Gly Asp Gln Met Leu Tyr Arg

290 295 300

Ser Glu Asp Ile Gln Leu Asp Tyr Lys Asn Asn Ile Leu Lys Glu

305 310 315

Arg Ala Glu Leu Ala His Ser Pro Leu Pro Ala Lys Tyr Ile Asp

320 325 330

Leu Asp Lys Gly Phe Arg Lys Glu Asn Cys Lys

335 340 341

<210> 32

<211> 1091

<212> DNA

<213> Homo Sapien

<400> 32

caagcaggtc atccccttgg tgaccttcaa agagaagcag agagggcaga 50

ggtggggggc acagggaaag ggtgacctct gagattcccc ttttccccca 100

gactttggaa gtgacccacc atggggctca gcatcttttt gctcctgtgt 150

gttcttgggc tcagccaggc agccacaccg aagattttca atggcactga 200

gtgtgggcgt aactcacagc cgtggcaggt ggggctgttt gagggcacca 250

gcctgcgctg cgggggtgtc cttattgacc acaggtgggt cctcacagcg 300

gctcactgca gcggcagcag gtactgggtg cgcctggggg aacacagcct 350

cagccagctc gactggaccg agcagatccg gcacagcggc ttctctgtga 400 cccatcccgg ctacctggga gcctcgacga gccacgagca cgacctccgg 450

ctgctgcggc tgcgcctgcc cgtccgcgta accagcagcg ttcaacccct 500

gcccctgccc aatgactgtg caaccgctgg caccgagtgc cacgtctcag 550

gctggggcat caccaaccac ccacggaacc cattcccgga tctgctccag 600

tgcctcaacc tctccatcgt ctcccatgcc acctgccatg gtgtgtatcc 650

cgggagaatc acgagcaaca tggtgtgtgc aggcggcgtc ccggggcagg 700

atgcctgcca gggtgattct gggggccccc tggtgtgtgg gggagtcctt 750

caaggtctgg tgtcctgggg gtctgtgggg ccctgtggac aagatggcat 800

ccctggagtc tacacctata tttgcaagta tgtggactgg atccggatga 850

tcatgaggaa caactgacct gtttcctcca cctccacccc cacccttaa 900

cttgggtacc cctctggccc tcagagcacc aatatctcct ccatcacttc 950

ccctagctcc actcttgttg gcctgggaac ttcttggaac tttaactcct 1000

gccagccctt ctaagaccca cgagcggggt gagagaagtg tgcaatagtc 1050

tggaataaat ataaatgaag gaggggcaaa aaaaaaaaaa a 1091

<210> 33

<211> 248

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 33

Met Gly Leu Ser Ile Phe Leu Leu Leu Cys Val Leu Gly Leu Ser

1 5 10 15

Gln Ala Ala Thr Pro Lys Ile Phe Asn Gly Thr Glu Cys Gly Arg

20 25 30

Asn Ser Gln Pro Trp Gln Val Gly Leu Phe Glu Gly Thr Ser Leu

35 40 45

Arg Cys Gly Gly Val Leu Ile Asp His Arg Trp Val Leu Thr Ala

50 55 60

Ala His Cys Ser Gly Ser Arg Tyr Trp Val Arg Leu Gly Glu His

65 70 75

Ser Leu Ser Gln Leu Asp Trp Thr Glu Gln Ile Arg His Ser Gly

80 85 90

Phe Ser Val Thr His Pro Gly Tyr Leu Gly Ala Ser Thr Ser His

95 100 105

Glu His Asp Leu Arg Leu Leu Arg Leu Arg Leu Pro Val Arg Val

110 115 120

Thr Ser Ser Val Gln Pro Leu Pro Leu Pro Asn Asp Cys Ala Thr

125 130 135

Ala Gly Thr Glu Cys His Val Ser Gly Trp Gly Ile Thr Asn His

140 145 150

Pro Arg Asn Pro Phe Pro Asp Leu Leu Gln Cys Leu Asn Leu Ser

155 160 165

Ile Val Ser His Ala Thr Cys His Gly Val Tyr Pro Gly Arg Ile

170 175 180

Thr Ser Asn Met Val Cys Ala Gly Gly Val Pro Gly Gln Asp Ala

185 190 195

Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Gly Gly Val Leu

200 205 210

Gln Gly Leu Val Ser Trp Gly Ser Val Gly Pro Cys Gly Gln Asp

215 220 225

Gly Ile Pro Gly Val Tyr Thr Tyr Ile Cys Lys Tyr Val Asp Trp

230 235 240

Ile Arg Met Ile Met Arg Asn Asn

245 248

<210> 34

<211> 1643

<212> DNA

<213> Homo Sapien

<400> 34

agcagcctct gcccgacccg gctcgtgcgg accccaggac cgggcgcggg 50

acgcgtgcgt ccagcctccg gcgctgcgga gacccgcggc tgggtccggg 100

gaggccccaa acccgccccc gccagaaccc cgccccaaat tcccacctcc 150

tccagaagcc ccgcccactc ccgagccccg agagctccgc gcacctgggc 200

gccatccgcc ctggctccgc tgcacgagct ccacgcccgt accccggcgt 250 cacgctcagc ccgcggtgct cgcacacctg agactcatct cgcttcgacc 300

ccgccgccgc cgccgcccgg catcctgagc acggagacag tctccagctg 350

ccgttcatgc ttcctcccca gccttccgca gcccaccagg gaaggggcgg 400

taggagtggc cttttaccaa agggaccggc gatgctctgc aggctgtgct 450

ggctggtctc gtacagcttg gctgtgctgt tgctcggctg cctgctcttc 500

ctgaggaagg cggccaagcc cgcaggagac cccacggccc accagccttt 550

ctgggctccc ccaacacccc gtcacagccg gtgtccaccc aaccacacag 600

tgtctagcgc ctctctgtcc ctgcctagcc gtcaccgtct cttcttgacc 650

tatcgtcact gccgaaattt ctctatcttg ctggagcctt caggctgttc 700

caaggatacc ttcttgctcc tggccatcaa gtcacagcct ggtcacgtgg 750

agcgacgtgc ggctatccgc agcacgtggg gcagggtggg gggatgggct 800

aggggccggc agctgaagct ggtgttcctc ctaggggtgg caggatccgc 850

tcccccagcc cagctgctgg cctatgagag tagggagttt gatgacatcc 900

tccagtggga cttcactgag gacttcttca acctgacgct caaggagctg 950

cacctgcagc gctgggtggt ggctgcctgc cccccaggccc atttcatgct 1000

aaagggagat gacgatgtct ttgtccacgt ccccaacgtg ttagagttcc 1050

tggatggctg ggacccagcc caggacctcc tggtgggaga tgtcatccgc 1100 caagccctgc ccaacaggaa cactaaggtc aaatacttca tcccaccctc 1150

aatgtacagg gccacccact acccacccta tgctggtggg ggaggatatg 1200

tcatgtccag agccacagtg cggcgcctcc aggctatcat ggaagatgct 1250

gaactcttcc ccattgatga tgtctttgtg ggtatgtgcc tgaggaggct 1300

ggggctgagc cctatgcacc atgctggctt caagacattt ggaatccggc 1350

ggcccctgga ccccttagac ccctgcctgt atagggggct cctgctggtt 1400

caccgcctca gccccctcga gatgtggacc atgtgggcac tggtgacaga 1450

tgaggggctc aagtgtgcag ctggccccat accccagcgc tgaagggtgg 1500

gttgggcaac agcctgagag tggactcagt gttgattctc tatcgtgatg 1550

cgaaattgat gcctgctgct ctacagaaaa tgccaacttg gttttttaac 1600

tcctctcacc ctgttagctc tgattaaaaa cactgcaacc caa 1643

<210> 35
<211> 378
<212> PRT
<213> Homo Sapien

<400> 35
Met Leu Pro Pro Gln Pro Ser Ala Ala His Gln Gly Arg Gly Gly
1   5   10   15

Arg Ser Gly Leu Leu Pro Lys Gly Pro Ala Met Leu Cys Arg Leu
            20   25   30

Cys Trp Leu Val Ser Tyr Ser Leu Ala Val Leu Leu Leu Gly Cys

35 40 45

Leu Leu Phe Leu Arg Lys Ala Ala Lys Pro Ala Gly Asp Pro Thr

50 55 60

Ala His Gln Pro Phe Trp Ala Pro Pro Thr Pro Arg His Ser Arg

65 70 75

Cys Pro Pro Asn His Thr Val Ser Ser Ala Ser Leu Ser Leu Pro

80 85 90

Ser Arg His Arg Leu Phe Leu Thr Tyr Arg His Cys Arg Asn Phe

95 100 105

Ser Ile Leu Leu Glu Pro Ser Gly Cys Ser Lys Asp Thr Phe Leu

110 115 120

Leu Leu Ala Ile Lys Ser Gln Pro Gly His Val Glu Arg Arg Ala

125 130 135

Ala Ile Arg Ser Thr Trp Gly Arg Val Gly Gly Trp Ala Arg Gly

140 145 150

Arg Gln Leu Lys Leu Val Phe Leu Leu Gly Val Ala Gly Ser Ala

155 160 165

Pro Pro Ala Gln Leu Leu Ala Tyr Glu Ser Arg Glu Phe Asp Asp

170 175 180

Ile Leu Gln Trp Asp Phe Thr Glu Asp Phe Phe Asn Leu Thr Leu

185 190 195

Lys Glu Leu His Leu Gln Arg Trp Val Val Ala Ala Cys Pro Gln

200 205 210

Ala His Phe Met Leu Lys Gly Asp Asp Asp Val Phe Val His Val

215 220 225

Pro Asn Val Leu Glu Phe Leu Asp Gly Trp Asp Pro Ala Gln Asp

230 235 240

Leu Leu Val Gly Asp Val Ile Arg Gln Ala Leu Pro Asn Arg Asn

245 250 255

Thr Lys Val Lys Tyr Phe Ile Pro Pro Ser Met Tyr Arg Ala Thr

260 265 270

His Tyr Pro Pro Tyr Ala Gly Gly Gly Gly Tyr Val Met Ser Arg

275 280 285

Ala Thr Val Arg Arg Leu Gln Ala Ile Met Glu Asp Ala Glu Leu

290 295 300

Phe Pro Ile Asp Asp Val Phe Val Gly Met Cys Leu Arg Arg Leu

305 310 315

Gly Leu Ser Pro Met His His Ala Gly Phe Lys Thr Phe Gly Ile

320 325 330

Arg Arg Pro Leu Asp Pro Leu Asp Pro Cys Leu Tyr Arg Gly Leu

335 340 345

Leu Leu Val His Arg Leu Ser Pro Leu Glu Met Trp Thr Met Trp

350 355 360

Ala Leu Val Thr Asp Glu Gly Leu Lys Cys Ala Ala Gly Pro Ile

365 370 375

Pro Gln Arg

378

<210> 36

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 36

cttgctcctg gccatcaagt cac 23

<210> 37

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 37

gttgaagaag tcctcagtga agtcccac 28

<210> 38

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 38

cagctgaagc tggtgttcct cctaggggtg gcaggatccg 40

<210> 39

<211> 1470

<212> DNA

<213> Homo Sapien

<400> 39

ctcggctgga tttaaggttg ccgctagccg cctgggaatt taagggaccc 50

acactacctt cccgaagttg aaggcaagcg gtgattgttt gtagacggcg 100

ctttgtcatg ggacctgtgc ggttgggaat attgcttttc cttttttttgg 150

ccgtgcacga ggcttgggct gggatgttga aggaggagga cgatgacaca 200

gaacgcttgc ccagcaaatg cgaagtgtgt aagctgctga gcacagagct 250

acaggcggaa ctgagtcgca ccggtcgatc tcgagaggtg ctggagctgg 300

ggcaggtgct ggatacaggc aagaggaaga gacacgtgcc ttacagcgtt 350

tcagagacaa ggctggaaga ggccttagag aatttatgtg agcggatcct 400

ggactatagt gttcacgctg agcgcaaggg ctcactgaga tatgccaagg 450

gtcagagtca gaccatggca acactgaaag gcctagtgca gaagggggtg 500

aaggtggatc tggggatccc tctggagctt tgggatgagc ccagcgtgga 550

ggtcacatac ctcaagaagc agtgtgagac catgttggag gagtttgaag 600 acattgtggg agactggtac ttccaccatc aggagcagcc cctacaaaat 650

tttctctgtg aaggtcatgt gctcccagct gctgaaactg catgtctaca 700

ggaaacttgg actggaaagg agatcacaga tggggaagag aaaacagaag 750

gggaggaaga gcaggaggag gaggaggaag aggaggaaga ggaaggggga 800

gacaagatga ccaagacagg aagccacccc aaacttgacc gagaagatct 850

ttgacccttg cctttgagcc cccaggaggg gaagggatca tggagagccc 900

tctaaagcct gcactctccc tgctccacag ctttcagggt gtgtttatga 950

gtgactccac ccaagcttgt agctgttctc tcccatctaa cctcaggcaa 1000

gatcctggtg aaacagcatg acatggcttc tggggtggag ggtgggggtg 1050

gaggtcctgc tcctagagat gaactctatc cagcccctta attggcaggt 1100

gtatgtgctg acagtactga aagctttcct ctttaactga tcccaccccc 1150

acccaaaagt cagcagtggc actggagctg tgggctttgg ggaagtcact 1200

tagctcctta aggtctgttt ttagaccctt ccaaggaaga ggccagaacg 1250

gacattctct gcgatctata tacattgcct gtatccagga ggctacacac 1300

cagcaaaccg tgaaggagaa tgggacactg ggtcatggcc tggagttgct 1350

gataatttag gtgggataga tacttggtct acttaagctc aatgtaaccc 1400

agagcccacc atatagtttt ataggtgctc aactttctat atcgctatta 1450 aactttttc tttttttcta 1470

<210> 40

<211> 248

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 40

```
Met Gly Pro Val Arg Leu Gly Ile Leu Leu Phe Leu Phe Leu Ala
  1               5                  10                  15

Val His Glu Ala Trp Ala Gly Met Leu Lys Glu Glu Asp Asp Asp
                 20                  25                  30

Thr Glu Arg Leu Pro Ser Lys Cys Glu Val Cys Lys Leu Leu Ser
                 35                  40                  45

Thr Glu Leu Gln Ala Glu Leu Ser Arg Thr Gly Arg Ser Arg Glu
                 50                  55                  60

Val Leu Glu Leu Gly Gln Val Leu Asp Thr Gly Lys Arg Lys Arg
                 65                  70                  75

His Val Pro Tyr Ser Val Ser Glu Thr Arg Leu Glu Glu Ala Leu
                 80                  85                  90

Glu Asn Leu Cys Glu Arg Ile Leu Asp Tyr Ser Val His Ala Glu
                 95                 100                 105

Arg Lys Gly Ser Leu Arg Tyr Ala Lys Gly Gln Ser Gln Thr Met
                110                 115                 120

Ala Thr Leu Lys Gly Leu Val Gln Lys Gly Val Lys Val Asp Leu
```

125 130 135

Gly Ile Pro Leu Glu Leu Trp Asp Glu Pro Ser Val Glu Val Thr

140 145 150

Tyr Leu Lys Lys Gln Cys Glu Thr Met Leu Glu Glu Phe Glu Asp

155 160 165

Ile Val Gly Asp Trp Tyr Phe His His Gln Glu Gln Pro Leu Gln

170 175 180

Asn Phe Leu Cys Glu Gly His Val Leu Pro Ala Ala Glu Thr Ala

185 190 195

Cys Leu Gln Glu Thr Trp Thr Gly Lys Glu Ile Thr Asp Gly Glu

200 205 210

Glu Lys Thr Glu Gly Glu Glu Glu Gln Glu Glu Glu Glu Glu Glu

215 220 225

Glu Glu Glu Glu Gly Gly Asp Lys Met Thr Lys Thr Gly Ser His

230 235 240

Pro Lys Leu Asp Arg Glu Asp Leu

245 248

<210> 41

<211> 2684

<212> DNA

<213> Homo Sapien

<220>

<221> unsure

<222> 2636-2637

<223> unknown base

<400> 41

cggacgcgtg ggcgctgagc cccggaggcc agggcgtccg gggctgcgcc 50

acttccgagg gccgagcgct gccggtcccg gcggtgcgac acggccggga 100

ggaggagaac aacgcaaggg gctcaaccgt cggtcgctgg agcccccccc 150

ggggcgtggc ctcccgcccc ctcagctggg gagggcgggg ctcgctgccc 200

cctgctgccg actgcgaccc ttacagggga gggagggcgc aggccgcgcg 250

gagatgagga ggaggctgcg cctacgcagg gacgcattgc tcacgctgct 300

ccttggcgcc tccctgggcc tcttactcta tgcgcagcgc gacggcgcgg 350

ccccgacggc gagcgcgccg cgagggcgag ggagggcggc accgaggccc 400

accccccggac cccgcgcgtt ccagttaccc gacgcgggtg cagccccgcc 450

ggcctacgaa ggggacacac cggcgccgcc cacgcctacg ggaccctttg 500

acttcgcccg ctatttgcgc gccaaggacc agcggcggtt tccactgctc 550

attaaccagc cgcacaagtg ccgcggcgac ggcgcacccg gtggccgccc 600

ggacctgctt attgctgtca agtcggtggc agaggacttc gagcggcgcc 650

aagccgtgcg ccagacgtgg ggcgcggagg gtcgcgtgca gggggcgctg 700

gtgcgccgcg tgttcttgct gggcgtgccc aggggcgcag gctcgggcgg 750

ggccgacgaa gttggggagg gcgcgcgaac ccactggcgc gccctgctgc 800 gggccgagag ccttgcgtat gcggacatcc tgctctgggc cttcgacgac 850

accttttta acctaacgct caaggagatc cactttctag cctgggcctc 900

agctttctgc cccgacgtgc gcttcgtttt taagggcgac gcagatgtgt 950

tcgtgaacgt gggaaatctc ctggagttcc tggcgccgcg ggacccggcg 1000

caagacctgc ttgctggtga cgtaattgtg catgcgcggc ccatccgcac 1050

gcgggctagc aagtactaca tccccgaggc cgtgtacggc ctgcccgcct 1100

atccggccta cgcgggcggc ggtggctttg tgctttccgg ggccacgctg 1150

caccgcctgg ctggcgcctg tgcgcaggtc gagctcttcc ccatcgacga 1200

cgtctttctg ggcatgtgtc tgcagcgcct gcggctcacg cccgagcctc 1250

accctgcctt ccgcaccttt ggcatccccc agccttcagc cgcgccgcat 1300

ttgagcacct tcgacccctg cttttaccgt gagctggttg tagtgcacgg 1350

gctctcggcc gctgacatct ggcttatgtg gcgcctgctg cacgggccgc 1400

atgggccagc ctgtgcgcat ccacagcctg tcgctgcagg ccccttccaa 1450

tgggactcct agctccccac tacagcccca agctcctaac tcagacccag 1500

aatggagccg gtttcccaga ttattgccgt gtatgtggtt cttccctgat 1550

caccaggtgc ctgtctccac aggatcccag gggatggggg ttaagcttgg 1600

ctcctggcgg tccaccctgc tggaaccagt tgaaacccgt gtaatggtga 1650 ccctttgagc gagccaaggc tgggtggtag atgaccatct cttgtccaac 1700

aggtcccaga gcagtggata tgtctggtcc tcctagtagc acagaggtgt 1750

gttctggtgt ggtggcaggg acttagggaa tcctaccact ctgctggatt 1800

tggaaccccc taggctgacg cggacgtatg cagaggctct caaggccagg 1850

ccccacaggg aggtggaggg gctccggccg ccacagcctg aattcatgaa 1900

cctggcaggc actttgccat agctcatctg aaaacagata ttatgcttcc 1950

cacaacctct cctgggccca ggtgtggctg agcaccaggg atggagccac 2000

acataaggga caaatgagtg cacggtccta cctagtcttt cctcacctcc 2050

tgaactcaca caacaatgcc agtctcccac tggaggctgt atcccctcag 2100

aggagccaag gaatgtcttc ccctgagatg ccaccactat taatttcccc 2150

atatgcttca accacccccct tgctcaaaaa accaataccc acacttacct 2200

taatacaaac atcccagcaa cagcacatgg caggccattg ctgagggcac 2250

aggtgcttta ttggagaggg gatgtgggca ggggataagg aaggttcccc 2300

cattccagga ggatgggaac agtcctggct gcccctgaca gtggggatat 2350

gcaaggggct ctggccaggc cacagtccaa atgggaagac accagtcagt 2400

cacaaaagtc gggagcgcca cacaaacctg gctataaggc ccaggaacca 2450

tataggagcc tgagacaggt cccctgcaca ttcatcatta aactatacag 2500 gatgaggctg tacatgagtt aattacaaaa gagtcatatt tacaaaaatc 2550

tgtacacaca tttgaaaaac tcacaaaatt gtcatctatg tatcacaagt 2600

tgctagaccc aaaatattaa aaatgggata aaattnnttt aaaaaaaaaa 2650

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaa 2684

<210> 42

<211> 402

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 42

```
Met Arg Arg Arg Leu Arg Leu Arg Arg Asp Ala Leu Leu Thr Leu
  1               5                  10                  15

Leu Leu Gly Ala Ser Leu Gly Leu Leu Leu Tyr Ala Gln Arg Asp
                 20                  25                  30

Gly Ala Ala Pro Thr Ala Ser Ala Pro Arg Gly Arg Gly Arg Ala
                 35                  40                  45

Ala Pro Arg Pro Thr Pro Gly Pro Arg Ala Phe Gln Leu Pro Asp
                 50                  55                  60

Ala Gly Ala Ala Pro Pro Ala Tyr Glu Gly Asp Thr Pro Ala Pro
                 65                  70                  75

Pro Thr Pro Thr Gly Pro Phe Asp Phe Ala Arg Tyr Leu Arg Ala
                 80                  85                  90

Lys Asp Gln Arg Arg Phe Pro Leu Leu Ile Asn Gln Pro His Lys
```

95 100 105

Cys Arg Gly Asp Gly Ala Pro Gly Gly Arg Pro Asp Leu Leu Ile

110 115 120

Ala Val Lys Ser Val Ala Glu Asp Phe Glu Arg Arg Gln Ala Val

125 130 135

Arg Gln Thr Trp Gly Ala Glu Gly Arg Val Gln Gly Ala Leu Val

140 145 150

Arg Arg Val Phe Leu Leu Gly Val Pro Arg Gly Ala Gly Ser Gly

155 160 165

Gly Ala Asp Glu Val Gly Glu Gly Ala Arg Thr His Trp Arg Ala

170 175 180

Leu Leu Arg Ala Glu Ser Leu Ala Tyr Ala Asp Ile Leu Leu Trp

185 190 195

Ala Phe Asp Asp Thr Phe Phe Asn Leu Thr Leu Lys Glu Ile His

200 205 210

Phe Leu Ala Trp Ala Ser Ala Phe Cys Pro Asp Val Arg Phe Val

215 220 225

Phe Lys Gly Asp Ala Asp Val Phe Val Asn Val Gly Asn Leu Leu

230 235 240

Glu Phe Leu Ala Pro Arg Asp Pro Ala Gln Asp Leu Leu Ala Gly

245 250 255

Asp Val Ile Val His Ala Arg Pro Ile Arg Thr Arg Ala Ser Lys

260 265 270

Tyr Tyr Ile Pro Glu Ala Val Tyr Gly Leu Pro Ala Tyr Pro Ala

275 280 285

Tyr Ala Gly Gly Gly Gly Phe Val Leu Ser Gly Ala Thr Leu His

290 295 300

Arg Leu Ala Gly Ala Cys Ala Gln Val Glu Leu Phe Pro Ile Asp

305 310 315

Asp Val Phe Leu Gly Met Cys Leu Gln Arg Leu Arg Leu Thr Pro

320 325 330

Glu Pro His Pro Ala Phe Arg Thr Phe Gly Ile Pro Gln Pro Ser

335 340 345

Ala Ala Pro His Leu Ser Thr Phe Asp Pro Cys Phe Tyr Arg Glu

350 355 360

Leu Val Val Val His Gly Leu Ser Ala Ala Asp Ile Trp Leu Met

365 370 375

Trp Arg Leu Leu His Gly Pro His Gly Pro Ala Cys Ala His Pro

380 385 390

Gln Pro Val Ala Ala Gly Pro Phe Gln Trp Asp Ser

395 400 402

<210> 43

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 43

acctaacgct caaggagatc cactttc 27

<210> 44

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 44

ggctccattc tgggtctgag ttagg 25

<210> 45

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 45

gcctcagctt tctgccccga cgtgcgcttc gtttttaagg 40

<210> 46

<211> 1226

<212> DNA

<213> Homo Sapien

<400> 46

atgaaagtga taatcaggca gcccaaatga ttgttaataa ggatcaaatg 50

agatcgtgta tgtgggtcca atcaattgat tctacacaaa ggagcctggg 100

gaggggccat ggtgccaatg cacttactgg ggagactgga gaagccgctt 150

ctcctcctgt gctgcgcctc cttcctactg gggctggctt tgctgggcat 200

aaagacggac atcacccccg ttgcttattt ctttctcaca ttgggtggct 250

tcttcttgtt tgcctatctc ctggtccggt ttctggaatg ggggcttcgg 300

tcccagctcc aatcaatgca gactgagagc ccagggccct caggcaatgc 350

acgggacaat gaagcctttg aagtgccagt ctatgaagag gccgtggtgg 400

gactagaatc ccagtgccgc ccccaagagt tggaccaacc acccccctac 450

agcactgttg tgataccccc agcacctgag gaggaacaac ctagccatcc 500

agaggggtcc aggagagcca aactggaaca gaggcgaatg gcctcagagg 550

ggtccatggc ccaggaagga agccctggaa gagctccaat caaccttcgg 600

cttcggggac cacgggctgt gtccactgct cctgatctgc agagcttggc 650

ggcagtcccc acattagagc ctctgactcc accccctgcc tatgatgtct 700

gctttggtca ccctgatgat gatagtgttt tttatgagga caactgggca 750

ccccccttaaa tgactctccc aagatttctc ttctctccac accagacctc 800

gttcatttga ctaacatttt ccagcgccta ctatgtgtca gaaacaagtg 850 tttctgcctg gacatcataa atggggactt ggaccctgag gagagtcagg 900

ccacggtaag cccttcccag ctgagatatg ggtggcataa tttgagtctt 950

ctggcaacat ttggtgacct accccatatc caatatttcc agcgttagat 1000

tgaggatgag gtagggaggt gatccagaga aggcggagaa ggaagaagta 1050

acctctgagt ggcggctatt gcttctgttc caggtgctgt tcgagctgtt 1100

agaaccctta ggcttgacag ctttgtgagt tattattgaa aaatgaggat 1150

tccaagagtc agaggagttt gataatgtgc acgagggcac actgctagta 1200

aataacatta aaataactgg aatgaa 1226

<210> 47

<211> 216

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 47

Met Val Pro Met His Leu Leu Gly Arg Leu Glu Lys Pro Leu Leu
1 5 10 15

Leu Leu Cys Cys Ala Ser Phe Leu Leu Gly Leu Ala Leu Leu Gly
20 25 30

Ile Lys Thr Asp Ile Thr Pro Val Ala Tyr Phe Phe Leu Thr Leu
35 40 45

Gly Gly Phe Phe Leu Phe Ala Tyr Leu Leu Val Arg Phe Leu Glu

50 55 60

Trp Gly Leu Arg Ser Gln Leu Gln Ser Met Gln Thr Glu Ser Pro

65 70 75

Gly Pro Ser Gly Asn Ala Arg Asp Asn Glu Ala Phe Glu Val Pro

80 85 90

Val Tyr Glu Glu Ala Val Val Gly Leu Glu Ser Gln Cys Arg Pro

95 100 105

Gln Glu Leu Asp Gln Pro Pro Pro Tyr Ser Thr Val Val Ile Pro

110 115 120

Pro Ala Pro Glu Glu Glu Gln Pro Ser His Pro Glu Gly Ser Arg

125 130 135

Arg Ala Lys Leu Glu Gln Arg Arg Met Ala Ser Glu Gly Ser Met

140 145 150

Ala Gln Glu Gly Ser Pro Gly Arg Ala Pro Ile Asn Leu Arg Leu

155 160 165

Arg Gly Pro Arg Ala Val Ser Thr Ala Pro Asp Leu Gln Ser Leu

170 175 180

Ala Ala Val Pro Thr Leu Glu Pro Leu Thr Pro Pro Pro Ala Tyr

185 190 195

Asp Val Cys Phe Gly His Pro Asp Asp Asp Ser Val Phe Tyr Glu

200 205 210

Asp Asn Trp Ala Pro Pro

215 216

<210> 48

<211> 1310

<212> DNA

<213> Homo Sapien

<400> 48

cggctcgagc ccgcccggaa gtgcccgagg ggccgcgatg gagctggggg 50

agccgggcgc tcggtagcgc ggcgggcaag gcaggcgcca tgaccctgat 100

tgaaggggtg ggtgatgagg tgaccgtcct tttctcggtg cttgcctgcc 150

ttctggtgct ggcccttgcc tgggtctcaa cgcacaccgc tgagggcggg 200

gacccactgc cccagccgtc agggacccca acgccatccc agcccagcgc 250

agccatggca gctaccgaca gcatgagagg ggaggcccca ggggcagaga 300

cccccagcct gagacacaga ggtcaagctg cacagccaga gcccagcacg 350

gggttcacag caacaccgcc agccccggac tccccgcagg agcccctcgt 400

gctacggctg aaattcctca atgattcaga gcaggtggcc agggcctggc 450

cccacgacac cattggctcc ttgaaaagga cccagtttcc cggccgggaa 500

cagcaggtgc gactcatcta ccaagggcag ctgctaggcg acgacaccca 550

gaccctgggc agccttcacc tccctcccaa ctgcgttctc cactgccacg 600

tgtccacgag agtcggtccc ccaaatcccc cctgcccgcc ggggtccgag 650 cccggcccct ccgggctgga aatcggcagc ctgctgctgc ccctgctgct 700

cctgctgttg ctgctgctct ggtactgcca gatccagtac cggcccttct 750

ttcccctgac cgccactctg ggcctggccg gcttcaccct gctcctcagt 800

ctcctggcct ttgccatgta ccgcccgtag tgcctccgcg ggcgcttggc 850

agcgtcgccg gcccctccgg accttgctcc ccgcgccgcg gcgggagctg 900

ctgcctgccc aggcccgcct ctccggcctg cctcttcccg ctgccctgga 950

gcccagccct gcgccgcaga ggactcccgg gactggcgga ggccccgccc 1000

tgcgaccgcc ggggctcggg gccacctccc ggggctgctg aacctcagcc 1050

cgcactggga gtgggctcct cggggtcggg catctgctgt cgctgcctcg 1100

gccccgggca gagccgggcc gccccggggg cccgtcttag tgttctgccg 1150

gaggacccag ccgcctccaa tccctgacag ctccttgggc tgagttgggg 1200

acgccaggtc ggtgggaggc tggtgaaggg gagcggggag gggcagagga 1250

gttccccgga acccgtgcag attaaagtaa ctgtgaagtt ttaaaaaaaa 1300

aaaaaaaaaa 1310

<210> 49

<211> 246

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 49

Met Thr Leu Ile Glu Gly Val Gly Asp Glu Val Thr Val Leu Phe

1 5 10 15

Ser Val Leu Ala Cys Leu Leu Val Leu Ala Leu Ala Trp Val Ser

20 25 30

Thr His Thr Ala Glu Gly Gly Asp Pro Leu Pro Gln Pro Ser Gly

35 40 45

Thr Pro Thr Pro Ser Gln Pro Ser Ala Ala Met Ala Ala Thr Asp

50 55 60

Ser Met Arg Gly Glu Ala Pro Gly Ala Glu Thr Pro Ser Leu Arg

65 70 75

His Arg Gly Gln Ala Ala Gln Pro Glu Pro Ser Thr Gly Phe Thr

80 85 90

Ala Thr Pro Pro Ala Pro Asp Ser Pro Gln Glu Pro Leu Val Leu

95 100 105

Arg Leu Lys Phe Leu Asn Asp Ser Glu Gln Val Ala Arg Ala Trp

110 115 120

Pro His Asp Thr Ile Gly Ser Leu Lys Arg Thr Gln Phe Pro Gly

125 130 135

Arg Glu Gln Gln Val Arg Leu Ile Tyr Gln Gly Gln Leu Leu Gly

140 145 150

Asp Asp Thr Gln Thr Leu Gly Ser Leu His Leu Pro Pro Asn Cys

155 160 165

Val Leu His Cys His Val Ser Thr Arg Val Gly Pro Pro Asn Pro

170 175 180

Pro Cys Pro Pro Gly Ser Glu Pro Gly Pro Ser Gly Leu Glu Ile

185 190 195

Gly Ser Leu Leu Leu Pro Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu

200 205 210

Trp Tyr Cys Gln Ile Gln Tyr Arg Pro Phe Phe Pro Leu Thr Ala

215 220 225

Thr Leu Gly Leu Ala Gly Phe Thr Leu Leu Leu Ser Leu Leu Ala

230 235 240

Phe Ala Met Tyr Arg Pro

245 246

<210> 50

<211> 1042

<212> DNA

<213> Homo Sapien

<400> 50

tttcctcact gactataaaa gaatagagaa ggaagggctt cagtgaccgg 50

ctgcctggct gacttacagc agtcagactc tgacaggatc atggctatga 100

tggaggtcca ggggggaccc agcctgggac agacctgcgt gctgatcgtg 150

atcttcacag tgctcctgca gtctctctgt gtggctgtaa cttacgtgta 200

ctttaccaac gagctgaagc agatgcagga caagtactcc aaaagtggca 250

ttgcttgttt cttaaaagaa gatgacagtt attgggaccc caatgacgaa 300 gagagtatga acagcccctg ctggcaagtc aagtggcaac tccgtcagct 350

cgttagaaag atgattttga gaacctctga ggaaaccatt tctacagttc 400

aagaaaagca acaaaatatt tctcccctag tgagagaaag aggtcctcag 450

agagtagcag ctcacataac tgggaccaga ggaagaagca acacattgtc 500

ttctccaaac tccaagaatg aaaaggctct gggccgcaaa ataaactcct 550

gggaatcatc aaggagtggg cattcattcc tgagcaactt gcacttgagg 600

aatggtgaac tggtcatcca tgaaaaaggg ttttactaca tctattccca 650

aacatacttt cgatttcagg aggaaataaa agaaaacaca aagaacgaca 700

aacaaatggt ccaatatatt tacaaataca caagttatcc tgaccctata 750

ttgttgatga aaagtgctag aaatagttgt tggtctaaag atgcagaata 800

tggactctat tccatctatc aagggggaat atttgagctt aaggaaaatg 850

acagaatttt tgtttctgta acaaatgagc acttgataga catggaccat 900

gaagccagtt ttttcggggc ctttttagtt ggctaactga cctggaaaga 950

aaaagcaata acctcaaagt gactattcag ttttcaggat gatacactat 1000

gaagatgttt caaaaaatct gaccaaaaca aacaaacaga aa 1042

<210> 51

<211> 281

<212> PRT

```
<213> Homo Sapien


<400> 51
 Met Ala Met Met Glu Val Gln Gly Gly Pro Ser Leu Gly Gln Thr
   1               5                  10                  15

 Cys Val Leu Ile Val Ile Phe Thr Val Leu Leu Gln Ser Leu Cys
                  20                  25                  30

 Val Ala Val Thr Tyr Val Tyr Phe Thr Asn Glu Leu Lys Gln Met
                  35                  40                  45

 Gln Asp Lys Tyr Ser Lys Ser Gly Ile Ala Cys Phe Leu Lys Glu
                  50                  55                  60

 Asp Asp Ser Tyr Trp Asp Pro Asn Asp Glu Glu Ser Met Asn Ser
                  65                  70                  75

 Pro Cys Trp Gln Val Lys Trp Gln Leu Arg Gln Leu Val Arg Lys
                  80                  85                  90

 Met Ile Leu Arg Thr Ser Glu Glu Thr Ile Ser Thr Val Gln Glu
                  95                 100                 105

 Lys Gln Gln Asn Ile Ser Pro Leu Val Arg Glu Arg Gly Pro Gln
                 110                 115                 120

 Arg Val Ala Ala His Ile Thr Gly Thr Arg Gly Arg Ser Asn Thr
                 125                 130                 135

 Leu Ser Ser Pro Asn Ser Lys Asn Glu Lys Ala Leu Gly Arg Lys
                 140                 145                 150

 Ile Asn Ser Trp Glu Ser Ser Arg Ser Gly His Ser Phe Leu Ser
```

155 160 165

Asn Leu His Leu Arg Asn Gly Glu Leu Val Ile His Glu Lys Gly

170 175 180

Phe Tyr Tyr Ile Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe Arg Phe Gln Glu Glu

185 190 195

Ile Lys Glu Asn Thr Lys Asn Asp Lys Gln Met Val Gln Tyr Ile

200 205 210

Tyr Lys Tyr Thr Ser Tyr Pro Asp Pro Ile Leu Leu Met Lys Ser

215 220 225

Ala Arg Asn Ser Cys Trp Ser Lys Asp Ala Glu Tyr Gly Leu Tyr

230 235 240

Ser Ile Tyr Gln Gly Gly Ile Phe Glu Leu Lys Glu Asn Asp Arg

245 250 255

Ile Phe Val Ser Val Thr Asn Glu His Leu Ile Asp Met Asp His

260 265 270

Glu Ala Ser Phe Phe Gly Ala Phe Leu Val Gly

275 280 281

<210> 52

<211> 540

<212> DNA

<213> Homo Sapien

<400> 52

atcacttctg agcacggagc aatggcctct cgctgggctg tgcagctgct 50 gctcgtggca gcctggagca tgggctgtgg tgaggccctc aagtgctaca 100

cctgcaagga gcccatgacc agtgcttcct gcaggaccat tacccgctgc 150

aagccagagg acacagcctg catgaccacg ctggtgacgg tggaggcaga 200

gtacccсttc aaccagagcc ccgtggtgac ccgctcctgc tccagctcct 250

gtgtggccac cgaccccgac agcatcgggg ccgcccacct gatcttctgc 300

tgcttccgag acctctgcaa ctcggaactc tgaacccagg gcggcagggc 350

ggaaggtgct cctcaggcac ctcctctctg acggggcctg gctccacctg 400

tgatcacctc cccctgcttc ctgctgctgt ggcacagctc actcatgggg 450

tctgagggga gagaagcaca ccaggggcgc cctctgcctt ccatacccca 500

cgcttataaa acataactaa gccaaaaaaa aaaaaaaaaa 540

<210> 53

<211> 103

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 53

Met Ala Ser Arg Trp Ala Val Gln Leu Leu Leu Val Ala Ala Trp
1 5 10 15

Ser Met Gly Cys Gly Glu Ala Leu Lys Cys Tyr Thr Cys Lys Glu
20 25 30

Pro Met Thr Ser Ala Ser Cys Arg Thr Ile Thr Arg Cys Lys Pro

35 40 45

Glu Asp Thr Ala Cys Met Thr Thr Leu Val Thr Val Glu Ala Glu

50 55 60

Tyr Pro Phe Asn Gln Ser Pro Val Val Thr Arg Ser Cys Ser Ser

65 70 75

Ser Cys Val Ala Thr Asp Pro Asp Ser Ile Gly Ala Ala His Leu

80 85 90

Ile Phe Cys Cys Phe Arg Asp Leu Cys Asn Ser Glu Leu

95 100 103

<210> 54

<211> 1183

<212> DNA

<213> Homo Sapien

<400> 54

gcggccgcgg agggaagggg tgggtcggtg ggtctgacag cgggtctgcg 50

taggcggcag cgtctgtccc tcccagcctc tcgctccgcg ccatgggcgg 100

gccccgggct ctgctggccg cactctgggc gctggaagcc gccgggaccg 150

ccgcgcttcg catcggagcc ttcaacattc agagcttcgg tgacagcaaa 200

gtgtcggacc ccgcttgcgg cagcatcatc gcgaagatcc tggctggcta 250

tgacctcgcg ctggtgcagg aggtgcgaga cccagacctc agcgccgtgt 300

ccgcgctcat ggagcagatc aacagcgtgt ccgagcacga gtacagcttt 350 gtgagcagcc agcccctggg ccgggaccag tacaaggaga tgtacctgtt 400

cgtgtacagg aaagacgcgg tgtcggtcgt ggacacctac ctgtacccag 450

accccgagga cgtcttcagc cgcgagccct tcgtggtcaa gttctcggcc 500

cccggcaccg gtgagcgggc cccgcccctc ccctcccgcc gagctctgac 550

gcccccaccc cttcccgcag cagcacagaa cctggtgctg atcccgctgc 600

acgcggcgcc gcatcaagcc gtggcggaga tcgacgcgct ctacgacgtg 650

tacctggacg tgatcgacaa gtggggcacc gacgacatgc tgttcctggg 700

cgacttcaac gccgactgca gctatgtgcg ggcgcaggac tgggccgcca 750

tccgtctgag gagcagtgag gtcttcaagt ggctcatccc tgacagcgcc 800

gacaccacgg tgggcaactc agactgcgcc tacgaccgca ttgtggcctg 850

tggcgcccgc ctgcgccgga gcctgaagcc ccagtcggcc accgtgcacg 900

acttccagga ggaattcggc ctggaccaga ctcaggctct tgccatcagc 950

gaccactttc cagtggaggt gaccctcaag ttccaccgat gactcgaggc 1000

ctgactgggg catgccacct gcagaccctg gctctgagga atggcccaac 1050

agtggcccct tcagggtggc agccaccctt cagtgaggcc ccaaggcaga 1100

gtcggctggg cgtggaccag gggcatggac acgtgatgtg ctgctctgta 1150

cctccgttcc ccatctgtgg gacgggctgg atc 1183

<210> 55

<211> 299

<212> PRT

<213> Homo Sapien

<400> 55

Met Gly Gly Pro Arg Ala Leu Leu Ala Ala Leu Trp Ala Leu Glu

1 5 10 15

Ala Ala Gly Thr Ala Ala Leu Arg Ile Gly Ala Phe Asn Ile Gln

20 25 30

Ser Phe Gly Asp Ser Lys Val Ser Asp Pro Ala Cys Gly Ser Ile

35 40 45

Ile Ala Lys Ile Leu Ala Gly Tyr Asp Leu Ala Leu Val Gln Glu

50 55 60

Val Arg Asp Pro Asp Leu Ser Ala Val Ser Ala Leu Met Glu Gln

65 70 75

Ile Asn Ser Val Ser Glu His Glu Tyr Ser Phe Val Ser Ser Gln

80 85 90

Pro Leu Gly Arg Asp Gln Tyr Lys Glu Met Tyr Leu Phe Val Tyr

95 100 105

Arg Lys Asp Ala Val Ser Val Val Asp Thr Tyr Leu Tyr Pro Asp

110 115 120

Pro Glu Asp Val Phe Ser Arg Glu Pro Phe Val Val Lys Phe Ser

125 130 135

Ala Pro Gly Thr Gly Glu Arg Ala Pro Pro Leu Pro Ser Arg Arg
                    140   145   150

Ala Leu Thr Pro Pro Pro Leu Pro Ala Ala Ala Gln Asn Leu Val
                    155   160   165

Leu Ile Pro Leu His Ala Ala Pro His Gln Ala Val Ala Glu Ile
                    170   175   180

Asp Ala Leu Tyr Asp Val Tyr Leu Asp Val Ile Asp Lys Trp Gly
                    185   190   195

Thr Asp Asp Met Leu Phe Leu Gly Asp Phe Asn Ala Asp Cys Ser
                    200   205   210

Tyr Val Arg Ala Gln Asp Trp Ala Ala Ile Arg Leu Arg Ser Ser
                    215   220   225

Glu Val Phe Lys Trp Leu Ile Pro Asp Ser Ala Asp Thr Thr Val
                    230   235   240

Gly Asn Ser Asp Cys Ala Tyr Asp Arg Ile Val Ala Cys Gly Ala
                    245   250   255

Arg Leu Arg Arg Ser Leu Lys Pro Gln Ser Ala Thr Val His Asp
                    260   265   270

Phe Gln Glu Glu Phe Gly Leu Asp Gln Thr Gln Ala Leu Ala Ile
                    275   280   285

Ser Asp His Phe Pro Val Glu Val Thr Leu Lys Phe His Arg
                    290   295   299

<210> 56

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 56

ctttgaatag aagacttctg gacaattt 28

<210> 57

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 57

ttgcaactgg gaatatacca cgacatgaga 30

<210> 58

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 58

tagggtgcta atttgtgcta taacct 26

<210> 59

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 59

ggctctgagt ctctgcttga 20

<210> 60

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 60

tccaacaacc attttcctct ggtcc 25

<210> 61

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 61

aagcagtagc cattaacaag tca 23

<210> 62

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 62

aaaggacacc gggatgtg 18

<210> 63

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 63

agcgtacact ctctccaggc aaccag 26

<210> 64

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 64

caattctgga tgaggtggta ga 22

<210> 65

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 65

caggactgag cgcttgttta 20

<210> 66

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 66

caaagcgcca agtaccggac c 21

<210> 67

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 67

ccagacctca gccaggaa 18

<210> 68

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 68

tcatggtctc gtcccattc 19

<210> 69

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 69

caccatttgt ttctctgtct ccccatc 27

<210> 70

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 70

ccggcatcct tggagtag 18

<210> 71

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 71

ctctggtgcc cacagtga 18

<210> 72

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 72

ccatgcctgc tcagccaaga a 21

<210> 73

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 73

caggaaatct ggaaacctac agt 23

<210> 74

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 74

tccccattag cacaggagta 20

<210> 75

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 75

aggctcttgc ctgtcctgct gct 23

<210> 76

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 76

gcccagagtc ccacttgt 18

<210> 77

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 77

gtccagcaag ccctcatt 18

<210> 78

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 78

cttctgggcc acagccctgc 20

<210> 79

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 79

cagttcaggt cgtttcattc a 21

<210> 80

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 80

ccagtcaggc cgttttaga 19

<210> 81

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 81

cgggcgccca agtaaaagct c 21

<210> 82

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 82

cataaagtag tatatgcatt ccagtgtt 28

<210> 83

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 83

ggaaatggtc tcaagggaaa 20

<210> 84

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 84

tcactttgac cctgtcttgg aacgtc 26

<210> 85

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 85

ggtagaattc cagcatttgg ta 22

<210> 86

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 86

aggacttgcc ctcaggaa 18

<210> 87

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 87

cgcaggacag ttgtgaaaat a 21

<210> 88

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 88

atgacgctcg tccaaggcca c 21

<210> 89

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 89

cccacctgta ccaccatgt 19

<210> 90

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 90

actccaggca ccatctgttc tccc 24

<210> 91

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 91

aagggctggc attcaagtu 19

<210> 92

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 92

ctggccctca gagcaccaat 20

<210> 93

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 93

tcctccatca cttcccctag ctcca 25

<210> 94

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 94

ctggcaggag ttaaagttcc aaga 24

<210> 95

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 95

gggcaacagc ctgagagt 18

<210> 96

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 96

actcagtgtt gattctctat cgtgatgcg 29

<210> 97

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 97

gagcagcagg catcaattt 19

<210> 98

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 98

ggcctggagt tgctgataa 19

<210> 99

<211> 37

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 99

ttgagcttaa gtagaccaag tatctatccc acctaaa 37

<210> 100

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 100

ggtgggctct gggttaca 18

<210> 101

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 101

agccggtttc ccagattat 19

<210> 102

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 102

tgccgtgtat gtggttcttc cctg 24

<210> 103

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 103

gagacaggca cctggtgat 19

<210> 104

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 104

tgtttctgcc tggacatca 19

<210> 105

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 105

gcttaccgtg gcctgact 18

<210> 106

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 106

tcctcagggt ccaagtcccc at 22

<210> 107

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 107

ccttgaaaag gacccagttt 20

<210> 108

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 108

atgagtcgca cctgctgttc cc 22

<210> 109

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 109

tagcagctgc ccttggta 18

<210> 110

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 110

aacagcaggt gcgactcatc ta 22

<210> 111

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 111

tgctaggcga cgacacccag acc 23

<210> 112

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 112

tggacacgtg gcagtgga 18

<210> 113

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 113

tggaccatga agccagttt 19

<210> 114

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 114

cctttttagt tggctaactg acctggaaag aa 32

<210> 115

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 115

tgaatagtca ctttgaggtt attgc 25

<210> 116

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 116

cctggctcca cctgtgat 18

<210> 117

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 117

acctccccct gcttcctgct g 21

<210> 118

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 118

cctcagaccc catgagtga 19

<210> 119

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 119

gaggaatggc ccaacagt 18

<210> 120

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 120

tggcagccac ccttcagtga g 21

<210> 121

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 121

cagcacatca cgtgtcca 18

<210> 122

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 122

gaggaatggc ccaacagt 18

<210> 123

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 123

tgtccatgcc cctggtccac 20

<210> 124

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Oligonucleotide Probe

<400> 124

gaggtacaga gcagcacatc a 21