(19) **Bundesrepublik Deutschland**
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 603 14 236 T2** 2008.02.14

(12) # Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) **EP 1 487 998 B1**
(21) Deutsches Aktenzeichen: **603 14 236.2**
(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/EP03/02875**
(96) Europäisches Aktenzeichen: **03 714 858.2**
(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 2003/078658**
(86) PCT-Anmeldetag: **19.03.2003**
(87) Veröffentlichungstag der PCT-Anmeldung: **25.09.2003**
(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **22.12.2004**
(97) Veröffentlichungstag der Patenterteilung beim EPA: **06.06.2007**
(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **14.02.2008**

(51) Int Cl.[8]: ***C12Q 1/68*** (2006.01)

(30) Unionspriorität:
366001 P **20.03.2002** **US**

(84) Benannte Vertragsstaaten:
AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LI, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR

(73) Patentinhaber:
Novartis AG, Basel, CH

(74) Vertreter:
Spott, Weinmiller & Böhm, 80336 München

(72) Erfinder:
BUXTON, Francis Paul, Morristown, NJ 07960, US; CARPENTER, William Twitty, Columbia, MD 21044, US; ROBERTS, Rosalinda Cusido, Columbia, MD 21045, US; TAMMINGA, Carol Ann, Dallas, TX 75209, US

(54) Bezeichnung: **VERFAHREN ZUR DIAGNOSE UND THERAPIE VON SCHIZOPHRENIE**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

Hintergrund

1. Gebiet der Erfindung

[0001] Die vorliegende Beschreibung betrifft Gene, die mit Schizophrenie korreliert sind und Verfahren zur Verwendung der Gene zur Diagnose und Behandlung von Schizophrenie.

2. Beschreibung des Stands der Technik

[0002] Schizophrenie ist eine schwere psychiatrische Störung, die gewöhnlich durch Realitätsverlust, unlogische Denkmuster, Wahnvorstellungen und Halluzinationen charakterisiert ist und in unterschiedlichem Ausmaß von anderen emotionalen, verhaltensbasierten oder intellektuellen Störungen begleitet wird. Siehe Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4. Ausgabe, American Psychiatric Association, 273-315 (1994) (DSM-IV®). Jedoch ist, wie es hierin erwähnt ist, kein einzelnes Symptom pathognomisch für Schizophrenie, deren Diagnose die Erkennung einer Konstellation an Anzeichen und Symptomen umfasst, die mit einer gestörten beruflichen oder sozialen Funktion assoziiert sind. Siehe obige Literaturstelle. Es wurden einige detektierbare physiologische Veränderungen berichtet, beispielsweise in neuropathologischen und bildgebenden Studien, die anatomische Veränderungen zeigen, die mit der Erkrankung assoziiert sind. Arnold et al., Acta Neuropathol. (Berl) 92, 217-231 (1996), Harrison, Brain 122, 593-624 (1999). Bestimmte zelluläre Aberrationen wurden beobachtet und biochemische und RNA Analysen haben Veränderungen in einigen Neurotransmitterwegen und präsynaptischen Komponenten gezeigt. Siehe obige Literaturstelle und Benes, Brain Res. Rev. 31, 251-269 (2000).

[0003] In anfänglichen Stadien und sogar bei fortgeschritteneren Stadien kann die Schizophrenie subtile Verhaltensänderungen und subtile und/oder undetektierbare Veränderungen auf zellulären und/oder molekularen Ebenen in der Struktur und Funktion des Nervensystems umfassen. Dieses Fehlen von detektierbaren neurologischen Defekten unterscheidet die Schizophrenie von anderen gut definierten neurologischen Störungen, worin anatomische oder biochemische Pathologien klar manifestiert sind. Daher besteht ein Bedarf für nicht subjektive Modalitäten zum Screening und zur Diagnose von Schizophrenie. Darüberhinaus ist eine Identifizierung der verursachenden Defekte und der Neuropathologien von Schizophrenie erforderlich, um dem Klinikarzt es zu ermöglichen, geeignete Behandlungsmaßnahmen zu evaluieren und zu verschreiben, um die Symptome von Schizophrenie in frühen Stadien zu heilen oder zu lindern oder wenn die Symptome beobachtet werden. Tatsächlich gibt es wenig effektive Therapien für die Erkrankung und deren molekulare Basis ist nicht gut verstanden.

[0004] Es wurden Verfahren entworfen, um die Veränderungen in der mRNA Expression zu überwachen, um Gene zu suchen, die in verschiedenen Erkrankungen und Störungen disreguliert sind. Bei Organismen, für die das vollständige Genom bekannt ist, ist es möglich, die Transkripte aller Gene innerhalb der Zelle zu analysieren. Mit anderen Organismen, wie dem Menschen, für den ein zunehmendes Wissen des Genoms besteht, ist es möglich, gleichzeitig eine große Anzahl an Genen innerhalb einer Zelle zu verfolgen. Die DNA Mikroarrayanalyse ist eine Technik, die die quantitative Messung der transkriptionellen Expression von mehreren tausend Genen gleichzeitig erlaubt. Diese Technik erlaubt es einem, Profile der Genexpressionsmuster sowohl in Patienten, die an Schizophrenie leiden, als auch Kontrollindividuen zu erzeugen. Demnach liefert die Bestimmung von abnormalen Mengen der Genexpression einen Hinweis für eine therapeutische Intervention.

[0005] Techniken zur Modifizierung der RNA Spiegel und Aktivitäten umfassen Ribozyme, Antisense-Spezies und RNA Aptamere und Promotormodulatoren für kleine Moleküle. Ribozyme sind RNAs, die zur Katalyse von RNA Spaltungsreaktionen fähig sind und einige können so entworfen werden, dass sie spezifisch eine bestimmte Ziel mRNA spalten können. Ribozymverfahren umfassen die Exposition einer Zelle gegenüber solchen RNA Ribozymmolekülen oder deren Induktion in einer Zelle etc. Die Aktivität einer Ziel RNA (vorzugsweise mRNA) Spezies, speziell die Translationsgeschwindigkeit, kann durch die Anwendung von Antisensenukleinsäuren gehemmt werden. "Antisense" Nukleinsäuren sind Nukleinsäuren, die zur Hybridisierung an einen sequenzspezifischen Teil der Ziel RNA fähig sind, beispielsweise deren Translationsinitiationsregion, indem sie eine Sequenz aufweisen, die zu einer kodierenden und/oder nicht-kodierenden Region komplementär ist. Die Antisensenukleinsäuren können Oligonukleotide sein, die doppelsträngig oder einzelsträngig sind, RNA oder DNA oder eine Modifikation oder ein Derivat hiervon, die intrazellulär durch die Transkription von exogenen, eingeführten Sequenzen in kontrollierbaren Mengen gebildet werden können, welche zur Störung der Translation der Ziel RNA ausreichen.

[0006] Die oben beschriebenen Techniken kommen immer mehr als wirksames Mittel zur Verringerung der Expression von spezifischen Genprodukten auf und könnten sich daher als einzigartig brauchbar in mehreren therapeutischen, diagnostischen und forschenden Anwendungen zur Modulation der Gene herausstellen, die bei schizophrenen Patienten disreguliert sind.

Zusammenfassung

[0007] In einem Aspekt wird ein Verfahren zum Screenen auf Schizophrenie in einer Population bereitgestellt, das umfasst die Bestimmung des Expressionsausmaßes eines Gens bei Vertretern einer Population, das ausgewählt ist aus der Gruppe, die besteht aus dem Gen, das für das durch Progesteron induzierte Decidualprotein (DEPP) kodiert, dem Gen, das für Adrenomedullin kodiert und dem Gen, das für das Kälteschockdomänenprotein A (CsdA) kodiert in einer Probe und den Vergleich der Größenordnung der Expression mit einer Grundliniengrößenordnung der Expression des Gens umfasst, worin die erhöhte Genexpression das Vorkommen von Schizophrenie anzeigt. Die Probe kann aus dem Gehirn, dem Rückenmark, der lymphatischen Flüssigkeit, dem Blut, dem Urin oder dem Faeces entnommen werden. In einer bevorzugten Ausführungsform wird die Probe aus dem anterioren Cingulate entnommen. In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist die Population der Mensch. In einem weiteren Aspekt wird ein Verfahren zur Diagnose von Schizophrenie in einem Wirt beschrieben, das umfasst die Bestimmung der Expressionsgrößenordnung eines Gens, das aus der Gruppe ausgewählt ist, die besteht aus dem Gen, das für das durch Progesteron induzierte Decidualprotein (DEPP) kodiert, dem Gen, das für Adrenomedullin kodiert und dem Gen, das für das Kälteschockdomänenprotein A (CsdA) kodiert in einer Probe und den Vergleich der Expressionsgrößenordnung zu einer Grundlinienexpressionsgrößenordnung des Gens, worin die erhöhte Genexpression das Vorkommen von Schizophrenie anzeigt.

[0008] Es wird ein Verfahren zur Behandlung von Schizophrenie in einem Wirt bereitgestellt, das die Verringerung der Expression eines Gens umfasst, welches aus der Gruppe ausgewählt ist, die besteht aus dem Gen, das für das durch Progesteron induzierte Decidualprotein (DEPP) kodiert, dem Gen, das für Adrenomedullin kodiert und dem Gen, das für das Kälteschockdomänenprotein A (CsdA) kodiert durch die Verabreichung einer Expressions-verringernden Menge an Antisenseoligonukleotid oder einer Expressions-verringernden Menge kleiner hemmender RNA (siRNA). In einer Ausführungsform dieses Verfahrens ist der Wirt ein Mensch.

[0009] Ebenfalls beschrieben wird ein Verfahren zur Behandlung der Schizophrenie bei einem Wirt, das umfasst die Verringerung der Expression eines Gens, welches aus der Gruppe ausgewählt ist, die besteht aus dem Gen, das für das durch Progesteron induzierte Decidualprotein (DEPP) kodiert, dem Gen, das für Adrenomedullin kodiert und dem Gen, das für das Kälteschockdomänenprotein A (CsdA) kodiert durch die Verabreichung einer Expressions-verringernden Menge eines Ribozyms, das die mit der Expression des Gens assoziierte RNA spaltet. In einem weiteren Aspekt wird ein Verfahren zur Behandlung von Schizophrenie bei einem Wirt beschrieben, das umfasst die Verringerung der Expression eines Gens, das aus der Gruppe ausgewählt ist, die besteht aus dem Gen, das für das durch Progesteron induzierte Decidualprotein (DEPP) kodiert, dem Gen, das für Adrenomedullin kodiert und dem Gen, das für das Kälteschockdomänenprotein A (CsdA) kodiert durch die Verabreichung eines oder mehrerer Nukleinsäuremoleküle, die entworfen wurden, um die Trippelhelixbildung mit diesem Gen zu fördern. In einem weiteren Aspekt wird ein Verfahren zur Behandlung der Schizophrenie beschrieben, das die Verringerung der Menge an verfügbarem DEPP, Adrenomedullin und/oder CsdA bei einem Patienten durch die Verabreichung einer wirksamen Menge an anti-DEPP, anti-Adrenomedullin und/oder anti-CsdA Antikörper umfasst. In einer Ausführungsform der obigen Verfahren ist der Wirt ein Mensch.

[0010] In einem weiteren Aspekt wird ein Screeningverfahren auf Verbindungen bereitgestellt, die zur Behandlung von Schizophrenie brauchbar sind, das umfasst die funktionsfähige Verbindung eines Reportergens, welches ein detektierbares Protein exprimiert, an eine Regulationssequenz für ein Gen, das aus der Gruppe ausgewählt ist, die besteht aus DEPP, Adrenomedullin und CsdA, unter Bildung eines Reporterkonstrukts, Transfektion einer Zelle mit dem Reporterkonstrukt, Exposition der transfizierten Zelle gegenüber einer Testverbindung und Vergleich der Expressionsmenge des Reportergens nach der Exposition gegenüber der Testverbindung zur Expressionsmenge vor der Exposition gegenüber der Testverbindung, worin eine geringere Expressionsmenge nach der Exposition eine Verbindung anzeigt, die zur Behandlung von Schizophrenie brauchbar ist.

[0011] In einem weiteren Aspekt wird die Verwendung eines transgenen Tiers bereitgestellt, das stabil in seinem Genom eine erhöhte Kopiezahl eines Gens enthält, das aus der Gruppe ausgewählt ist, die besteht aus dem Gen, das für das durch Progesteron induzierte Decidualprotein (DEPP) kodiert, dem Gen, das für Adre-

nomedullin kodiert und dem Gen, das für das Kälteschockdomänenprotein A (CsdA) kodiert, worin das Gen stärker als Grundzustandsmengen exprimiert wird und das Tier ein anormales Verhalten zeigt. In einem Aspekt umfasst das transgene Tier in seinem Genom ein Gen, das aus der Gruppe ausgewählt ist, die besteht aus dem Gen, das für das durch Progesteron induzierte Decidualprotein (DEPP) kodiert, dem Gen, das für Adrenomedullin kodiert und dem Gen, das für das Kälteschockdomänenprotein A (CsdA) kodiert, worin die Expression des Gens durch zumindest eine Veränderung in den regulatorischen Sequenzen des Gens so verstärkt ist, dass das Gen stärker als Grundzustandsmengen exprimiert wird und das Tier ein abnormales Verhalten zeigt. In einer bevorzugten Ausführungsform umfassen die eine oder mehreren Veränderungen die Substitution eines Promotors, der eine höhere Expressionsrate aufweist als der native Promotor des Gens, wobei der Promotor in einer bevorzugteren Ausführungsform ein induzierbarer Promotor ist. In einem weiteren Aspekt umfasst das transgene Knockout Tier eine homozygote Zerstörung in einem oder mehreren Genen, die aus der Gruppe ausgewählt sind, die besteht aus dem Gen, das für das durch Progesteron induzierte Decidualprotein (DEPP) kodiert, dem Gen, das für Adrenomedullin kodiert und dem Gen, das für das Kälteschockdomänenprotein A (CsdA) kodiert, worin die homozygote Zerstörung die Expression des Gens verhindert und worin die homozygote Zerstörung im transgenen Knockout Tier dazu führt, dass es verringerte Expressionsmengen des einen oder der mehreren Gene im Vergleich zu einem Wildtyptier zeigt. In einem Aspekt werden die obigen transgenen nicht-humanen Tiere verwendet, um auf therapeutische Mittel zu screenen, die die Symptome von Schizophrenie modulieren, indem eine Kandidatenverbindung den transgenen Tieren verabreicht wird und die Wirkung der Verbindung auf die mit Schizophrenie assoziierten Symptome bestimmt wird. In einer bevorzugten Ausführungsform der obigen Aspekte ist das transgene Tier ein Säuger.

Kurze Beschreibung der Figuren

[0012] Die Fig. 1 zeigt eine Nukleinsäuresequenz, die für Präproadrenomedullin kodiert.

[0013] Die Fig. 2 zeigt eine Nukleinsäuresequenz, die für DEPP kodiert.

[0014] Die Fig. 3 zeigt eine Nukleinsäuresequenz, die für das Kälteschockdomänenprotein A (CsdA) kodiert.

Detaillierte Beschreibung von bevorzugten Ausführungsformen

[0015] Die vorliegende Beschreibung basiert auf der überraschenden Feststellung, dass drei Gene, nämlich das Gen, das für das durch Progesteron induzierte Decidualprotein (DEPP) kodiert, das Gen, das für Adrenomedullin kodiert und das Gen, das für das Kälteschockdomänenprotein A (CsdA) kodiert, mit Schizophrenie in betroffenen Individuen assoziiert sind. Genauer gesagt werden diese 3 Gene im anterioren Cingulate von schizophrenen Patienten im Vergleich zu normalen Patienten hochreguliert. Demnach werden Verfahren zur Diagnose, Screening und Evaluierung von Schizophrenie gemäß der vorliegenden Erfindung bereitgestellt. Beispielsweise werden Tests zur Bestimmung der erhöhten Expressionsmengen der DEPP, CsdA und Adrenomedullin Gene bereitgestellt. Darüberhinaus können Nukleinsäuremoleküle, die DEPP, CsdA und Adrenomedullin kodieren, als diagnostische Hybridisierungssonden verwendet werden oder zum Entwerfen von Primern für eine diagnostische PCR Analyse zur Identifizierung von DEPP, CsdA oder Adremomedullingenmutationen, allelischen Variationen und regulatorischen Defekten in den DEPP, CsdA oder Adrenomedullingenen verwendet werden. Wie hierin verwendet soll "Diagnose" sich im allgemeinen auf Individuen beziehen, während "Screening" allgemein auf Populationen oder Individuen anwendbar ist. Beide Ausdrücke umfassen auch in vitro Methoden, die beispielsweise isoliertes Gewebe oder isolierte Zellen oder in Kultur angezogene Zellen umfassen. Die Erfindung umfasst auch Antikörper gegen die DEPP, CsdA und Adrenomedullingenprodukte, die verwendet werden können, um die verfügbaren Plasmaspiegel dieser Proteine zu verringern, wie auch Nukleotidsequenzen, die zur Hemmung der Genexpression verwendet werden können (beispielsweise Antisense, siRNA und Ribozymmoleküle) und Bindung an Gene oder regulatorische Sequenzen oder Ersatzkonstrukte, die zur Verringerung oder Erhöhung der Genexpression entworfen wurden (beispielsweise Trippelhelix-bildende Reste oder Expressionskonstrukte, die die Gene unter die Kontrolle eines starken Promotorsystems stellen).

[0016] Adrenomedullin ist ein potentes Vasodilatatorpeptid, das aus 52 Aminosäuren mit der folgenden Sequenz besteht: YRQSMNNFQG LRSFGCRFGT CTVQKLAHQI YQFTDKDKDN VAPRSKISPQ GY (SEQ ID Nr. 1). Der Präproadenomedullin genannte Vorläufer ist 185 Aminosäuren lang. Er wurde ursprünglich von einem humanen Phäochromozytom entdeckt und gehört zu der Calcitoningen-verwandten Peptidfamilie (CGRP). Die für das Präproadrenomedullinprotein kodierende cDNA ist in Fig. 1 gezeigt (SEQ ID Nr. 2). Das Adrenomedullin wird durch verschiedene Zelltypen hergestellt und sekretiert, beispielsweise vaskulären Endothelzellen und glatten Muskelzellen, Cardiomyocyten, Fibroblasten, Makrophagen, Neuronen, Gliazellen und Retinapigmentepithelzellen. Die Expression von Adrenomedullin wird durch Hypoxie und proinflammatorische

Cytokine induziert. Zusätzlich zu vasodilatatorischen Wirkungen hat dieses Peptid zentral hemmende Wirkungen auf das Wassertrinkverhalten und den Salzappetit, Effekte auf die Sekretion einiger Hormone und Cytokine, ionotrope Wirkungen und Effekte auf das Zellwachstum und die Apoptose. Adrenomedullin wird auch durch verschiedene nicht-endokrine Tumoren wie auch endokrine Tumoren gebildet und wirkt als Wachstumsstimulationsfaktor für die Tumorzellen. Adrenomedullin scheint bei der Pathophysiologie von vielen Erkrankungen beteiligt zu sein, einschließlich ischämischer Herzerkrankungen, entzündlichen Erkrankungen, Tumoren und sogar Augenerkrankungen. Takahashi, Tohoku J. Exp. Med. 193 (2) 79-114 (2001). Wie hierin verwendet soll "das für Adrenomedullin kodierende Gen" oder "Adrenomedullingen" Präproadrenomedullin und Adrenomedullin umfassen.

[0017] Das Decidualprotein, das durch Progesteron induziert wird (DEPP) besteht aus 212 Aminosäuren und hat die folgende Sequenz:

```
  1 MRSRLLLSVA HLPTIRETTE EMLLGGPGQE PPPSPSLDDY VRSISRLAQP TSVLDKATAQ
 61 GQPRPPHRPA QACRKGRPAV SLRDITARFS GQQPTLPMAD TVDPLDWLFG ESQEKQPSQR
121 DLPRRTGPSA GLWGPHRQMD SSKPMGAPRG RLCEARMPGH SLARPPQDGQ QSSDLRSWTF
181 GQSAQAMASR HRPRPSSVLR TLYSHLPVIH EL
```

(SEQ ID Nr. 3)

[0018] Eine cDNA Sequenz, die für DEPP kodiert, ist in Fig. 2 (SEQ ID Nr. 4) gezeigt. Die Funktion von DEPP ist derzeit unbekannt.

[0019] Kälteschockdomänenprotein A (CsdA) besteht aus 372 Aminosäuren und hat die folgende Sequenz:

```
  1 MSEAGEATTT TTTTLPQAPT EAAAAAPQDP APKSPVGSGA PQAAAPAPAA HVAGNPGGDA
 61 APAATGTAAA ASLATAAGSE DAEKKVLATK VLGTVKWFNV RNGYGFINRN DTKEDVFVHQ
121 TAIKKNNPRK YLRSVGDGET VEFDVVEGEK GAEAANVTGP DGVPVEGSRY AADRRRYRRG
181 YYGRRRGPPR NYAGEEEEEG SGSSEGFDPP ATDRQFSGAR NQLRRPQYRP QYRQRRFPPY
241 HVGQTFDRRS RVLPHPNRIQ AGEIGEMKDG VPEGAQLQGP VHRNPTYRPR YRSRGPPRPR
301 PAPAVGEAED KENQQATSGP NQPSVRRGYR RPYNYRRRPR PPNAPSQDGK EAKAGEAPTE
361 NPAPPTQQSS AE
```

(SEQ ID Nr. 5)

[0020] CsdA ist ein Vertreter der Familie der Transkriptionsregulatoren. Es wird berichtet, dass er an den Promotor von GM-CSF bindet und diesen reprimiert. Eine cDNA Sequenz, die für CsdA kodiert (SEQ ID Nr. 6) ist in Fig. 3 gezeigt.

[0021] Die überraschenden Expressionseigenschaften von DEPP, CsdA und Adrenomedullingenen werden durch die Untersuchung der anterioren Cingulateproben nach dem Tod von schizophrenen und normalen Individuen aufgeklärt. Proben, die eine hochqualitative RNA aufweisen, werden zur weiteren Untersuchung verwendet. Der Fachmann ist mit Techniken vertraut, die zur Bestimmung der Expressionsmengen verwendet werden können. Beispielsweise können reverse Transkriptasetests oder eine DNA Mikroarrayanalyse mittels der Genchiptechnologie ausgeführt werden. Unterschiedlich exprimierte Gene können mittels mehrerer Verfahren identifiziert werden, die gemäß etablierter Prinzipien entwickelt wurden. Die statistische Signifikanz der Expressionsunterschiede zwischen den Probengruppen kann mittels des 1-Tests, ANOVA oder nicht-parametrischer Tests bestimmt werden. Gemäß der vorliegenden Erfindung werden einige Gene in schizophrenen Patienten hochreguliert, während andere im Vergleich zu Grundlinienspiegeln oder normalen Spiegeln herabreguliert sind. Die Ausdrücke "normal" und "Grundlinie" werden hierin austauschbar verwendet. Die Grundlinienspiegel werden mittels herkömmlicher statistischer Techniken in Zusammenhang mit einer Analyse einer allgemeinen Population von Nicht-Schizophrenen definiert. Siehe beispielsweise Beispiel 1 hierin. Es sollte im allgemeinen verstanden werden, dass Verfahren, falls hierin nichts anderes angegeben wird, gemäß allgemein anerkannter Prinzipien ausgeführt werden, die dem Fachmann bekannt sind.

[0022] Die quantitiative rtPCR (Q-PCR) kann mit denselben Proben ausgeführt werden, die für die oben beschriebene Expressionsspiegelanalyse verwendet werden. Nach einer Umwandlung der RNA in cDNA mittels reverser Transkriptase kann, obwohl jede herkömmliche PCR Technik verwendet werden kann, eine bevorzugte Technik auf der TaqMan® Technik basieren (Perkin Elmer Corp., Foster City, CA). In herkömmlichen PCR Tests werden die Oligonukleotidprimer komplementär zu den 5' und 3' Enden der DNA Sequenz von Interesse entworfen. Während der Thermozyklen wird die DNA hitzedenaturiert. Die Probe wird dann auf Annelierungs- und Verlängerungstemperaturen gebracht, worin die Primer an ihre spezifischen Komplemente binden und werden durch die Zugabe von Nukleotidtriphosphaten durch Taq Polymerase verlängert. Mit wiederholtem

Thermocycling wird die Menge der Matrizen DNA amplifiziert. Die Gegenwart eines Farbstoffs, wie SybrGreen®, der stark fluoresziert, wenn er an DNA gebunden wird, erlaubt die Echtzeitverfolgung der Gesamtmenge an DNA Produkt im Röhrchen. Durch die Messung dieses Signals kann das amplifizierte Produkt quantifiziert werden. Der Grenzwertzyklus (C_T), bei dem das Fluoreszenzsignal messbar unterschiedlich zum Hintergrundrauschen wird, ist ein akurates Maß für die Ausgangsmenge an cDNA im Röhrchen und somit der RNA im Röhrchen. Dieses Verfahren erlaubt die Quantifizierung der Gene in einer komplexen RNA, indem auf spezifische DNAs gezielt wird. Von den Genen, die anfänglich durch eine Mikroarrayanalyse identifiziert wurden, dass sie in schizophrenen Patienten unterschiedlich exprimiert werden, wurde von dreien gezeigt, nämlich dem durch Progesteron induzierten Decidualprotein (DEPP), CsdA und Adrenomedullin, dass sie in dem ursprünglichen und einem weiteren unabhängigen Satz an RNA Proben reguliert werden.

[0023] In einem Aspekt wird ein Verfahren zum Screening auf Schizophrenie in einer Population bereitgestellt, das umfasst die Bestimmung des Expressionsausmaßes eines Gens bei Vertretern einer Population, das ausgewählt ist aus der Gruppe, die besteht aus dem Gen, das für das durch Progesteron induzierte Decidualprotein (DEPP) kodiert, dem Gen, das für Adrenomedullin kodiert und dem Gen, das für das Kälteschockdomänenprotein A (CsdA) kodiert in einer Probe und den Vergleich der Größenordnung der Expression mit einer Grundliniengrößenordnung der Expression des Gens umfasst, worin die erhöhte Genexpression das Vorkommen von Schizophrenie anzeigt. In einem weiteren Aspekt wird ein Verfahren zur Diagnose von Schizophrenie bei einem Wirt bereitgestellt, das die Bestimmung der Expressionsgrößenordnung eines Gens umfasst, das ausgewählt ist aus der Gruppe, die besteht aus dem Gen, das für das durch Progesteron induzierte Decidualprotein (DEPP) kodiert, dem Gen, das für Adrenomedullin kodiert und dem Gen, das für das Kälteschockdomänenprotein A (CsdA) kodiert, in einer Probe und Vergleich der Expressionsgrößenordnung mit einer Grundlinie der Expressionsgrößenordnung des Gens, worin die erhöhte Genexpression das Vorkommen von Schizophrenie anzeigt. In einem der obigen Screening- oder Diagnoseaspekte kann die Probe beispielsweise aus dem Gehirn, dem Rückenmark, der lymphatischen Flüssigkeit, dem Blut, dem Urin oder den Faeces entnommen werden. In einer bevorzugten Ausführungsform wird die Probe aus dem anterioren Cingulate entnommen. In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist die Population der Mensch. Es sind dem Fachmann mehrere Techniken bekannt, um die Genexpression in einer Probe zu messen. Beispielsweise kann die RNA aus einem Zelltyp oder einem Gewebe, wovon bekannt ist oder der Verdacht besteht, dass es das DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullingen exprimiert, wie das Gehirn, mittels Hybridisierung oder PCR Techniken isoliert und getestet werden, wie dies oben beschrieben ist. Die isolierte RNA kann aus einer primären Zellkultur von einem Patienten oder direkt aus einer biologischen Probe von einem Patienten stammen.

[0024] In einem weiteren Aspekt liefert die vorliegende Erfindung die Verwendung eines Gens, das aus der Gruppe ausgewählt ist, die besteht aus dem Gen, das für das durch Progesteron induzierte Decidualprotein (DEPP) kodiert, dem Gen, das für Adrenomedullin kodiert und dem Gen, das für das Kälteschockdomänenprotein A (CsdA) kodiert, zum Screening von Verbindungen, die zur Behandlung der Schizophrenie brauchbar sind. Die Verfahren umfassen die Identifizierung von Kandidatenverbindungen oder Testverbindungen, die DEPP oder Adrenomedullin oder CsdA binden und/oder eine stimulatorische oder hemmende Wirkung auf die Aktivität oder die Expression von DEPP oder Adrenomedullin oder CsdA haben. Vorzugsweise erfolgt nach der Identifizierung der Kandidatenverbindungen oder Testverbindungen eine weitere Bestimmung, welche der Verbindungen, die DEPP oder Adrenomedullin oder CsdA binden, einen stimulatorischen oder hemmenden Effekt auf die Aktivität oder die Expression von DEPP oder Adrenomedullin oder CsdA aufweist, eine Wirkung auf die Schizophrenie in einem in vivo Test aufweisen, wie beispielsweise ein transgenes Tier, wie dies durch die vorliegende Erfindung beschrieben ist.

[0025] In einer Ausführungsform eines solchen Detektionsschemas wird ein cDNA Molekül aus einem RNA Molekül von Interesse synthetisiert (beispielsweise durch reverse Transkription des RNA Moleküls in cDNA). Eine Sequenz innerhalb der cDNA wird dann als Matrize für eine Nukleinsäureamplifikationsreaktion, wie eine PCR Amplifikationsreaktion, oder dergleichen verwendet. Die Nukleinsäurereagenzien, die als Syntheseinitiationsreagenzien (beispielsweise Primer) in der reversen Transkription und den Nukleinsäureamplifizierungsschritten dieses Verfahrens verwendet werden, werden aus den DEPP, CsdA oder Adrenomedullingennukleinsäurereagenzien ausgewählt. Dem Fachmann sind die Techniken zum Entwerfen und Erhalten geeigneter Primer bekannt. Siehe beispielsweise Tabelle 1 im späteren Beispiel 2. Die bevorzugten Längen solcher Nukleinsäurereagenzien betragen mindestens 9 bis 30 Nukleotide. Zur Detektion des amplifizierten Produkts kann die Nukleinsäureamplifizierung mittels radioaktiv oder nicht-radioaktiv markierter Nukleotide ausgeführt werden. Alternativ dazu kann ausreichend ampimfiziertes Produkt so hergestellt werden, dass das Produkt durch Standardethidiumbromidfärbung oder durch Verwendung jedes anderen geeigneten Nukleinsäurefärbeverfahrens sichtbar gemacht werden kann.

[0026] Zusätzlich ist es möglich, solche DEPP, CsdA oder Adrenomedullingenexpressionstests "in situ" auszuführen, das heißt direkt auf Gewebeschnitten (fixiert und/oder gefroren) von Patientengewebe, das aus Biopsien oder Resektionen erhalten wurde, so dass keine Nukleinsäurereinigung erforderlich ist.

[0027] Nukleinsäurereagenzien, wie die oben beschriebenen, können als Sonden und/oder Primer für solche in situ Verfahren verwendet werden. Alternativ dazu kann, falls eine ausreichende Menge der geeigneten Zellen erhalten werden kann, eine Northern Standardanalyse ausgeführt werden, um die Mengen der mRNA Expression der DEPP, CsdA oder Adrenomedullingene zu bestimmen.

[0028] Ohne Berücksichtigung des zur Quantifizierung der Expression der DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullingene verwendeten Verfahrens wird das Expressionsniveau in einem Individuum unbekannter Ätiologie mit einem bekannten normalen Expressionsniveau verglichen. Falls das Expressionsniveau eines oder mehr als eines dieser Gene über dem Normal- oder Grundlinienniveau um etwa 25 % erhöht ist, kann eine Diagnose der Schizophrenie ausgesprochen oder bestätigt werden. Die Bestimmung von größeren Mengen kann für die Schwere der Erkrankung indikativ sein.

[0029] Wie in den Beispielen unten gezeigt, kann eine Technik zur Etablierung der Grundlinienmengen eine quantitative Echtzeit PCR umfassen. Der Fachmann ist mit mehreren Techniken vertraut, die zum Testen der Probenpopulationen verwendet werden können, um statistisch gefestigte Ergebnisse zu erhalten. Beispielsweise wird bei der Ausführung dieser Technik eine Probe von einer Population normaler Individuen ausgewählt. Die Probe sollte ausreichend divers in Bezug auf Alter, Geschlecht, sozialer Status, geographischer Verteilung, vorheriger Arzneimittel- und Medizinhistorien, etc. sein und eine ausreichende Größe aufweisen, um einen statistisch brauchbaren Wert bereitzustellen. Daher wird die Expression der DEPP, CsdA oder Adrenomedullingene in der Probe von Interesse gemessen, die die Verteilung in der normalen Population definiert. Dann werden Grundlinienmengen zugeordnet. Es wird auch ein Satz an erkrankten Individuen getestet, um die Validität des Tests durch den Vergleich der Ergebnisse der erkrankten Probe mit denen der normalen Probe zu bestimmen.

[0030] Gemäß der vorliegenden Beschreibung können die Symptome der DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullingen vermittelten Schizophrenie durch die Verringerung der Menge an DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullingenexpression und/oder DEPP, CsdA und Adrenomedullingenproduktaktivität gelindert werden, indem man entsprechende DEPP, CsdA und Adrenomedullingensequenzen zusammen mit gut bekannten Antisense, siRNA, Gen "Knock-out", Ribozym und/oder Trippelhelixmethoden verwendet, um die Menge an DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullingenexpression zu verringern. Unter den Verbindungen, die die Fähigkeit zur Modulierung der Aktivität, Expression oder Synthese des DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullingens zeigen, einschließlich der Fähigkeit zur Linderung der Symptome einer DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullin-vermittelten Schizophrenie, befinden sich Antisense-, Ribozym- und Trippelhelixmoleküle. Solche Moleküle können entworfen werden, um entweder die ungesteuerte oder geeignetenfalls Mutantenzielgenaktivität zu reduzieren oder zu hemmen. Techniken zur Herstellung und Verwendung solcher Moleküle sind dem Fachmann gut bekannt.

[0031] Antisense RNA und DNA Moleküle wirken durch die Blockierung der Translation von mRNA durch die Hybridisierung mit der Ziel mRNA und der Verhinderung der Proteintranslation. Antisenseansätze umfassen den Entwurf von Oligonukleotiden, die zur Zielgen mRNA komplementär sind. Die Antisenseoligonukleotide binden an die komplementären Zielgen mRNA Transkripte und verhindern die Translation. Eine absolute Komplementarität ist jedoch nicht erforderlich.

[0032] Es kann auch doppelsträngige RNA (dsRNA) verwendet werden, um die Genexpression durch einen Mechanismus zu hemmen, der im allgemeinen in der Technik als RNA Interferenz (RNAi) bekannt ist. RNAi ist beispielsweise in US 6 506 559 A oder in WO 02 44 321 A oder WO 01 75 164 A beschrieben. Die Länge der dsRNA ist für die RNAi gemäß der vorliegenden Erfindung nicht entscheidend, jedoch sind bevorzugte dsRNAs solche, die im allgemeinen in der Technik als kleine hemmende RNAs (siRNAs) bekannt sind. In einer bevorzugten Ausführungsform sind die siRNAs kurze dsRNAs mit einer Länge von 19 bis 25 Nukleotiden. Am bevorzugtesten sind dsRNAs mit einer Länge von 21 bis 23 Nukleotiden. Die dsRNAs können stumpfendig sein oder an zumindest einem Ende entweder mit Schlaufen, die sich aus Ribonukleotiden oder Desoxyribonukleotiden zusammensetzen oder einem chemisch synthetisierten Linker (WO 00 44 895 A) ligiert sein. In einer bevorzugten Ausführungsform enthält die Ribonukleinsäure Nukleotidüberhänge am 3'-Ende des Antisensestrangs und/oder dem Sensestrang der dsRNA aus mindestens einem Ribonukleotid oder Desoxyribonukleotid oder modifiziertem Nukleotid. Bevorzugt sind Überhänge mit 1, 2, 3 oder 4 Nukleotiden. Die Überhänge können sowohl Ribonukleotide als auch Desoxyribonukleotide enthalten, die zusätzlich modifizierte Zuckerreste ent-

halten können. Der Überhang kann jede Sequenz aufweisen, aber in einer bevorzugten Ausführungsform ist der Überhang komplementär zum mRNA Zielstrang. In einer anderen bevorzugten Ausführungsform enthält der Überhang zumindest eine UU Gruppe oder dTdT Gruppe. In einer anderen bevorzugten Ausführungsform weist der Überhang auf dem Antisensestrang das vorletzte überhängende Nukleotid komplementär zum mRNA Zielstrang auf. Vorzugsweise ist ein solcher Überhang ein Überhang aus 2 Nukleotiden. In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform setzt sich der Überhang aus 4 Us zusammen. In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist die letzte 3'-Position der siRNA eine Hydroxylgruppe. Zusätzlich kann das 5'-Ende eine Hydroxyl- oder Phosphatgruppe sein.

[0033] Eine Sequenz, die "komplementär" zu einem Teil einer RNA ist, wie dies hierin erwähnt wird, meint eine Sequenz, die eine ausreichende Komplementarität aufweist, um zur Hybridisierung mit der RNA unter Bildung eines stabilen Doppelstrangs zu hybridisieren, wobei im Fall von doppelsträngigen Antisensenukleinsäuren ein Einzelstrang der Doppelstrang DNA so getestet werden kann oder die Trippelhelixbildung getestet werden kann. Die Fähigkeit zur Hybridisierung hängt sowohl vom Maß der Kornplementarität als auch der Länge der Antisensenukleinsäure ab. Im allgemeinen gilt je länger die hybridisierende Nukleinsäure ist, desto mehr Basenfehlpaarungen mit einer RNA kann sie enthalten und immer noch einen stabilen Doppelstrang bilden (oder Tripelhelix, je nachdem wie dies der Fall ist). Der Fachmann kann ein tolerierbares Maß an Fehlpaarungen durch die Verwendung von Standardverfahren sicherstellen, indem er den Schmelzpunkt des hybridisierten Komplexes bestimmt.

[0034] In einer Ausführungsform können Oligonukleotide, die zu kodierenden oder nicht-kodierenden Regionen der DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullingene komlementär sind, in einem Antisense oder RNAi Ansatz verwendet werden, um die Translation von endogener DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullin mRNA zu hemmen. Basierend auf den in den **Fig. 1** bis **Fig. 3** präsentierten Sequenzen oder auf allelischen oder homologen genomischen DNA Sequenzen kann der Fachmann leicht eines einer Vielzahl an geeigneten Antisense oder siRNA Molekülen zur Verwendung gemäß der vorliegenden Erfindung auswählen und synthetisieren. Anitsensenukleinsäuren sollten zumindest 6 Nukleotide lang sein und sind vorzugsweise Oligonukleotide, die in der Länge von 6 bis etwa 50 Nukleotiden reichen. In bestimmten bevorzugten Aspekten beträgt die Oligonukleotidlänge etwa 8 bis etwa 30 Nukleotide.

[0035] Geeignete Antisenseoligonukleotide umfassen hierin modifizierte Oligonukleotide, die eine erhöhte Stabilität und Zielfindung zeigen oder die andererseits eine erhöhte therapeutische Wirksamkeit aufweisen. Beispiele für modifizierte Oligonukleotide umfassen jene, worin (1) zumindest 2 Nukleotide kovalent über eine synthetische Internukleosidbindung gebunden sind (das heißt eine andere Bindung als eine Phosphodiesterbindung zwischen dem 5' Ende des einen Nukleotids und dem 3' Ende des anderen Nukleotids) und/oder (2) eine chemische Gruppe, die normalerweise nicht mit Nukleinsäuren assoziiert ist, kovalent an das Oligonukleotid gebunden wurde. Beispiele für synthetische Internukleosidbindungen sind Phosphorothioate, Alkylphosphonate, Phosphordithioate, Phosphatester, Alkylphosphonothioate, Phosphoramidate, Carbamate, Phosphattriester, Acetamidate, Peptide und Carboxymethylester. Modifizierte Oligonukleotide können auch kovalent modifizierte Basen und/oder Zucker aufweisen. Beispiele sind Oligonukleotide, die Rückgratzucker aufweisen, die kovalent an andere niedermolekulare organische Gruppen als eine Hydroxylgruppe an der Position 3' gebunden sind und an andere als eine Phosphatgruppe an der Position 5' gebunden sind. Die so modifizierten Oligonukleotide können eine 2'-O-alkylierte Ribosegruppe umfassen. Zusätzlich können modifizierte Oligonukleotide Zucker umfassen, wie Arabinose anstelle von Ribose. Modifizierte Oligonukleotide können auch Basenanaloga umfassen, wie C-5 Propin-modifizierte Basen.

[0036] Antisenseoligonukleotide oder siRNA Moleküle können durch Standardtechniken synthetisiert werden, die in der Technik bekannt sind, beispielsweise durch die Verwendung eines automatisierten DNA Synthesegeräts (wie sie im Handel von Biosearch, Applied Biosystems etc. erhältlich sind). Als Beispiele können Phosphorthioatoligonukleotide durch das Verfahren von Stein et al. (1988, Nucl. Acids Res. 16, 3209) synthetisiert werden und Methylphosphonatoligonukleotide können durch die Verwendung von Glaspolymerträgern mit kontrollierten Poren hergestellt werden (Sarin et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85, 7448-7451) etc.

[0037] Während Antisensenukleotide, die komplementär zur kodierenden Region des Zielgens sind, verwendet werden können, sind jene, die zur transkribierten, untranslatierten Region komplementär sind, am meisten bevorzugt. Eine bevorzugte Stelle in dieser Region umfasst das Translationsinitiations- oder -terminationscodon des offenen Leserahmens (ORF) des Gens. Dem Fachmann sind verschiedene geeignete Initiations- oder Terminationscodons sowohl in Eukaryonten als auch in Prokaryonten bekannt.

[0038] Antisense oder siRNA Moleküle können an Zellen abgegeben werden, die das Zielgen in vivo oder in

vitro exprimieren. Es wurden mehrere Verfahren zur Abgabe von Antisense DNA oder RNA oder siRNAi an Zellen entwickelt, beispielsweise können Antisense Moleküle direkt in die Gewebestelle injiziert werden oder modifizierte Antisensemoleküle, die zur Auffindung der gewünschten Zellen entworfen wurden (beispielsweise Antisense, die an Peptide oder Antikörper gebunden sind, die spezifisch Rezeptoren oder Antigene bilden, die auf der Zielzelloberfläche exprimiert werden) können systemisch verabreicht werden. Eine bevorzugte Technik umfasst die Konstruktion eines Vektors, der einen starken Promotor bereitstellt, um eine starke Expression und gute Ausbeute der Antisense oder siRNA Oligonukleotide an der Zielstelle bereitzustellen. Die Verwendung eines solchen Konstrukts zur Transfektion der Zielzellen im Patienten führt zur Transkription von ausreichenden Mengen an einzelsträngigen RNAs, die komplementäre Basenpaare mit den endogenen Zielgentranskripten bilden und hierbei die Translation der Zielgen mRNA verhindern oder führt zur Transkription einer ausreichenden Menge an einzelsträngigen RNAs komplementär zueinander, was eine dsRNA bildet, die zur Hemmung der Genexpression durch RNAi fähig ist. Beispielsweise kann ein Vektor so eingeführt werden, dass er durch eine Zelle aufgenommen wird und die Transkription einer Antisense RNA steuert. Ein solcher Vektor kann episomal bleiben oder chromosomal integriert werden, so lange er unter Bildung der gewünschten Antisense RNA transkribiert werden kann. Solche Vektoren können durch rekombinante DNA Technologieverfahren konstruiert werden, die in der Technik bekannt sind. Vektoren können beispielsweise Plasmide, Viren oder andere sein, die typischerweise zur Replikation und Expression in Säugerzellen verwendet werden. Es sollte verständlich sein, dass die Expression der Sequenz, die für die Antisense RNA kodiert, jeder Promotor sein kann, der in der Technik verwendet werden kann, um in Säugern, vorzugsweise humanen Zellen zu wirken. Solche Promotoren können induzierbar oder konstitutiv sein. Jeder Typ eines Plasmids, Cosmids, YAC, BAC oder viralen Vektors kann verwendet werden, um das rekombinante DNA Konstrukt herzustellen, das direkt in die Gewebestelle eingeführt werden kann. Alternativ dazu können virale Vektoren verwendet werden, die selektiv das gewünschte Gewebe infizieren, wobei die Verabreichung durch einen anderen Weg erreicht werden kann (beispielsweise systemisch).

[0039] Ebenfalls beschrieben ist die Verwendung von einem oder mehreren Antisense oder siRNA Molekülen, die spezifisch die Expression von DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullingenen hemmen, zur Herstellung eines Arzneimittels, das zur Behandlung der Schizophrenie brauchbar ist.

[0040] Ribozymmoleküle, die zur katalytischen Spaltung des mRNA Transkripts des Zielgens entworfen wurden, können auch zur Prävention oder Verringerung der Translation der DEPP, CsdA oder Adrenomedullinzielgen RNA und hiermit der Expression des Zielgenprodukts verwendet werden (siehe beispielsweise WO 90 11 364 A vom 4. Oktober 1990, Sarver et al., 1990, Science 247, 1222-1225). Die Ribozyme sind enzymatische RNA Moleküle, die zur Katalyse der spezifischen Spaltung der RNA fähig sind. Der Mechanismus der Ribozymwirkung umfasst die sequenzspezifische Hybridisierung des Ribozymmoleküls zur komplementären Ziel RNA, gefolgt von einem endonukleolytischen Spaltungsereignis. Die Zusammensetzung der Ribozymmoleküle muss eine oder mehrere Sequenzen umfassen, die komplementär zur Zielgen mRNA sind und muss gut bekannte katalytische Sequenzen umfassen, die für die mRNA Spaltung verantwortlich sind. Siehe für diese Sequenz US 5 093 246 A.

[0041] Ribozyme, die die mRNA an ortsspezifischen Erkennungsstellen spalten, können zur Zerstörung der Zielgen mRNAs verwendet werden. Beispielsweise können Hammerkopfribozyme verwendet werden, um die mRNA an Stellen zu spalten, die durch die flankierenden Regionen vorgegeben werden, die komplementäre Basenpaare mit der Ziel mRNA bilden. Die einzige Voraussetzung ist, dass die Ziel mRNA die folgende Sequenz von zwei Basen aufweist: 5'-UG-3'- Die Konstruktion und Herstellung von Hammerkopfribozymen ist in der Technik gut bekannt. Vorzugsweise wird das Ribozym so verändert, dass die Spalterkennungsstelle nahe dem 5'-Ende der Zielgen mRNA liegt, das heißt um die Effizienz zu steigern und die intrazelluläre Akkumulation von unfunktionellen Proteinfragmenten zu vermeiden. Geeignete Ribozyme umfassen auch RNA Endoribonukleasen, wie die, welche natürlich in Tetrahymena thermophila vorkommen (bekannt als IVS oder L-19 IVS RNA). Dieser Ribozymtyp weist ein 8 Basen umfassendes aktives Zentrum auf, das mit der Ziel RNA Sequenz hybridisiert, um die Spaltung der Ziel RNA zu bewirken.

[0042] Wie im Antisenseansatz können die Ribozyme sich aus modifizierten Oligonukleotiden zusammensetzen (beispielsweise für eine verbesserte Stabilität, Zielfindung etc.) und sollten an Zellen abgegeben werden, die das Zielgen in vivo exprimieren. Ein bevorzugtes Verfahren zur Abgabe umfasst die Verwendung eines DNA Konstrukts, das für das Ribozym unter der Kontrolle eines starken, konstitutiven Promotors steht, so dass transfizierte Zellen ausreichende Mengen des Ribozyms bilden, um endogene DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullingenabschriften zu zerstören und die Translation zu hemmen. Da Ribozyme im Gegensatz zu Antisensemolekülen katalytisch sind, ist eine geringere intrazelluläre Konzentration für ihre Effizienz erforderlich.

[0043] Alternativ dazu kann die endogene DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullingenexpression verringert werden, indem die Desoxyribonukleotidsequenzen, die komplementär zur regulatorischen Region der Ziel DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullingene (das heißt Zielgenpromotor und/oder Enhancer) sind, unter Bildung von Trippelhelixstrukturen angegangen werden, was die Transkription des Zielgens in den Zielzellen im Körper verhindert. Nukleinsäuremoleküle, die in der Trippelhelixbildung zur Hemmung der Transkription verwendet werden, sollten einzelsträngig sein und aus Desoxynukleotiden zusammengesetzt sein. Die Basenzusammensetzung dieser Oligonukleotide muss so entworfen werden, dass sie die Trippelhelixbildung durch die Hoogsteen Basenpaarungsregeln fördert, die im allgemeinen das Vorkommen von großen Abschnitten von entweder Purinen oder Pyrimidinen auf einem Strang des Duplex erfordern. Nukleotidsequenzen können Pyrimidin-basiert sein, was zu TAT und CGC^+ Tripplets über die 3 assoziierten Stränge der entstehenden Trippelhelix führt. Die Pyrimidin-reichen Moleküle liefern Basen, die komplementär zu einer Purin-reichen Region eines Einzelstrangs des Duplex in einer parallelen Orientierung zu dem Strang bereitstellen. Zusätzlich können Nukleinsäuremoleküle ausgewählt werden, die Purin-reich sind, beispielsweise einen Abschnitt von G Resten enthalten. Diese Moleküle bilden eine Trippelhelix mit einem DNA Duplex, der reich in GC Paaren ist, worin die Mehrzahl der Purinreste auf einem Strang des in Frage kommenden Duplex liegt, was zu GGC Tripplets über die 3 Stränge im der Trippelhelix führt.

[0044] Alternativ dazu können die potentiellen Sequenzen, die für die Trippelhelixbildung in Frage kommen, durch die Erzeugung sogenannter "Switchback" Nukleinsäuremoleküle erhöht werden. Switchback-Moleküle werden in einer alternierenden 5'-3', 3'-5 Weise so synthetisiert, dass sie zuerst mit einem Strang des Duplex und dann mit dem anderen basenpaaren, was die Erfordernis für das Vorkommen eines größeren Abschnitts aus entweder Purinen oder Pyrimidinen auf einem Strang des Duplex eliminiert.

[0045] Ebenfalls beschrieben wird die Verwendung eines oder mehrerer Ribozyme oder Nukleinsäuremoleküle, die eine Trippelhelixbildung fördern, die spezifisch die Expression von DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullingenen zur Herstellung eines Arzneimittels hemmt, das zur Behandlung der Schizophrenie brauchbar ist.

[0046] Antisense RNA und DNA, siRNA Ribozym und Trippelhelixmoleküle, die hierin beschrieben sind, können durch jedes in der Technik bekannte Verfahren zur Synthese von DNA und RNA Molekülen hergestellt werden, wie dies oben beschrieben ist. Diese umfassen Techniken zur chemischen Synthese von Oligodesoxyribonukleotiden und Oligoribonukleotiden, die in der Technik gut bekannt sind, wie beispielsweise chemische Festphasenphosphoramiditsynthese. Alternativ dazu können RNA Moleküle durch in vitro und in vivo Transkription von DNA Sequenzen erzeugt werden, die für das Antisense RNA Molekül kodieren. Solche DNA Sequenzen können in einer große Vielzahl an Vektoren eingebaut werden, die geeignete RNA Polymerasepromotoren aufweisen, wie die T7 oder SP6 Polymerasepromotoren. Alternativ dazu können Antisense cDNA Konstrukte, die Antisense RNA konstitutiv oder induzierbar in Abhängigkeit des verwendeten Promotors synthetisieren, stabil in die Zelllinien eingeführt werden.

[0047] In einem weiteren Aspekt liefert die vorliegende Erfindung die Verwendung eines Gens, das aus der Gruppe ausgewählt ist, die besteht aus dem Gen, das für das durch Progesteron induzierte Decidualprotein (DEPP) kodiert, dem Gen, das für Adrenomedullin kodiert und dem Gen, das für das Kälteschockdomänenprotein A (CsdA) kodiert, als Biomarker für Schizophrenie. Zusätzlich liefert die Erfindung Verfahren zum Screenen eines Individuums zur Bestimmung, ob Biomarker für Schizophrenie vorkommen, um eine Diagnose zu bestätigen, die auf rein klinischen Beobachtungen gemacht wurde. Die Erindung liefert auch Verfahren zur Verfolgung der Schwere oder Progression der Schizophrenie bei einem Individuum.

[0048] Ein Verfahren zur Modulierung von DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullin zur Behandlung der Schizophrenie wird durch die Exposition von neutralisierenden Antikörpern gegenüber DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullinproteinen bereitgestellt. Durch die Bereitstellung einer kontrollierten Exposition gegenüber solchen Antikörpern können die Proteinmengen/Proteinaktivitäten kontrollierbar modifiziert werden. Beispielsweise können Antikörper gegenüber geeigneten Epitopen auf Proteinoberflächen das Vorkommen verringern und somit indirekt die Aktivität der aktiven Wildtypform von DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullinproteinen durch Aggregation von aktiven Formen zu Komplexen mit geringer oder minimaler Aktivität im Vergleich zur nicht aggregierten Wildtypform verringern. Alternativ dazu können die Antikörper direkt die Proteinaktivität beispielsweise durch die direkte Wechselwirkung mit aktiven Zentren oder durch die Blockierung des Zugangs von Substraten zum aktiven Zentrum verringern. In jedem Fall können Antikörper gegen spezifische Proteinspezies erzeugt werden und ihre Effekte gescreent werden. Die Effekte der Antikörper können getestet werden und geeignete Antikörper können ausgewählt werden, die die Zielproteinspezieskonzentration und/oder deren Aktivität verringern. Solche Tests umfassen die Einführung von Antikörpern in eine Zelle oder ein umgebendes Medium und den Test der Konzentration der Wildtypmenge oder der Aktivitäten des Zielproteins durch Standard-

verfahren (wie Immuntests), die in der Technik bekannt sind. Die Nettoaktivität der Wildtypform kann durch Testmittel getestet werden, die für die bekannte Aktivität des Zielproteins geeignet sind.

[0049] In einem weiteren Aspekt wird auch die Verwendung eines Antikörpers oder mehrerer Antikörper, die spezifisch an ein Epitop von DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullinproteine binden, zur Herstellung eines Arzneimittels beschrieben, das zur Behandlung der Schizophrenie brauchbar ist.

[0050] Antikörper können in Zellen auf mehrere Wege eingeführt werden, einschließlich beispielsweise Mikroinjektion von Antikörpern in eine Zelle (Morgan et al., 1988, Immunology Today 9: 84-86) oder Transformation von Hybridom mRNA, die für einen gewünschten Antikörper kodiert, in eine Zelle (Burke et al., 1984, Cell 36: 847-858). In einer weiteren Technik können rekombinante Antikörper entworfen werden und ektop in einer großen Vielzahl an nicht lymphoiden Zelltypen exprimiert werden, um an die Zielproteine zu binden, wie auch die Zielproteinaktivitäten zu blockieren. Vorzugsweise ist die Expression des Antikörpers unter der Kontrolle eines kontrollierbaren Promotors, wie dem Tet Promotor. Ein erster Schritt ist die Selektion eines bestimmten monoklonalen Antikörpers mit einer geeigneten Spezifität gegenüber dem Zielprotein. Dann können Sequenzen, die für die variablen Regionen des ausgewählten Antikörpers kodieren, in verschiedene konstruierte Antikörperformate kloniert werden, einschließlich beispielsweise ganze Antikörper, Fab Fragmente, Fv Fragmente, Einketten Fv Fragmente (VH und VL Regionen, die durch einen Peptidlinker eine Einheit bilden) ("ScFv" Fragmente), Diabodies (zwei assoziierte Sc-Fv Fragmente mit unterschiedlichen Spezifitäten) und so weiter. Intrazellulär exprimierte Antikörper der verschiedenen Formate können in zelluläre Kompartimente geführt werden, indem sie als Fusionen mit den verschiedenen intrazellulären Signalsequenzen exprimiert werden.

[0051] Verfahren zur Herstellung von Antikörpern, die zur spezifischen Erkennung von einem oder mehreren DEPP, CsdA oder Adrenomedullingenproduktepitopen oder Epitopen von konservierten Varianten oder Peptidfragmenten der DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullingenprodukte sind in der Technik gut bekannt. Solche Antikörper umfassen unter anderem polyklonale Antikörper, monoklonale Antikörper (mAbs), humanisierte oder chimäre Antikörper, Einkettenantikörper, Fab Fragmente, $F(ab')_2$ Fragmente, Fragmente, die durch eine Fab Expressionsbank hergestellt wurden, anti-idiotypische (anti-Id) Antikörper und Epitop-bindende Fragmente der obigen.

[0052] Solche Antikörper können beispielsweise auch in der Detektion eines DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullingenprodukts in einer biologischen Probe verwendet werden und daher als Teil einer diagnostischen oder prognostischen Technik verwendet werden, worin die Patienten auf abnormale Mengen an DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullingenprodukte getestet werden und/oder auf das Vorkommen von abnormalen Formen solcher Genprodukte. Solche Antikörper können auch zusammen mit beispielsweise Verbindungsscreeningschemata zur Evaluierung des Effekts der Testverbindungen auf DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullingenproduktmengen und/oder deren Aktivität verwendet werden.

[0053] Zur Herstellung von Antikörpern gegen ein DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullingenprodukt können verschiedene Wirtstiere durch die Injektion mit einem DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullingenprodukt oder einem Teil hiervon immunisiert werden. Solche Wirtstiere können unter anderen Kaninchen, Mäuse und Ratten umfassen, um einige zu nennen. Es können verschiedene Adjuvantien verwendet werden, um die immunologische Reaktion in Abhängigkeit der Wirtsspezies zu erhöhen, einschließlich unter anderem Freund (komplettes und inkomplettes), Mineralgele, wie Aluminiumhydroxid, oberflächenaktive Substanzen, wie Lysolecithin, pluronische Polyole, Polyanionen, Peptide, Ölemulsionen, Keyhole Limpet Hämocyanin, Dinitrophenol und potentiell brauchbare humane Adjuvantien, wie BCG (Bacille Calmette-Guerin) und Corynebacterium parvum.

[0054] Polyklonale Antikörper sind heterogene Populationen von Antikörpermolekülen, die von Seren von Tieren abgeleitet wurden, die mit einem Antigen immunisiert wurden, wie dem DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullingenprodukt oder einem antigenen funktionellen Derivat hiervon. Zur Herstellung von polyklonalen Antikörpern können Wirtstiere, wie die oben erwähnten, durch die Injektion mit DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullin immunisiert werden, das wie oben mit Adjuvantien supplementiert ist.

[0055] Monoklonale Antikörper, die homogene Populationen von Antikörpern gegen ein bestimmtes Antigen sind, können durch jede Technik erhalten werden, die für die Bildung von Antikörpermolekülen durch kontinuierliche Zelllinien in Kultur sorgt. Diese umfassen unter anderem die Hybridomtechnik von Köhler und Milstein (1975, Nature, 256: 495-497 und US 4 376 110 A), die humane B-Zellhybridomtechnik (Kosbor et al., 1983, Immunology Today 4: 72, Cole et al., 1983, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 80: 2026-2030) und die EBV-Hybridomtechnik (Cole et al., 1985, Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy, Alan R. Liss, Inc. Seiten 77-96). Solche Antikörper können einer Immunglobulinklasse angehören, einschließlich IgG, IgM, IgE, IgA, IgD und jeder Un-

terklasse hiervon. Die Hybridome, die den mAb bilden, können in vitro oder in vivo kultiviert werden.

[0056] Zusätzlich können Techniken, die zur Herstellung von "chimären Antikörpern" entwickelt wurden (Morrison et al., 1984, Proc. Natl. Acad. Sci., 81: 6851-6855, Neuberger et al., 1984, Nature, 312: 604-608, Takeda et al., 1985, Nature, 314: 452-454) durch Spleißen der Gene aus dem Mausantikörpermolekül mit geeigneter Antigenspezifität zusammen mit Genen aus einem humanen Antikörpermolekül mit geeigneter biologischer Aktivität verwendet werden. Ein chimärer Antikörper ist ein Molekül, worin unterschiedliche Teile aus unterschiedlichen Tierspezies abgeleitet sind, wie jene, die eine variable Region aufweisen, die von einem Maus mAb und einer konstanter Region des humanen Immunglobulins abgeleitet sind. Es wurden auch Techniken zur Produktion von humanisierten Antikörpern entwickelt. (siehe beispielsweise Queen, US 5 585 089 A). Eine variable Region der leichten oder schweren Kette eines Immunglobulins setzt sich aus einer "Frameworkregion" zusammen, die durch 3 hypervariable Regionen unterbrochen ist, die als komplementäritätsbestimmende Regionen (CDRs) bezeichnet werden. Das Ausmaß der Frameworkregion und der CDRs wurde genau definiert (siehe beispielsweise "Sequences of Proteins of Immunological Interest", E. Kabat et al., US Department of Health and Human Services (1983)). Kurz gesagt sind humanisierte Antikörper Antikörpermoleküle aus nicht-humanen Spezies mit einer oder mehreren CDRs aus der nicht-humanen Spezies und einer Frameworkregion aus einem humanen Immunglobulinmolekül. Alternativ dazu können Techniken, die zur Herstellung von Einkettenantikörpern beschrieben sind (US 4 946 788 A, Bird, 1988, Science 242: 423-426, Huston et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85: 5879-5883 und Ward et al., 1989, Nature 334: 544-546), unter Bildung von Einkettenantikörpern gegen DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullingenprodukte angepasst werden. Einzelkettenantikörper werden durch die Fragmente der schweren und leichten Kette der Fv Region über eine Aminosäurebrücke gebildet, was zu einem Einkettenpolypeptid führt.

[0057] Antikörperfragmente, die spezifische Epitope erkennen, können durch bekannte Techniken erzeugt werden. Beispielsweise können solche Fragmente unter anderem umfassen: Die $F(ab')_2$ Fragmente, die durch einen Pepsinverdau des Antikörpermoleküls hergestellt werden können und die Fab Fragmente, die durch die Reduktion der Disulfidbrücken von $F(ab')_2$ Fragmenten hergestellt werden können. Alternativ dazu können Fab Expressionsbanken konstruiert werden (Huse et al., 1989, Science, 246: 1275-1281), um eine schnelle und leichte Identifizierung von monoklonalen Fab Fragmenten mit der gewünschten Spezifität zu erlauben.

[0058] Antikörper oder Antikörperfragmente, wie jene, die oben beschrieben sind, können verwendet werden, um quantitativ oder qualitativ das Vorkommen von DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullingenprodukten oder konservierten Varianten oder Peptidfragmenten hiervon zu detektieren. Dies kann durch beispielsweise Immunfluoreszenztechniken erreicht werden, die einen Fluoreszenz-markierten Antikörper gekuppelt mit lichtmikroskopischen, durchflusscytometrischen oder fluorometrischen Detektion verwenden.

[0059] Die Antikörper (oder Fragmente hiervon), die in der vorliegenden Erfindung brauchbar sind, können histologisch, wie in der Immunfluoreszenz- oder Immunelektronenmikroskopie, zur in situ Detektion von DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullingenprodukten, konservierten Varianten oder Peptidfragmenten hiervon verwendet werden. Die in situ Detektion kann durch die Entfernung einer histologischen Probe aus einem Patienten und der Anwendung eines markierten Antikörpers hierauf erreicht werden, der ein DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullinpolypeptid bindet. Der Antikörper (oder ein Fragment) wird vorzugsweise so verwendet, dass er mit einem markierten Antikörper (oder Fragment) in einer biologischen Probe überschichtet wird. Durch die Verwendung eines solchen Verfahrens ist es nicht nur möglich das Vorkommen von DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullin, konservierte Varianten oder Peptidfragmente zu bestimmen, sondern auch die Verteilung im untersuchten Gewebe. Unter Verwendung der vorliegenden Erfindung erkennt der Fachmann, dass jedes einer großen Vielzahl an histologischen Verfahren (wie Färbeverfahren) modifiziert werden kann, um die in situ Detektion von DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullin zu erreichen.

[0060] Immuntests für DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullin, konservierte Varianten oder Peptidfragmente hiervon umfassen typischerweise die Inkubation einer Probe, wie einer biologischen Flüssigkeit, ein Gewebeextrakt, frisch geerntete Zellen oder Lysate von Zellen in Gegenwart eines detektierbaren markierten Antikörpers, der zur Identifizierung von DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullin fähig ist, konservierte Varianten oder Peptidfragmente hiervon und die Detektion des gebundenen Antikörpers durch eines von mehreren Verfahren, die in der Technik gut bekannt sind. Die biologische Probe kann mit einem Festphasenmaterial oder Träger in Kontakt gebracht werden und hierauf immobilisiert werden, wie Nitrocellulose, welche zur Immobilisierung von Zellen, Zellpartikeln oder löslichen Proteinen fähig sind. Der Träger kann dann mit geeigneten Puffern gewaschen werden, wonach eine Behandlung mit den detektierbaren markierten DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullin spezifischen Antikörpern erfolgt. Der Festphasenträger kann dann mit dem Puffer ein zweites Mal gewaschen werden, um ungebundenen Antikörper zu entfernen. Die Menge an gebundener Markierung auf dem

festen Träger kann dann durch herkömmliche Verfahren detektiert werden.

[0061] Einer der Wege, worin die DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullin spezifischen Antikörper detektierbar markiert werden können, ist durch Bindung derselben an ein Enzym, wie es in einem Enzymimmuntest (EIA) verwendet wird. Das Enzym, das an den Antikörper gebunden ist, reagiert mit einem geeigneten Substrat, vorzugsweise einem chromogenen Substrat auf eine Weise, um eine chemische Einheit zu bilden, die beispielsweise durch spektrophotometrische, fluorimetrische oder durch visuelle Mittel detektiert werden kann. Enzyme, die als detektierbare Markierung am Antikörper verwendet werden können, sind gut bekannt. Die Detektion kann durch colorimetrische Verfahren erreicht werden, die ein chromogenes Substrat für das Enzym verwenden. Die Detektion kann auch durch den visuellen Vergleich des Ausmaßes an enzymatischer Umsetzung eines Substrats im Vergleich mit ähnlich hergestellten Standards erreicht werden. Die Detektion kann auch mittels einer Vielzahl an anderen Immuntests erreicht werden. Beispielsweise ist es durch radioaktive Markierung der Antikörper oder Antikörperfragmente möglich, DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullin durch die Verwendung eines Radioimmuntests (RIA) zu detektieren. Das radioaktive Isotop kann durch Mittel detektiert werden, wie der Verwendung eines gamma-Zählers oder eines Scintillationszählers oder durch Autoradiographie. Es ist auch möglich, den Antikörper mit einer Fluoreszenzverbindung zu markieren. Wenn der Fluoreszenz-markierte Antikörper Licht der richtigen Wellenlänge ausgesetzt wird, kann dessen Anwesenheit dann aufgrund der Fluoreszenz detektiert werden. Unter den am häufigsten verwnedeten Fluoreszenzmarkierungsverbindungen sind grün fluoreszierendes Protein, Fluoresceinisothiocyanat, Rhodamin, Phycoerythrin, Phycocyanin, Allophycocyanin, o-Phthaldehyd und Fluorescamin. Der Antikörper kann auch mittels Fluoreszenzemittierender Metalle detektierbar markiert werden, wie ^{152}Eu oder andere der Lanthanidreihe. Diese Metalle können an den Antikörper mittels Metallchelatgruppen, wie Diethylentriaminpentaessigsäure (DTPA) oder Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) gebunden werden. Der Antikörper kann detektierbar durch Kupplung an eine chemilumineszente Verbindung markiert werden. Das Vorkommen des Antikörpers mit Chemilumineszenzanhang wird dann durch die Detektion des Vorkommens von Lumineszenz bestimmt, die wärend dem Verlauf einer chemischen Reaktion auftritt. Beispiele für besonders brauchbare Chemilumineszenzmarkierungsverbindungen sind Luminol, Isoluminol, theromatischer Acridiniumester, Imidazol, Acridiniumsalz und Oxalatester. Ähnlich kann eine biolumineszente Verbindung verwendet werden, um den in der vorliegenden Erfindung verwendeten Antikörper zu markieren. Biolumineszenz ist ein Typ einer Chemilumineszenz, der in biologischen Systemen gefunden wird, worin ein katalytisches Protein die Effizienz der chemilumineszenten Reaktion erhöht. Das Vorkommen eines biolumineszenten Proteins wird durch die Detektion des Vorkommens von Lumineszenz bestimmt. Wichtige biolumineszente Verbindungen für die Zwecke der Markierung umfassen Luciferin, Luciferase und Aequorin.

[0062] Die vorliegende Erfindung umfasst die Herstellung von Tiermodellen, die abnormale Expressionsmengen von DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullin aufweisen, um die Effekte von erhöhten oder verringerten Mengen dieser Proteine in solchen Tieren zu untersuchen. Solche Tiere liefern Testsubjekte zur Bestimmung der Effekte von therapeutischen oder potentiell therapeutischen Verbindungen auf die Schizophrenie. Demnach können die DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullingenprodukte in transgenen Tieren exprimiert werden. Es können Tiere jeder Spezies, einschließlich unter anderem Mäuse, Ratten, Kaninchen, Meerschweinchen, Schweine, Minischweine, Ziegen, Schafe und nicht-humane Primaten, beispielsweise Gibbons, Affen und Schimpansen verwendet werden, um transgene DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullin Tiere zu erzeugen. Der Ausdruck "transgen", wie er hierin verwendet wird, bezieht sich auf Tiere, die DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullingensequenzen von einer unterschiedlichen Spezies (beispielsweise Mäuse, die humanes DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullingensequenzen) exprimieren, wie auch Tiere, die genetisch verändert wurden, um endogen (das heißt in derselben Spezies) DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullinsequenzen überzuexprimieren oder Tiere, die genetisch verändert wurden, um DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullingensequenzen nicht länger zu exprimieren (das heißt "Knockout" Tiere) und ihre Nachkommen.

[0063] Es kann jedes in der Technik bekannte Verfahren verwendet werden, um DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullingene in Tiere einzuführen, um die Gründerlinien von transgenen Tieren herzustellen. Solche Techniken umfassen unter anderem pronukleäre Mikroinjektion (Hoppe und Wagner, 1989, US 4 873 191 A), Retrovirus-vermittelter Gentransfer in Keimlinien (Van der Putten et al., 1985, Proc. Natl. Acad. Sci., USA 82, 6148-6152), Genzielführung in embryonalen Stammzellen (Thompson et al., 1989, Cell 56, 313-321), Elektroporation von Embryos (Lo, 1983, Mol. Cell. Biol. 3, 1803-1814) und Spermienvermittelten Gentransfer (Iavitrano et al., 1989, Cell 67, 717-723) (Für eine Zusammenfassung solcher Techniken siehe Gordon 1989, Transgenic Animals, Intl. Rev. Cytol. 115, 171-229). Jedes in der Technik bekannte Verfahren kann verwendet werden, um transgene Tierklone herzustellen, die das DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullintransgen enthalten, beispielsweise Kerntransfer in entkernte Oocyten von Kernen aus kultivierten embryonalen, fetalen oder ausgewachsenen Zellen, die in den Ruhezustand versetzt wurden (Campbell et al., 1996, Nature 380, 64-66, Wil-

mut et al., 1997, Nature 385, 810-813).

[0064] Die vorliegende Erfindung umfasst die Verwendung von transgenen Tieren, die ein DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullintransgen in allen ihren Zellen aufweisen, wie auch Tiere, die das Transgen in einigen, aber nicht allen ihren Zellen tragen, das heißt Mosaiktiere. Das Transgen kann als einzelnes Transgen oder in Concatameren integriert werden, beispielsweise Kopf-an-Kopf Tandems oder Kopf-an-Schwanz Tandems. Das Transgen kann auch selektiv in einen bestimmten Zelltyp eingeführt und aktiviert werden, indem man die Beschreibung von Lasko befolgt (Lasko et al., 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89, 6232-6236). Die regulatorischen Sequenzen, die für eine solche Zelltyp-spezifische Aktivierung erforderlich sind, hängen von dem bestimmten Zelltyp von Interesse ab und sind dem Fachmann bekannt. Wenn es gewünscht wird, dass das DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullintransgen in die chromosomale Stelle des endogenen DEPP, CsdA und/oder Adremomedullingens integriert werden, wobei die Genzielführung bevorzugt ist. Kurz gesagt werden, wenn eine solche Technik verwendet wird, Vektoren, die einige Nukleotidsequenzen enthalten, die homolog zum endogenen DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullingen sind, zum Zweck der Integration durch homologe Rekombination mit chromosomalen Sequenzen in die Nukleotidsequenz des endogenen DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullingens und der Zerstörung deren Funktion entworfen. Das Transgen kann auch selektiv in einen bestimmten Zelltyp eingeführt werden, wobei das endogene DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullingen in nur einem Zelltyp inaktiviert wird, wenn man beispielsweise die Beschreibung von Gu et al., 1994, Science 265, 103-106 befolgt. Die regulatorischen Sequenzen, die für eine solche Zelltyp-spezifische Inaktivierung erforderlich sind, hängen vom bestimmten Zelltyp von Interesse ab und sind dem Fachmann bekannt.

[0065] Wie oben erwähnt werden auch transgene Knockouttiere hierin umfasst. In solchen transgenen Tieren ist die DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullingenexpression nicht detektierbar oder unsignifikant. Es kann jedes in der Technik bekannte Verfahren zur Herstellung solcher transgenen Knockout Tiere verwendet werden. Dies kann durch eine Vielzahl an Mechanismen erreicht werden, beispielsweise der Veränderung aller DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullingene, beispielsweise durch die Einführung einer Zerstörung der kodierenden Sequenz, beispielsweise der Insertion eines oder mehrerer Stopcodons, Insertion eines DNA Fragments, Deletion einer regulatorischen oder kodierenden Sequenz, Substitution von Stopcodons für die kodierende Sequenz etc. Die transgenen Tiere können entweder homozygot oder heterozygot in Bezug auf die Veränderung sein. Ein funktioneller Knockout kann auch durch die Einführung eines Antisensekonstrukts erreicht werden, das die Expression der nativen Gene blockiert. Knockouts umfassen auch konditionale Knockouts, worin die Veränderung des Zielgens auftritt bei der Exposition des Tieres gegenüber einer Substanz, die eine Zielgenveränderung fördert, Einführung eines Enzyms, das die Rekombination an der Zielgenstelle fördert oder anderer Methoden zur Steuerung der Zielgenveränderung nach der Geburt.

[0066] Wenn transgene Tiere erzeugt wurden, kann die Expression des rekombinanten DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullingens mittels Standardtechniken getestet werden. Es kann ein anfängliches Screening durch eine Southern Blot Analyse oder PCR Techniken erreicht werden, um die Tiergewebe zu testen, ob die Integration des Transgens stattgefunden hat. Die Menge an mRNA Expression des Transgens in den Geweben der transgenen Tiere können auch mittels Techniken untersucht werden, die oben beschrieben sind und jenen, die unter anderem Northern Blot Analyse der aus einem Tier erhaltenen Gewebeproben, in situ Hybridisierungsanalyse und RT-PCR (reverse Transkriptase PCR) umfassen. Proben des DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullingen-exprimierenden Gewebes können auch immuncytochemisch mittels Antikörper evaluiert werden, die für das DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullintransgenprodukt spezifisch sind.

[0067] Durch die Verwendung dieser transgenen Tiere oder hiervon abgeleiteter Zellen kann man Liganden oder Substrate identifizieren, die Phänomene modulieren, die mit Schizophrenie assoziiert sind, beispielsweise Verhaltensphänomene. Es kann eine große Vielzahl an Tests für diesen Zweck verwendet werden, einschließlich Verhaltensstudien, Bestimmung der Lokalisation von Arzneimitteln nach der Verabreichung und dergleichen. In Abhängigkeit des bestimmten Tests können Tiere verwendet werden, oder Zellen die hieraus abgeleitet sind. Zellen können frisch aus einem Tier isoliert werden oder können in Kultur immortalisiert werden. Zellen von besonderem Interesse leiten sich aus Nervengewebe ab.

[0068] Der Ausdruck "therapeutisches Mittel", wie er hierin verwendet wird, beschreibt jedes Molekül, beispielsweise Protein, Kohlenhydrat, Metall oder organische Verbindung mit der Fähigkeit der Beeinflussung der molekularen und klinischen Phänomene, die mit Schizophrenie assoziiert sind. Im allgemeinen kann eine Vielzahl an Testgemischen parallel mit unterschiedlichen Verbindungskonzentrationen gefahren werden, um eine differenzielle Reaktion auf die verschiedenen Konzentrationen zu erhalten. Typischerweise dient eine dieser Konzentrationen als Negativkontrolle, das heißt bei einer Konzentration von null oder unterhalb des Detektionslevels.

[0069] Therapeutische Kandidatenverbindungen umfassen mehrere chemische Klassen, obwohl sie typischerweise organische Moleküle sind, vorzugsweise kleine organische Verbindungen mit einem Molekulargewicht von mehr als 50 und weniger als etwa 2500 Dalton. Die Kandidatenverbindungen umfassen funktionelle Gruppen, die für die strukturelle Interaktion mit Proteinen erforderlich sind, insbesondere Wasserstoffbrückenbindung und umfassen typischerweise zumindest eine Amin-, Carbonyl-, Hydroxyl- oder Carboxylgruppe, vorzugsweise zumindest zwei der funktionellen chemischen Gruppen. Die therapeutischen Kandidatenverbindungen umfassen oft cyclische Kohlenstoffstrukturen oder heterocyclische Strukturen und/oder aromatische oder polyaromatische Strukturen, die mit einer oder mehreren der obigen funktionellen Gruppen substituiert sind. Therapeutische Kandidatenmittel finden sich auch unter Biomolekülen, einschließlich unter anderem: Peptide, Saccharide, Fettsäuren, Steroide, Purine, Pyrimidine, Derivate, Strukturanaloga oder Kombinationen hiervon.

[0070] Wie oben erwähnt können Antikörper, die für DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullingenprodukte spezifisch sind, in den Screeningimmuntests verwendet werden, um die Menge solche Produkte in einer Zelle oder Probe zu detektieren. Die Anzahl an Zellen in einer Probe beträgt im allgemeinen etwa 10^3, gewöhnlich mindestens 10^4 oder gewöhnlich etwa 10^5. Die Zellen können im Fall von soliden Geweben dissoziiert werden oder es können Gewebeschnitte analysiert werden. Alternativ dazu kann ein Lysat der Zellen hergestellt werden. Beispielsweise kann die Detektion die Färbung von Zellen oder histologischen Schnitten verwenden, die gemäß herkömmlicher Verfahren ausgeführt werden. Die Antikörper von Interesse werden zu der Zellprobe gegeben und für einen Zeitraum inkubiert, der die Bindung des Epitops gewöhnlich für mindestens etwa 10 Minuten erlaubt. Der Antikörper kann mit Radioisotopen, Enzymen, Fluoreszenzmolekülen, Chemilumineszenzmitteln oder anderen Markierungen für eine direkte Detektion markiert werden. Alternativ dazu wird ein Antikörper oder ein Reagenz der zweiten Stufe verwendet, um das Signal zu amplifizieren. Solche Reagenzien sind in der Technik gut bekannt. Beispielsweise kann der primäre Antikörper an Biotin gebunden sein, wobei Meerrettichperoxidase-konjugiertes Avidin als Reagenz der zweiten Stufe zugegeben wird. Die schließliche Detektion verwendet ein Substrat, das eine Farbänderung in Gegenwart von Peroxidase durchmacht. Die Abwesenheit oder Anwesenheit einer Antikörperbindung kann durch verschiedene Verfahren bestimmt werden, einschließlich Durchflusscytometrie dissoziierter Zellen, Mikroskopie, Radiographie, Scintillationszählung, etc.

[0071] Es sind mehrere Tests in der Technik zur Bestimmung des Effekts eines Arzneimittels auf das Tierverhalten und andere mit Schizophrenie assoziierte Phänomene bekannt. Einige Beispiele werden bereitgestellt, obwohl es vom Fachmann verstanden wird, dass andere Tests ebenfalls verwendet werden können. Die in Frage kommenden Tiere können selbst oder in Kombination mit Kontrolltieren verwendet werden.

[0072] Das Screening mittels der transgenen Tiere der Erfindung kann jedes mit Schizophrenie assoziierte Phänomen verwenden, das leicht in einem Tiermodell untersucht werden kann. Das Screening auf Schizophrenie kann die Untersuchung des Phänomens umfassen, einschließlich unter anderem: 1) Analyse von Molekularmarkern (beispielsweise Expressionsmengen an DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullingenprodukten in Gehirngewebe, Anwesenheit/Abwesenheit von verschiedenen DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullinspleißvarianten im Gehirngewebe, 2) Untersuchung der Verhaltenssymptome, die mit Gedächtnis und Lernen assoziiert sind und 3) Detektion der Neurodegeneration. Vorzugsweise umfasst das Screening Kontrollwerte (beispielsweise die Menge an DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullinbildung im Testtier in Abwesenheit von Testverbindungen). Die Testsubstanzen, die als positiv erachtet werden, das heißt wahrscheinlich bei der Behandlung von Schizophrenie nützlich sind, sind jene, die einen substanziellen Effekt auf ein mit Schizophrenie assoziiertes Phänomen haben (beispielsweise Testmittel, die dazu fähig sind, fehlerhaftes oder abnormales Verhalten zu normalisieren oder die Menge an DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullinbildung innerhalb des normalen Bereichs zu verringern).

[0073] Die vorliegende Erfindung umfasst die Verwendung von Zell-basierten Tests oder Zelllysattests (beispielsweise in vitro Transkriptions- oder Translationstests), um auf Verbindungen oder Zusammensetzungen zu screenen, die die DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullingenexpression modulieren. Schließlich können Konstrukte, die eine Reportersequenz an ein regulatorisches Element eines oder aller der Gene gebunden enthalten, die für DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullin kodieren, verwendet werden, um in veränderten Zellen oder in Zelllysatextrakten auf Verbindungen zu screenen, die die Expression des Reportergenprodukts auf Transkriptionsebene modulieren. Beispielsweise können solche Tests verwendet werden, um Verbindungen zu identifizieren, die die Expression oder Aktivität von Transkriptionsfaktoren modulieren, die bei der Expression der Gene beteiligt sind, die für DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullin kodieren, oder um die Aktivität von Trippelhelixpolynukleotiden zu testen. Alternativ dazu können veränderte Zellen oder Translationsextrakte zum Screenen von Verbindungen verwendet werden (einschließlich Antisense- und Ribozymkonstrukte), die die Translation von DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullin mRNA Transkripte modulieren und daher die Expression der DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullingenprodukte beeinflussen. Daher sind regulatorische Regio-

nen, wie ein Promotor, operativ an ein Gen gebunden, das für ein Reportermolekül kodiert, wie grünes Fluoreszenzprotein (GFP), Luciferase und dergleichen, um ein Reporterkonstrukt zu erzeugen, das durch DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullinregulationssequenzen reguliert wird. Das Genkonstrukt wird dann in eine gewünschte Zelle transfiziert, wie eine neuronale Zelle. Die Grundlinienexpressionsmengen des Reportermoleküls werden dann mittels herkömmlicher Verfahren berechnet. Dann wird die Zelle gegenüber einer Testverbindung ausgesetzt und die Expressionsmenge des Reportermoleküls wird bestimmt und mit den Grundlinienmengen verglichen. Eine Verbindung, die die Menge an Reporterexpression verringert, ist ein Kandidat zur Behandlung der Schizophrenie. Es kann dann ein zweites Screeningverfahren ausgeführt werden, um zu bestimmen, ob die Verbindung die Expressionsmenge der Gene beeinflusst, die für DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullin kodieren, indem man die Menge an RNA oder Protein aus den nativen Genen misst. Die Konstruktion von neuronalen Zellen, die ein Reportergen zur Bestimmung des Effekts der Verbindungen auf die Expression enthalten, ist bekannt, siehe beispielsweise Asselbergs et al., Nucleic Acids Res. 27: 1826-1833 (1998).

[0074] Antisenseverbindungen, Ribozyme, Antikörper und andere DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullin Knockout Vorrichtungen oder Modulatoren (kollektiv aus Einfachheitsgründen als die "Modulatoren" bezeichnet), wie sie hierin beschrieben sind, können gemischt, verkapselt, konjugiert oder ansonsten mit anderen Molekülen, molekularen Strukturen oder Verbindungsgemischen assoziiert werden, wie beispielsweise Liposomen, Rezeptor-gerichtete Moleküle, orale, rektale, topische oder andere Formulierungen zur Erleichterung der Aufnahme, Verteilung und/oder Absorption. Der Fachmann ist mit sehr vielen Techniken vertraut, um solche Vorrichtungen herzustellen.

[0075] Es wird berücksichtigt, dass die Modulatoren alle pharmazeutisch annehmbaren Salze, Ester oder Salze solcher Ester umfassen oder jede andere Verbindung, die nach der Verabreichung an ein Tier, einschließlich einem Menschen, zur Bereitstellung (direkt oder indirekt) eines biologisch aktiven Metaboliten oder eines Rests hiervon fähig ist. Demnach bezieht sich die Beschreibung auch auf Prodrugs und pharmazeutisch annehmbare Salze der erfindungsgemäßen Verbindungen, pharmazeutisch annehmbare Salze solcher Prodrugs und andere Bioäquivalente. Der Ausdruck "pharmazeutisch annehmbare Salze" bezieht sich auf physiologisch und pharmazeutisch annehmbare Salze der erfindungsgemäßen Verbindungen: Das heißt Salze, die die gewünschte biologische Aktivität der Ausgangsverbindung behalten und keine unerwünschten toxikologischen Effekte hervorrufen. Solche Verbindungen können gemäß herkömmlicher Verfahren durch einen Fachmann hergestellt werden. (Berge et al., "Pharmaceutical Salts", J. of Pharma Sci., 1977, 66, 1-19). Der Ausdruck "Prodrug" zeigt ein therapeutisches Mittel an, das in inaktiver Form hergestellt wird, welche in eine aktive Form (das heißt das Arzneimittel) innerhalb des Körpers oder der Zellen hiervon durch die Wirkung von endogenen Enzymen oder anderen Chemikalien und/oder Zuständen umgewandelt wird. Insbesondere können Prodrugversionen der Oligonukleotide als SATE [(S-Acetyl-2-thioethyl)phosphat]derivate gemäß den Verfahren hergestellt werden, die in WO 93 24 510 A von Gosslin et al. oder in WO 94 26 764 A von Imbach et al. beschrieben sind.

[0076] Die Modulatoren hierin können für Diagnostika, Therapeutika, Prophylaxe und als Forschungsreagenzien und Kits verwendet werden. Für Therapeutika kann ein Tier, vorzugsweise ein Mensch, der im Verdacht steht, eine schizophrene Erkrankung oder eine Störung aufzuweisen, welche durch die Modulation der Expression eines oder mehrerer der durch DEPP, CsdA und/oder Adrenomedullin regulierten Gene behandelt werden kann, durch die Verabreichung von Modulatoren gemäß der Erfindung behandelt werden. Die Modulatoren können in pharmazeutischen Zusammensetzungen durch die Zugabe einer wirksamen Menge eines oder mehrerer Modulatoren zu einem geeigneten pharmazeutisch annehmbaren Verdünnungsmittel oder Träger verwendet werden. Der Fachmann ist mit mehreren Techniken und Formulierungen vertraut, die zur Herstellung von pharmazeutischen Zusammensetzungen verwendet werden. Die pharmazeutischen Zusammensetzungen der vorliegenden Erfindung können auf mehrere Wege in Abhängigkeit davon verabreicht werden, ob eine lokale oder systemische Behandlung erwünscht ist und vom zu behandelnden Bereich. Die Verabreichung kann topisch (einschließlich ophthalmologisch und an Mukosamembranen, einschließlich vaginaler und rektaler Abgabe), pulmonal, beispielsweise durch Inhalation oder Insuffaltion von Flüssigkeiten, Pulvern oder Aerosolen, einschließlich durch Vernebler, intratracheal, intranasal, enteral, epidermal und transdermal), oral, sublingual, bukkal oder parenteral erfolgen. Die parenterale Verabreichung umfasst eine intravenöse, intraarterielle, subkutane, intraperitoneale oder intramuskuläre Injektion oder Infusion, intramedulläre oder intracraniale, beispielsweise intrathekale oder intraventrikuläre Verabreichung. Oligonukleotide mit zumindest einem 2'-O-Methoxyethylmodifikation können zur oralen Verabreichung brauchbar sein.

[0077] Pharmazeutische Zusammensetzungen zur topischen Verabreichung können Transdermalpflaster, Salben, Lotionen, Cremes, Gele, Tropfen, Zäpfchen, Sprays, Flüssigkeiten und Pulver umfassen. Herkömmliche pharmazeutische Träger, wässrige, pulverförmige oder ölige Grundlagen, Verdicker und dergleichen kön-

nen erforderlich oder erwünscht sein. Zusammensetzungen und Formulierungen zur oralen Verabreichung umfassen Pulver oder Granula, Suspensionen oder Lösungen in Wasser oder nicht-wässrigen Medien, Kapseln, Sachets, Pastillen oder Tabletten. Verdicker, Geschmacksstoffe, Verdünnungsmittel, Emulgatoren, Dispergierhilfen oder Bindemittel können erwünscht sein. Zusammensetzungen zur parenteralen, intrathekalen oder intraventrikulären Verabreichung können sterile wässrige Lösungen umfassen, die auch Puffer, Verdünnungsmittel und andere geeignete Zusätze enthalten können, wie unter anderem Penetrationsverstärker, Trägerverbindungen und andere pharmazeutisch annehmbare Träger oder Hilfsstoffe. Pharmazeutische Zusammensetzungen der vorliegenden Erfindung umfassen unter anderem Lösungen, Emulsionen, Suspensionen, Schäume und Liposomen-enthaltende Formulierungen. Diese Zusammensetzungen können aus einer Vielzahl an Komponenten, die unter anderem vorgeformte Flüssigkeiten, selbstemulgierende Feststoffe und selbstemulgierende Semifeststoffe umfassen, gemäß herkömmlicher Verfahren durch den Fachmann erzeugt werden.

[0078] Die pharmazeutischen Formulierungen der vorliegenden Beschreibung, die bequemerweise in Einheitsdosierungsform präsentiert werden können, können gemäß herkömmlicher Techniken hergestellt werden, die in der pharmazeutischen Industrie gut bekannt sind. Solche Techniken umfassen den Schritt des Zusammenbringens der Wirkstoffe mit den pharmazeutischen Trägern oder Wirkstoffen. Im allgemeinen werden die Formulierungen durch das gleichförmige und innige Zusammenbringen der Wirkstoffe mit den flüssigen Trägern oder fein verteilten festen Trägern oder beidem und dann, erforderlichenfalls, Formen des Produkts hergestellt. Weitere Details für Techniken zur Formulierung und Verabreichung von mehreren Dosierungsformen können in der letzten Ausgabe von Remington's Pharmaceutical Sciences (Maack Publishing Co., Easton, PA) gefunden werden. Die Zusammensetzungen können alleine oder in Kombination mit zumindest einem anderen Mittel, wie einer Stabilisatorverbindung verabreicht werden, die in jedem sterilen, biokompatiblen pharmazeutischen Träger verabreicht werden kann, einschließlich unter anderem Kochsalzlösung, gepufferte Kochsalzlösung, Dextrose und Wasser. Die Zusammensetzungen können einem Patienten alleine oder in Kombination mit anderen Mitteln, Arzneimitteln oder Hormonen verabreicht werden.

[0079] Pharmazeutische Formulierungen, die zur parenteralen Verabreichung geeignet sind, können in wässrigen Lösungen formuliert werden, vorzugsweise in physiologisch kompatiblen Puffern, wie Hank Lösung, Ringer Lösung oder physiologisch gepufferter Kochsalzlösung. Wässrige Injektionssuspensionen können Substanzen enthalten, die die Viskosität der Suspension erhöhen, wie Natriumcarboxymethylcellulose, Sorbit oder Dextran. Zusätzlich können Suspensionen der Wirkstoffe als geeignete ölige Injektionssuspensionen hergestellt werden. Geeignete lipophile Lösemittel oder Träger umfassen fette Öle, wie Sesamöl oder synthetische Fettsäureester, wie Ethyloleat oder Triglyceride oder Liposomen. Nichtlipidartige polykationische Aminopolymere können ebenfalls für eine Abgabe verwendet werden. Optional kann die Suspension auch geeignete Stabilisatoren oder Mittel enthalten, die die Löslichkeit der Verbindungen erhöhen, um die Herstellung von hochkonzentrierten Lösungen zu erlauben. Für eine topische oder nasale Verabreichung werden Penetrationsmittel die für die bestimmte zu durchdringende Barriere geeignet sind, in der Formulierung verwendet. Solche Penetrationsmittel sind im allgemeinen in der Technik bekannt.

[0080] Pharmazeutische Zusammensetzungen, die zur Verwendung in der Erfindung geeignet sind, umfassen Zusammensetzungen, worin die Modulatoren in einer wirksamen Menge enthalten sind, um den beabsichtigten Zweck zu erreichen. Die Bestimmung einer effektiven Dosis liegt innerhalb der Fähigkeit des Fachmanns. Es kann für jede Verbindung die therapeutisch wirksame Dosis zu Beginn entweder in Zellkulturtests, beispielsweise mit neoplastischen Zellen oder in Tiermodellen, gewöhnlich Mäuse, Kaninchen, Hunde oder Schweine abgeschätzt werden. Das Tiermodell kann auch verwendet werden, um den geeigneten Konzentrationsbereich und den Verabreichungsweg zu bestimmen. Eine solche Information kann dann verwendet werden, um die brauchbaren Dosen und Wege zur Verabreichung beim Menschen zu bestimmen. Eine therapeutisch wirksame Dosis bezieht sich auf die Menge an Wirkstoff, die teilweise oder vollständig die Symptome oder den Zustand lindert. Die therapeutische Wirksamkeit und Toxizität kann durch pharmazeutische Standardverfahren in Zellkulturen oder Versuchstieren bestimmt werden, beispielsweise ED50 (die Dosis, die therapeutisch bei 50 % der Population wirksam ist) und die LD50 (die Dosis, die für 50 % der Population letal ist). Das Dosisverhältnis zwischen den toxischen und therapeutischen Effekten ist der therapeutische Index und kann hierin als das Verhältnis LD50/ED50 ausgedrückt werden. Pharmazeutische Zusammensetzungen, die große therapeutische Indizes aufweisen, sind bevorzugt. Die aus den Zellkulturtests und Tierstudien erhaltenen Daten werden bei der Formulierung eines Dosierungsbereichs für die humane Verwendung verwendet. Die in einer solchen Zusammensetzung enthaltene Dosierung liegt vorzugsweise innerhalb eines Bereichs von zirkulierenden Konzentrationen, die die ED50 mit einer geringen oder keinen Toxizität umfassen. Die Dosis variiert in diesem Bereich in Abhängigkeit der verwendeten Dosis, der Empfindlichkeit des Patienten und des Verabreichungswegs.

[0081] Die exakte Dosis wird durch den Anwender in Anbetracht von Faktoren in Bezug auf den Patienten bestimmt, der die Behandlung benötigt. Dosierung und Verabreichung werden eingestellt, um ausreichende Mengen der Modulatoren bereitzustellen oder den gewünschten Effekt aufrechtzuerhalten. Faktoren, die in Betracht gezogen werden können, umfassen die Schwere des Krankheitszustands, den allgemeinen Gesundheitszustand des Patienten, das Alter, das Gewicht und das Geschlecht des Patienten, die Nahrung, die Dauer und Häufigkeit der Verabreichung, die Arzneimittelkombination, die Reaktionssensitivitäten und die Toleranz/Reaktion auf die Therapie. Lang wirkende pharmazeutische Zusammensetzungen können alle 3 bis 4 Tage, jede Woche oder einmal alle 2 Wochen in Abhängigkeit von Halbwertszeit und Clearancerate der bestimmten Formulierung verabreicht werden.

[0082] Normale Dosismengen können von 0,1 bis 100 000 Mikrogramm bis zu einer Gesamtdosis von etwa 1 g pro kg in Abhängigkeit des Verabreichungswegs variieren. Es werden Anleitungen für bestimmte Dosierungen und Verabreichungsverfahren in der Literatur bereitgestellt und sind im allgemeinen für den Fachmann erhältlich. Der Fachmann verwendet unterschiedliche Formulierungen für Nukleotide als für Proteine oder ihre Inhibitoren. Ähnlich ist die Abgabe von Polynukleotiden oder Polypeptiden für bestimmte Zellen, Bedingungen, Orte etc spezifisch.

[0083] Die folgenden Beispiele sind zur Erläuterung beigefügt und sollten nicht als Beschränkung der vorliegenden Erfindung aufgefasst werden.

Beispiel 1

DNA Mikroarrayanalyse

[0084] Humane anteriore Cingluateproben werden aus 10 normalen und 10 schizophrenen verstorbenen Individuen erhalten (Maryland Psychiatric Research Clinic, Baltimore, Maryland). Es wird eine RNA guter Qualität aus 9 normalen ("N1") und 7 schizophrenen ("S1") Proben erhalten.

[0085] Die Mikroarrayanalyse wird im wesentlichen wie folgt ausgeführt. Kurz gesagt werden 5 µg oder weniger Gesamt RNA verwendet, um cDNA zu synthetisieren, die dann als Matrize verwendet wird, um biotinylierte cRNA zu erhalten. 15 bis 30 µg markierte RNA werden erhalten und an Affymetrix (Santa Clara, CA) den Human Genome U95Av2 Array des GeneChip® Human Genome U95 Set (HG-U95Av2 enthält etwa 12 000 Sequenzen von Vollängengenen) gemäß den Protokollen hybridisiert, die sich im technischen Handbuch des GeneChip® finden. Von jeder Probe wird zweifach ein Profil gefahren. Nach der Probenhybridisierung werden die Mikroarrays gewaschen und mit einem Laserscanner gescannt.

[0086] Die erhaltenen Bilder werden verwendet, um absolute Textdateien zur Analyse mittels Affymetrix GeneChip® Gene Expression Analysis Algorithms Version 4 zu erzeugen. Differenziell exprimierte Gene zwischen den von Normalen und Schizophrenen abgeleiteten Proben werden mittels eines Erkennungsmusteralgorithmus bewertet, der gemäß etablierter Prinzipien entwickelt wurde, der eine Bewertung für jedes verglichene Gen erzeugt. Es werden die folgenden 3 Bedingungen für eine zu erzeugende Bewertung (entspricht der mittleren Veränderung) benötigt: (1) T-Test p-Wert < 0,5 %, (2) mittlere Veränderung > 1,5 fach, (3) maximale mittlere AvgDiff (Expressionsmengen auf dem Affimetrix Chip) > 200. Falls eine oder mehrere der obigen Bedingungen nicht durch ein Gen im Vergleich erfüllt werden, ist die zugeordnete Bewertung Null. Es werden mehrere Kandidatengene aufgefunden, die in schizophrenen Patienten differenziell exprimiert werden, wenn sie mit den Normalen verglichen werden.

Beispiel 2

Quantitative Echtzeit PCR Bestätigung von differenziell regulierten Genen

[0087] Sondenpaare für die quantitative Echtzeit PCR (Q-PCR) werden für 38 veränderte Gene entworfen, die in Beispiel 1 identifiziert wurden. Affymetrix liefert eine Sequenzdatei, aus der die Sonden auf dem Chip abgeleitet werden. Aus dieser Datei werden die Sequenzen, die den 38 veränderten Genen entsprechen, erhalten und es werden die Sondenpaare hergestellt. Wenn kein gutes Primerpaar aus einer Affymetrix Sequenz erhalten werden kann, kann eine längere Sequenz enthalten werden aus Ref Seq (siehe K.D. Pruitt, D.R. Maglott, Nucleic Acids Res. 2001, Jan 1,29(1): 137-140, Introducing RefSeq und LocusLink: curated human genome resources at the NCBI., K.D. Pruitt, K.S. Katz, H. Sicotte, D.R. Maglott, Trends Genet. 2000, Jan, 16 (1): 44-47) mit einer guten BLAST Bewertung gegen die Affymetrixsequenz und die Primer werden aus dieser Sequenz entworfen. Die Sequenzen der Sondenpaare sind in Tabelle 1 gezeigt.

Tabelle 1

Affymetrix Gen ID	Primer name	Sequenz 5'-3'	Primer name	Sequenz 5'-3'
GAPDH	GAPDH5F	CAGGGCTGCTTTTAACTCTGGTA (Seq. Id. 7)	GAPDH5R	GGGTGGAATCATATTGGAACATGT (Seq. Id. 8)
1622_at	1622p2F	TTTTAATCTCTCGACTGAATGGACTTT (Seq. Id. 9)	1622p2R	CACAACTCATCCCCTCTTGTGTAC (Seq. Id. 10)
1731_at	1731for	TGTGTTTTCAGCAAATTCCAGATT (Seq. Id. 11)	1731rev	TGTCATCATAAAAATAGAAAGTAGG AAAGATT (Seq. Id. 12)
32279_at	32279for	TTCTGTTCTCAAATGCTAAATGCAA (Seq. Id. 13)	32279rev	GGGAATGTTGATGTCATTCAGAAA (Seq. Id. 14)
32757_at	32757for	GCCTGTTGCAGAGTTTTTCTGTAA (Seq. Id. 15)	32757rev	TTCCAATATTCTCTAACACGTACAC TGAA (Seq. Id. 16)
32814_at	32814for	GGTAGAAGAAACAATGCAAGACATACA T (Seq. Id. 17)	32814rev	CCCTTGTTAATGATGCCTGTTCTAT (Seq. Id. 18)
33372_at	33372for	GGAAATGTACCTGAAAAGGATTTTAGA (Seq. Id. 19)	33372rev	ACTACATCCCCTCCATGTGCAT (Seq. Id. 20)
33890_at	33890for	AGTGCAGATTTATACTCCTGACGTGT (Seq. Id. 21)	33890rev	CAAGACTTATAATCATGAAATACAG AATTAAAAGTT (Seq. Id. 22)
34250_at	34250for	TGTCCGTCCCTGTTTTTGCT (Seq. Id. 23)	34250rev	CACCCTGCCTTTCCCTAGAGA (Seq. Id. 24)
34375_AT	34375for	GGAAGATCTCAGTGCAGAGGCT (Seq. Id. 25)	34375rev	GATCTCCTTGGCCACAATGGT (Seq. Id. 26)
34582_at	34582for	TGGATGGAGGACAGATTGTGACT (Seq. Id. 27)	34582rev	AATGAGGAGCATGGTGACCAG (Seq. Id. 28)
34777_AT	34777for	TCGCCCACAAACTGATTTCTC (Seq. Id. 29)	34777rev	ACGCATTGCACTTTTCCTCTTT (Seq. Id. 30)
35109_at	35109for	CCCTCCTGCTGTGCTCTTCT (Seq. Id. 31)	35109rev	GTGACAGACACACATCAGCCACTA (Seq. Id. 32)
35680_r_at	35680_for	GATAGAATTAACTCGTATTTTTCTATGG TTTTAA (Seq. Id. 33)	35680_rev	GGAGAAAGCCAAGGGAAACAA (Seq. Id. 34)
35857_at	35857for	TCCTTACTTGTCATCAGAGACGAACT (Seq. Id. 35)	35857rev	AAAAATCTGTAGGGAATGCATCCTT (Seq. Id. 36)

36254_AT	36254for	AAAGGAAGGAAACTCCTGACAGTCT (Seq. Id. 37)	36254rev	GCTTCAGAGATACAAATACAGTGTA ATACCA (Seq. Id. 38)
36672_at	36672for	CTGGAGTAGAGTTCCTGGTTGCTT (Seq. Id. 39)	36672rev	AAAGACACTTCAACCTCAAAACCAA (Seq. Id. 40)
36694_at	36694for	CCTCAGTGGGTTCGTTAAAATCA (Seq. Id. 41)	36694rev	GGCATTTAATTGACCTCACAGAGA (Seq. Id. 42)
36711_at	36711for	GTGCCAATATGCCCTCCAAA (Seq. Id. 43)	36711rev	GGCATCTCTTCAGTGCAATTTCT (Seq. Id. 44)
37015_AT	37015for	TTCTGAAATGTGACCCCCAAGT (Seq. Id. 45)	37015rev	GCTAAATGCAACTGTTCCTTTTCTA TAA (Seq. Id. 46)
37183_at	37183for	GGCAACATTTCCGAAGACCTT (Seq. Id. 47)	37183rev	GCATACTCTAAAACGCACAGTGTGA (Seq. Id. 48)
37230_AT	37230for	CCTCCCTCCAGTGTCCACAT (Seq. Id. 49)	37230rev	AAGCAGGATTCTGGACATGGAA (Seq. Id. 50)
38111_at	38111for	AAGTGCTAATAATTAACTCAACCAGGT CTA (Seq. Id. 51)	38111rev	CTAGGTCTATATCCGTATGAAATGC ATT (Seq. Id. 52)
38112_g_ at	38112_gfor	AAGTCACAATGAGTTTGGGCATATT (Seq. Id. 53)	38112_gr ev	ACCATTTCCAGCCTAAACTACATAA AA (Seq. Id. 54)
38404_at	38404for	CAGCTTTGACTTTATCTCCTGCTCTT (Seq. Id. 55)	38404rev	CCCTGGAGGCTGTGATCTCA (Seq. Id. 56)
39114_at	39114for	GAGTCTGAAGGACCCTAGTTCCTAGA (Seq. Id. 57)	39114rev	TCTGTCCCTTCACCTCTGATCA (Seq. Id. 58)
39397_at	39397for	AATTGTTTTTCGTCCGTTTGGTA (Seq. Id. 59)	39397rev	AATTGCCATATACGGCCAGTTAA (Seq. Id. 60)
39579_at	39579for	GCAGGAGCCTCACTGTGCAT (Seq. Id. 61)	39579rev	ACAGATGTGGCCCCGTTGTA (Seq. Id. 62)
39599_at	39599p2F	TGTACACATATGAACGCACAACATG (Seq. Id. 63)	39599p2R	GACCTCAGGAAAAGGCTTCAGA (Seq. Id. 64)
39839_at	39839p2F	GTCCAAACCAGCCGTCTGTT (Seq. Id. 65)	39839p2R	GCCTCTTTGCCATCTTGTGAA (Seq. Id. 66)
40225_AT	40225for	AAAGCCTCTGATTGTTGTTTCCTT (Seq. Id. 67)	40225rev	ACGCCCGAAACACCAAATAA (Seq. Id. 68)
40382_at	40382for	AGCAACAGGAAACTCATGGAGATT (Seq. Id. 69)	40382rev	GAGCAGCGCTATGGTACAGAATAC T (Seq. Id. 70)
40425_at	40425for	CAGCCTCAAAACGGGTCAGT (Seq. Id. 71)	40425rev	CTTCTTTCTCCGTCCCTCCG (Seq. Id. 72)
40646_AT	40646for	AATATCCCCTCCCAGTCACCTT (Seq. Id. 73)	40646rev	AAAGCTGCTCCCATAGCCCT (Seq. Id. 74)
41016_at	41016for	TGACACCTGTGCATTAGATGCA (Seq. Id. 75)	41016rev	CATGGTGTGAGTCTGGGCCT (Seq. Id. 76)
41439_at	41439for	TGGTACAGGGTGCCTATTTTAGTCA (Seq. Id. 77)	41439rev	TGTAGTTTCCAAAATGAACCCTTGT (Seq. Id. 78)
41531_AT	41531for	AACTGCCTTGTGTTCTGTGAGAAA (Seq. Id. 79)	41531rev	GCAGCATTGTAAGTTGTGATGCA (Seq. Id. 80)
875_G_AT	875_Gfor	TTGAACACTCACTCCACAACCC (Seq. Id. 81)	875_Grev	TTTCACATCAACAAACAAAATTCATT ATAA (Seq. Id. 82)

[0088] Dann werden die RNA Spiegel mittels Q-PCR gemessen. Kurz gesagt wird cDNA mittels zufälligen Hexameren synthetisiert, in einem Mastermix verdünnt, worin TAQ Polymerase, SybrGreen® (Molecular Probes, Inc., Eugene, Oregon), unmarkierte Nukleotide, Puffer und Wasser enthalten sind. Das Gemisch wird in TaqMan® Platten (Perkin Elmer) aliquotiert und Oligonukleotidpaare werden zu den geeigneten Vertiefungen gegeben. Jede Probe wird zumindest in 2 Vertiefungen getestet und jede Probe wird mit jedem Oligonukleotidpaar getestet, worin die Transkriptase aus der ersten Reaktion weggelassen wird (noRT Kontrollen). Der Grenzwertzyklus (CT) wird mittels Perkin Elmer Software ABI Prism® 7700 Sequence Detection System Revision B berechnet. Der CT Wert wird berechnet, wenn der Zyklus, bei dem eine statistisch signifikante Zunahme der Fluoreszenz (vom SybrGreen®) detektiert wird. Ein geringerer CT Wert deutet auf eine höhere mRNA Konzentration hin.

[0089] Die cDNA wird getrennt aus allen der N1 und S1 Proben gemäß herkömmlicher Verfahren präpariert. Die Ausbeute wird mittels PicoGreen® (Molecular Probes, Inc., Eugene, Oregon) Tests abgeschätzt. Es werden gleiche Mengen von cDNA aus allen N1 Proben in eine vereinigte Probe gemischt und es werden gleiche Mengen an cDNA aus allen S1 Proben in eine getrennt vereinigte Probe gemischt.

[0090] Die Q-PCR mit Oligonukleotiden, die für GAPDH entworfen wurden und die 38 Gene, die aus den Gene-Chip® Experimenten identifiziert wurden, werden zweifach ohne RT Kontrollen ausgeführt. Gene mit mehr als 1 Zyklus Unterschied in CT zwischen diesen Gruppen werden für eine Bestätigung durch Q-PCR mit individuellen Proben ausgewählt.

[0091] Die 9 Gene mit den größten Unterschieden in CT zwischen N1 und S1 vereinigten Proben werden

identifiziert und die Q-PCR wird mit den individuellen cDNA Proben gefahren. Die individuellen CT Werte für diese 9 Gene plus GAPDH (als Kontrolle) werden untersucht und die p-Werte aus dem t-Test werden berechnet, um die Nullhypothese zu testen, dass die zwei Proben N1 und S1 von der gleichen Population abgeleitet sind. Es werden 5 Gene aufgefunden, die zwischen den anterioren Cingulateproben der Normalen und Schizophrenen differenziell exprimiert werden. Diese Gene haben die Bezeichnung 34777_at, 36711_at, 39114_at, 39839_at und 39579_at.

[0092] Um die unterschiedliche Auftrennung dieser 5 Gene zu bestätigen wird ein unabhängiger Satz an anterioren Cingulateproben erhalten (Maryland Psychiatric Research Clinic). 9 normale Proben und 9 schizophrene Proben werden jeweils mit N2 und S2 bezeichnet. Für jedes der 5 Gene plus GAPDH werden Standardkurven durch Q-PCR einer zweifachen Verdünnungsreihe von vereinigter normaler cDNA mit allen 10 Primerpaaren erhalten. Die Auftragung von CT gegen den Logarithmus der Startmenge an cDNA in Mikroliter ist linear. Die Gleichungen dieser Standardkurven können verwendet werden, um die relativen mengen an cDNA zu einem Gen, nämlich GAPDH zu berechnen, das als konstant zwischen den Proben betrachtet wird. Es werden die RNA Proben aus diesen neuen Proben erhalten und sowohl die alten als auch die neuen Proben werden einer Q-PCR unterzogen. Aus den CT Werten werden die relativen Mengen der cDNA korrigiert um die Menge an GAPDH in jeder Probe für alle Gene und alle Proben berechnet.

[0093] Die Analyse der Varianz in den Daten zeigt, dass 3 dieser Gene, nämlich 39114_at, 39839_at und 34777_at konsistent unterschiedliche Expressionsspiegel in den anterioren Cingulateproben von Normalen und Schizophrenen über beide Datensätze mit p-Werten von jeweils 0,001, 0,0013 und 0,0013 aufweisen.

[0094] BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) Suchen der öffentlichen Sequenzdatenbanken identifizieren 39114_at, 34777_at und 39839_at jeweils als durch Progesteron induziertes Decidualprotein (DEPP), Adrenomedullin und Kälteschockdomänenprotein A (CsdA).

Sequenzliste

<110> Francis Paul Buxton, William Twitty Carpenter, Rosalina Cusido Roberts, Carol Ann Tammiga

<120> Verfahren zur Diagnose und Behandlung von Schizophrenie

<130> DC4-32423A

<140> 10/507 858

<141> 15.9.2004

<150> PCT / EP03 / 02875

<151> 19.3.2003

<150> 60/366 001

<151> 30.3.2003

<160> 82

<170> FastSEQ für Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 52

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

```
Tyr Arg Gln Ser Met Asn Asn Phe Gln Gly Leu Arg Ser Phe Gly Cys
 1               5                  10                  15
Arg Phe Gly Thr Cys Thr Val Gln Lys Leu Ala His Gln Ile Tyr Gln
            20                  25                  30
Phe Thr Asp Lys Asp Lys Asp Asn Val Ala Pro Arg Ser Lys Ile Ser
        35                  40                  45
Pro Gln Gly Tyr
    50
```

<210> 2

<211> 1449

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Synthetisierte Sonden

<400> 2

```
ctggatagaa cagctcaagc cttgccactt cgggcttctc actgcagctg ggcttggact 60
tcggagtttt gccattgcca gtgggacgtc tgagactttc tccttcaagt acttggcaga 120
tcactctctt agcagggtct gcgcttcgca gccgggatga agctggtttc cgtcgccctg 180
atgtacctgg gttcgctcgc cttcctaggc gctgacaccg ctcggttgga tgtcgcgtcg 240
gagtttcgaa agaagtggaa taagtgggct ctgagtcgtg ggaagaggga actgcggatg 300
tccagcagct accccaccgg gctcgctgac gtgaaggccg ggcctgccca gacccttatt 360
cggccccagg acatgaaggg tgcctctcga agccccgaag acagcagtcc ggatgccgcc 420
cgcatccgag tcaagcgcta ccgccagagc atgaacaact tccagggcct ccggagcttt 480
ggctgccgct tcgggacgtg cacggtgcag aagctggcac accagatcta ccagttcaca 540
gataaggaca aggacaacgt cgcccccagg agcaagatca gcccccaggg ctacggccgc 600
cggcgccggc gctccctgcc cgaggccggc ccgggtcgga ctctggtgtc ttctaagcca 660
caagcacacg gggctccagc ccccccgagt ggaagtgctc cccactttct ttaggattta 720
ggcgcccatg gtacaaggaa tagtcgcgca agcatcccgc tggtgcctcc cgggacgaag 780
gacttcccga gcggtgtggg gaccgggctc tgacagccct gcggagaccc tgagtccggg 840
aggcaccgtc cggcggcgag ctctggcttt gcaagggccc ctccttctgg gggcttcgct 900
tccttagcct tgctcaggtg caagtgcccc agggggcggg gtgcagaaga atccgagtgt 960
```

<210> 3

<211> 212

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

```
Met Arg Ser Arg Leu Leu Leu Ser Val Ala His Leu Pro Thr Ile Arg
 1               5                  10                  15
Glu Thr Thr Glu Glu Met Leu Leu Gly Gly Pro Gly Gln Glu Pro Pro
            20                  25                  30
Pro Ser Pro Ser Leu Asp Asp Tyr Val Arg Ser Ile Ser Arg Leu Ala
        35                  40                  45
Gln Pro Thr Ser Val Leu Asp Lys Ala Thr Ala Gln Gly Gln Pro Arg
    50                  55                  60
Pro Pro His Arg Pro Ala Gln Ala Cys Arg Lys Gly Arg Pro Ala Val
65                  70                  75                  80
Ser Leu Arg Asp Ile Thr Ala Arg Phe Ser Gly Gln Gln Pro Thr Leu
                85                  90                  95
Pro Met Ala Asp Thr Val Asp Pro Leu Asp Trp Leu Phe Gly Glu Ser
            100                 105                 110
Gln Glu Lys Gln Pro Ser Gln Arg Asp Leu Pro Arg Arg Thr Gly Pro
        115                 120                 125
Ser Ala Gly Leu Trp Gly Pro His Arg Gln Met Asp Ser Ser Lys Pro
    130                 135                 140
Met Gly Ala Pro Arg Gly Arg Leu Cys Glu Ala Arg Met Pro Gly His
145                 150                 155                 160
Ser Leu Ala Arg Pro Pro Gln Asp Gly Gln Gln Ser Ser Asp Leu Arg
                165                 170                 175
Ser Trp Thr Phe Gly Gln Ser Ala Gln Ala Met Ala Ser Arg His Arg
            180                 185                 190
Pro Arg Pro Ser Ser Val Leu Arg Thr Leu Tyr Ser His Leu Pro Val
        195                 200                 205
Ile His Glu Leu
    210
```

<210> 4

<211> 2114

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 4

```
cacactgctc agggaagagc ctgctacggt ggactgtgag actcagtgca ctgtcctcct 60
cccagcgacc ccacgctgga ccccctgccg gaccctccac ccttcggccc ccaagcttcc 120
caggggcttc ctttggactg gactgtccct gctcatccat tctcctgcca cccccagacc 180
tcctcagctc caggttgcca cctcctctcg ccagagtgat gaggtcccgg cttctgctct 240
ccgtggccca tctgcccaca attcgggaga ccacggagga gatgctgctt gggggtcctg 300
gacaggagcc cccaccctct cctagcctgg atgactacgt gaggtctata tctcgactgg 360
cacagcccac ctctgtgctg gacaaggcca cggcccaggg ccaacccagg ccaccccaca 420
ggccagccca ggcctgccgg aagggccgcc ctgctgtgtc cctgcgagac atcaccgcac 480
gtttcagtgg ccagcagccc acactgccca tggctgatac tgtggacccc ctggactggc 540
ttttgggga gtcccaggaa aagcagccaa gccagaggga cctgccaagg aggactggcc 600
cctctgctgg cctctggggt ccacatagac agatggacag cagcaagccc atgggggccc 660
ccagagggag gctctgtgaa gccaggatgc ctgggcattc cctggcaaga ccaccgcagg 720
atgggcagca gagctctgac ctaagaagct ggacttttgg gcagtctgcc caagccatgg 780
cctcccgcca ccgcccccgc cccagcagtg tcctcagaac actctactcg cacctcccgg 840
tgatccatga actctgaccc ctccccagta aaggcttctg tagagagcat gctgggtctg 900
catctcctct cgtctcctcc atggtggtca ctgcccctgg caggtctctg aaagggaaat 960
gcttttctgc agaggcccct tcttgggcag ttcacagtta gacccacccc ctctgaatat 1020
```

```
gataacagcc tgtttcacat gaggagatgt taccaatccc gttcgctctg acccttgctg 1080
gctgatcacc ttgagcaact tacttaacat ctgtgttcct cagtttctca tgggtaatat 1140
agggataatt actggcacct gcctcccagg ccattctgac gtgtaccgca tataggagcc 1200
cactggctga gtagctacca tcatcgctgg tggggaaact ggtggtaggg gtgtgagggt 1260
agtgggggtg tcagccccca ggtgtttcag aacaaggcct cgggcactcc caagtctgcc 1320
tcttggctcc caccctcaaa gcccatgttc tgtgaggccc aagagaacac atggagtctt 1380
agcaaatgca ctaatgtatt ccgggggact gtcacctggc accactgggg cactctgctg 1440
gctacaactc atacgtcctg tggtggcatt gggagagttc ccccatgatg agggccaaga 1500
tagaatctgt accactcagt gctaccatcc ccacccctac accacttcca cacaggggcc 1560
tcatggcatg gtcagggtcc cagctgtggg tgagagcagg gcactgtcca gctgtccact 1620
ggggaagtca agatgtccta aggcccaggc cagggcatct ggagtctgaa ggaccctagt 1680
tcctagaggc atctggcagc aagaaggtga ggcatcaggg aacgggaatc aggctgggac 1740
tgatcagagg tgaagggaca gagagaggag aggaggaaga ttgagctggg gcaacagcca 1800
agctcacctg gcaggtctct gccacctcct tctctgtgag ctgtcagtct aggttattct 1860
ctttttttgt ggctattttt aattgctttg gatttgttaa atgttttctg tcttctgtta 1920
agtgtgtttt ctctggagat agaatgtaaa ccatattaaa aggaaaaagt ttcagacaag 1980
caattaccca gtttccttat ctataaaatg gggacatcag caatgttctt cacaccctgc 2040
aagggctggg aattgcgcat gtgaacttgg agctgcattt atgagcactg tagacaaatg 2100
tttgtatctg tcac                                                   2114
```

<210> 5

<211> 372

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

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

```
            340                 345                 350
Lys Ala Gly Glu Ala Pro Thr Glu Asn Pro Ala Pro Pro Thr Gln Gln
        355                 360                 365
Ser Ser Ala Glu
    370
```

<210> 6

<211> 1392

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 6

```
gaattccggc acgaagctcg agccgcctcc gccgcgcgac cccacctcgg ccgccgccgc 60
ctgcgccgcg agatccgccc cggcctcccc gagagcgagc cccggccgcc gcgaccacca 120
gccgcgctaa ccgccgacca accgccaccg aggcgcctga gcgagagcag aggaggagga 180
ggcatgagtg aggcgggcga ggccaccacc accaccacca ccaccctccc gcaggctccg 240
acggaggcgg ccgccgcggc tccccaggac cccgcgccca agagcccggt gggcagcggt 300
gcgccccagg ccgcggcccc ggcgcccgcc gcccacgtcg caggaaaccc cggtggggac 360
gcggcccccg cagccacggg caccgcggcc gccgcctctt tagccaccgc cgccggcagc 420
gaagacgcgg agaaaaaagt tctcgccacc aaagtccttg gcactgtcaa atggttcaac 480
gtcagaaatg gatatggatt tataaatcga aatgacacca aagaagatgt atttgtacat 540
cagactgcca tcaagaagaa taacccacgg aaatatctgc gcagtgtagg agatggagaa 600
actgtagagt ttgatgtggt tgaaggagag aagggtgcag aagctgccaa tgtgactggc 660
ccggatggag ttcctgtgga agggagtcgt tacgctgcag atcggcgccg ttacagacgt 720
ggctactatg gaaggcgccg tggccctccc cggaattacg ctggggagga ggaggaggaa 780
gggagcggca gcagtgaagg atttgacccc cctgccactg ataggcagtt ctctggggcc 840
cggaatcagc tgcgccgccc ccagtatcgc cctcagtacc ggcagcggcg gttcccgcct 900
taccacgtgg gacagacctt tgaccgtcgc tcacgggtct taccccatcc caacagaata 960
caggctggtg agattggaga gatgaaggat ggagtcccag agggagcaca acttcaggga 1020
ccggttcatc gaaatccaac ttaccgccca aggtaccgta gcaggggacc tcctcgccca 1080
cgacctgccc cagcagttgg agaggctgaa gataaagaaa atcagcaagc caccagtggt 1140
ccaaaccagc cgtctgttcg ccgtggatac cggcgtccct acaattaccg gcgtcgcccg 1200
cgtcctccta acgctccttc acaagatggc aaagaggcca aggcaggtga agcaccaact 1260
gagaaccctg ctccacccac ccagcagagc agtgctgagt aacaccaggc tcctcaggca 1320
ccttcaccat cggcaggtga cctaaagaat taatgaccat tcagaaataa agcaaaaagc 1380
aggccggaat tc                                                    1392
```

<210> 7

<211> 23

<212> DNA

<213> Unbekannt

<220>

<223> Synthetisierte Sonden

<400> 7

cagggctgct tttaactctg gta 23

<210> 8

<211> 24

<212> DNA

<213> Unbekannt

<220>

<223> Synthetisierte Sonden

<400> 8

gggtggaatc atattggaac atgt 24

<210> 9
<211> 27
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>
<223> Synthetisierte Sonden
<400> 9
ttttaatctc tcgactgaat ggacttt 27

<210> 10
<211> 24
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>
<223> Synthetisierte Sonden
<400> 10
cacaactcat cccctcttgt gtac 24

<210> 11
<211> 24
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>
<223> Synthetisierte Sonden
<400> 11
tgtgttttca gcaaattcca gatt 24

<210> 12
<211> 32
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>
<223> Synthetisierte Sonden
<400> 12
tgtcatcata aaaatagaaa gtaggaaaga tt 32

<210> 13
<211> 25
<212> DNA
<213> Unbekannt

<220>
<223> Synthetisierte Sonden
<400> 13
ttctgttctc aaatgctaaa tgcaa 25

<210> 14
<211> 24
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>
<223> Synthetisierte Sonden
<400> 14
gggaatgttg atgtcattca gaaa 24

<210> 15
<211> 24
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>
<223> Synthetisierte Sonden
<400> 15
gcctgttgca gagtttttct gtaa 24

<210> 16
<211> 29
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>
<223> Synthetisierte Sonden
<400> 16
ttccaatatt ctctaacacg tacactgaa 29

<210> 17
<211> 28
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>
<223> Synthetisierte Sonden
<400> 17
ggtagaagaa acaatgcaag acatacat 28

<210> 18
<211> 25
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>
<223> Synthetisierte Sonden
<400> 18
cccttgttaa tgatgcctgt tctat 25

<210> 19
<211> 27
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>
<223> Synthetisierte Sonden
<400> 19
ggaaatgtac ctgaaaagga ttttaga 27

<210> 20
<211> 22
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>
<223> Synthetisierte Sonden
<400> 20
actacatccc ctccatgtgc at 22

<210> 21
<211> 26
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>
<223> Synthetisierte Sonden
<400> 21
agtgcagatt tatactcctg acgtgt 26

<210> 22
<211> 36
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>

<223> Synthetisierte Sonden

<400> 22

caagacttat aatcatgaaa tacagaatta aaagtt 36

<210> 23

<211> 20

<212> DNA

<213> Unbekannt

<220>

<223> Synthetisierte Sonden

<400> 23

tgtccgtccc tgtttttgct 20

<210> 24

<211> 21

<212> DNA

<213> Unbekannt

<220>

<223> Synthetisierte Sonden

<400> 24

caccctgcct ttccctagag a 21

<210> 25

<211> 22

<212> DNA

<213> Unbekannt

<220>

<223> Synthetisierte Sonden

<400> 25

ggaagatctc agtgcagagg ct 22

<210> 26

<211> 21

<212> DNA

<213> Unbekannt

<220>

<223> Synthetisierte Sonden

<400> 26

gatctccttg gccacaatgg t 21

<210> 27
<211> 23
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>
<223> Synthetisierte Sonden
<400> 27
tggatggagg acagattgtg act 23

<210> 28
<211> 21
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>
<223> Synthetisierte Sonden
<400> 28
aatgaggagc atggtgacca g 21

<210> 29
<211> 21
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>
<223> Synthetisierte Sonden
<400> 29
tcgcccacaa actgatttct c 21

<210> 30
<211> 22
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>
<223> Synthetisierte Sonden
<400> 30
acgcattgca cttttcctct tt 22

<210> 31
<211> 20
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>

<223> Synthetisierte Sonden

<400> 31

ccctcctgct gtgctcttct 20

<210> 32

<211> 24

<212> DNA

<213> Unbekannt

<220>

<223> Synthetisierte Sonden

<400> 32

gtgacagaca cacatcagcc acta 24

<210> 33

<211> 34

<212> DNA

<213> Unbekannt

<220>

<223> Synthetisierte Sonden

<400> 33

gatagaatta actcgtattt ttctatggtt ttaa 34

<210> 34

<211> 21

<212> DNA

<213> Unbekannt

<220>

<223> Synthetisierte Sonden

<400> 34

ggagaaagcc aagggaaaca a 21

<210> 35

<211> 26

<212> DNA

<213> Unbekannt

<220>

<223> Synthetisierte Sonden

<400> 35

tccttacttg tcatcagaga cgaact 26

<210> 36

<211> 25
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>
<223> Synthetisierte Sonden
<400> 36
aaaaatctgt agggaatgca tcctt 25

<210> 37
<211> 25
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>
<223> Synthetisierte Sonden
<400> 37
aaaggaagga aactcctgac agtct 25

<210> 38
<211> 31
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>
<223> Synthetisierte Sonden
<400> 38
gcttcagaga tacaaataca gtgtaatacc a 31

<210> 39
<211> 24
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>
<223> Synthetisierte Sonden
<400> 39
ctggagtaga gttcctggtt gctt 24

<210> 40
<211> 25
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>
<223> Synthetisierte Sonden

<400> 40
aaagacactt caacctcaaa accaa 25

<210> 41
<211> 23
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>
<223> Synthetisierte Sonden
<400> 41
cctcagtggg ttcgttaaaa tca 23

<210> 42
<211> 24
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>
<223> Synthetisierte Sonden
<400> 42
ggcatttaat tgacctcaca gaga 24

<210> 43
<211> 20
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>
<223> Synthetisierte Sonden
<400> 43
gtgccaatat gccctccaaa 20

<210> 44
<211> 23
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>
<223> Synthetisierte Sonden
<400> 44
ggcatctctt cagtgcaatt tct 23

<210> 45
<211> 22
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>
<223> Synthetisierte Sonden
<400> 45
ttctgaaatg tgacccccaa gt 22

<210> 46
<211> 28
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>
<223> Synthetisierte Sonden
<400> 46
gctaaatgca actgttcctt ttctataa 28

<210> 47
<211> 21
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>
<223> Synthetisierte Sonden
<400> 47
ggcaacattt ccgaagacct t 21

<210> 48
<211> 25
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>
<223> Synthetisierte Sonden
<400> 48
gcatactcta aaacgcacag tgtga 25

<210> 49
<211> 20
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>

<223> Synthetisierte Sonden

<400> 49

cctccctcca gtgtccacat 20

<210> 50

<211> 22

<212> DNA

<213> Unbekannt

<220>

<223> Synthetisierte Sonden

<400> 50

aagcaggatt ctggacatgg aa 22

<210> 51

<211> 30

<212> DNA

<213> Unbekannt

<220>

<223> Synthetisierte Sonden

<400> 51

aagtgctaat aattaactca accaggtcta 30

<210> 52

<211> 28

<212> DNA

<213> Unbekannt

<220>

<223> Synthetisierte Sonden

<400> 52

ctaggtctat atccgtatga aatgcatt 28

<210> 53

<211> 25

<212> DNA

<213> Unbekannt

<220>

<223> Synthetisierte Sonden

<400> 53

aagtcacaat gagtttgggc atatt 25

<210> 54
<211> 27
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>
<223> Synthetisierte Sonden
<400> 54
accatttcca gcctaaacta cataaaa 27

<210> 55
<211> 26
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>
<223> Synthetisierte Sonden
<400> 55
cagctttgac tttatctcct gctctt 26

<210> 56
<211> 20
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>
<223> Synthetisierte Sonden
<400> 56
ccctggaggc tgtgatctca 20

<210> 57
<211> 26
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>
<223> Synthetisierte Sonden
<400> 57
gagtctgaag gaccctagtt cctaga 26

<210> 58
<211> 22
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>

<223> Synthetisierte Sonden
<400> 58
tctgtccctt cacctctgat ca 22

<210> 59
<211> 23
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>
<223> Synthetisierte Sonden
<400> 59
aattgttttt cgtccgtttg gta 23

<210> 60
<211> 23
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>
<223> Synthetisierte Sonden
<400> 60
aattgccata tacggccagt taa 23

<210> 61
<211> 20
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>
<223> Synthetisierte Sonden
<400> 61
gcaggagcct cactgtgcat 20

<210> 62
<211> 20
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>
<223> Synthetisierte Sonden
<400> 62
acagatgtgg ccccgttgta 20

<210> 63
<211> 25
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>
<223> Synthetisierte Sonden
<400> 63
tgtacacata tgaacgcaca acatg 25

<210> 64
<211> 22
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>
<223> Synthetisierte Sonden
<400> 64
gacctcagga aaaggcttca ga 22

<210> 65
<211> 20
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>
<223> Synthetisierte Sonden
<400> 65
gtccaaacca gccgtctgtt 20

<210> 66
<211> 21
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>
<223> Synthetisierte Sonden
<400> 66
gcctctttgc catcttgtga a 21

<210> 67
<211> 24
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>

<223> Synthetisierte Sonden

<400> 67

aaagcctctg attgttgttt cctt 24

<210> 68

<211> 20

<212> DNA

<213> Unbekannt

<220>

<223> Synthetisierte Sonden

<400> 68

acgcccgaaa caccaaataa 20

<210> 69

<211> 24

<212> DNA

<213> Unbekannt

<220>

<223> Synthetisierte Sonden

<400> 69

agcaacagga aactcatgga gatt 24

<210> 70

<211> 25

<212> DNA

<213> Unbekannt

<220>

<223> Synthetisierte Sonden

<400> 70

gagcagcgct atggtacaga atact 25

<210> 71

<211> 20

<212> DNA

<213> Unbekannt

<220>

<223> Synthetisierte Sonden

<400> 71

cagcctcaaa acgggtcagt 20

<210> 72
<211> 20
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>
<223> Synthetisierte Sonden
<400> 72
cttctttctc cgtccctccg 20

<210> 73
<211> 22
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>
<223> Synthetisierte Sonden
<400> 73
aatatcccct cccagtcacc tt 22

<210> 74
<211> 20
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>
<223> Synthetisierte Sonden
<400> 74
aaagctgctc ccatagccct 20

<210> 75
<211> 22
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>
<223> Synthetisierte Sonden
<400> 75
tgacacctgt gcattagatg ca 22

<210> 76
<211> 20
<212> DNA
<213> Unbekannt
<220>

<223> Synthetisierte Sonden

<400> 76

catggtgtga gtctgggcct 20

<210> 77

<211> 25

<212> DNA

<213> Unbekannt

<220>

<223> Synthetisierte Sonden

<400> 77

tggtacaggg tgcctatttt agtca 25

<210> 78

<211> 25

<212> DNA

<213> Unbekannt

<220>

<223> Synthetisierte Sonden

<400> 78

tgtagtttcc aaaatgaacc cttgt 25

<210> 79

<211> 24

<212> DNA

<213> Unbekannt

<220>

<223> Synthetisierte Sonden

<400> 79

aactgccttg tgttctgtga gaaa 24

<210> 80

<211> 23

<212> DNA

<213> Unbekannt

<220>

<223> Synthetisierte Sonden

<400> 80

gcagcattgt aagttgtgat gca 23

<210> 81

<211> 22

<212> DNA

<213> Unbekannt

<220>

<223> Synthetisierte Sonden

<400> 81

ttgaacactc actccacaac cc 22

<210> 82

<211> 30

<212> DNA

<213> Unbekannt

<220>

<223> Synthetisierte Sonden

<400> 82

tttcacatca acaaacaaaa ttcattataa 30

Patentansprüche

1. Verfahren zum Screenen auf Schizophrenie in einer Population, das umfasst die in vitro Bestimmung des Expressionsausmaßes zumindest eines Gens bei Vertretern einer Population, das ausgewählt ist aus der Gruppe, die besteht aus dem Gen, das für das durch Progesteron induzierte Decidualprotein (DEPP) kodiert, dem Gen, das für Adrenomedullin kodiert und dem Gen, das für das Kälteschockdomänenprotein A (CsdA) in einer Probe kodiert und den Vergleich der Größenordnung der Expression mit einer Grundliniengrößenordnung der Expression des Gens umfasst, worin die erhöhte Genexpression das Vorkommen von Schizophrenie anzeigt.

2. Verfahren zur Diagnose von Schizophrenie bei einem Wirt, das die in vitro Bestimmung der Expressionsgrößenordnung von mindestens einem Gen, das ausgewählt ist aus der Gruppe, die besteht aus dem Gen, das für das durch Progesteron induzierte Decidualprotein (DEPP) kodiert, dem Gen, das für Adrenomedullin kodiert und dem Gen, das für das Kälteschockdomänenprotein A (CsdA) kodiert in einer Probe und den Vergleich der Größenordnung der Expression mit einer Grundliniengrößenordnung der Expression des Gens umfasst, worin die erhöhte Genexpression das Vorkommen von Schizophrenie anzeigt.

3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, worin die Probe aus dem Gehirn, dem Spinatstrang, der lymphatischen Flüssigkeit, dem Blut, dem Urin oder dem Stuhl entnommen wird.

4. Verfahren nach Anspruch 3, worin die Probe aus dem anterioren Cingluate entnommen wird.

5. Verfahren nach Anspruch 1, 2, 3 oder 4, worin die Probe von einem Menschen stammt.

6. Verwendung eines transgenen Tieres, das ein Transgen aus zumindest einem der Gene exprimiert, das ausgewählt ist aus der Gruppe, die besteht aus dem Gen, das für das durch Progesteron induzierte Decidualprotein (DEPP) kodiert, dem Gen, das für Adrenomedullin kodiert und dem Gen, das für das Kälteschockdomänenprotein A (CsdA) kodiert, worin die entstehende Expression des zumindest einen Gens höher als die Grundlinie ist, um die Effekte von therapeutischen oder potentiell therapeutischen Verbindungen für Schizophrenie zu bestimmen.

7. Verwendung nach Anspruch 6, worin die Expression des Gens im transgenen Tier durch eine oder mehrere Veränderungen der regulatorischen Sequenzen des Gens so erhöht ist, dass das Gen stärker als die Grundlinienspiegel exprimiert wird.

8. Verwendung nach Anspruch 6, worin die Expression des Gens im transgenen Tier durch eine erhöhte Kopiezahl des Gens erhöht ist.

9. Verwendung nach Anspruch 6, 7 oder 8, worin das transgene Tier ein Säuger ist.

10. Verwendung nach Anspruch 7, 8 oder 9, worin die eine oder mehrere Veränderungen eine Substitution eines Promotors umfassen, der eine höhere Expressionsrate als der native Promotor des Gens aufweist.

11. Verwendung nach Anspruch 10, worin der Promotor ein induzierbarer Promotor ist.

12. Verfahren zum Screenen einer Verbindung, die zur Behandlung der Schizophrenie brauchbar ist, das umfasst die operative Anbindung eines Reportergens, das ein detektierbares Protein exprimiert, an eine regulatorische Sequenz für ein Gen, das aus der Gruppe ausgewählt ist, die besteht aus DEPP, Adrenomedullin und CsdA, zur Herstellung eines Reporterkonstrukts, Transfektion einer Zelle mit dem Reporterkonstrukt, Aussetzen der transfizierten Zelle gegenüber einer Testverbindung und Vergleich der Expressionsmenge des Reportergens nach der Exposition gegenüber der Testverbindung mit der Expressionsmenge vor der Exposition gegenüber der Testverbindung, worin eine geringere Expressionsmenge nach der Exposition eine Verbindung anzeigt, die zur Behandlung der Schizophrenie brauchbar ist.

Es folgen 3 Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

```
   1 ctggatagaa cagctcaagc cttgccactt cgggcttctc actgcagctg ggcttggact
  61 tcggagtttt gccattgcca gtgggacgtc tgagactttc tccttcaagt acttggcaga
 121 tcactctctt agcagggtct gcgcttcgca gccgggatga agctggtttc cgtcgccctg
 181 atgtacctgg gttcgctcgc cttcctaggc gctgacaccg ctcggttgga tgtcgcgtcg
 241 gagtttcgaa agaagtggaa taagtgggct ctgagtcgtg ggaagaggga actgcggatg
 301 tccagcagct accccaccgg gctcgctgac gtgaaggccg ggcctgccca gacccttatt
 361 cggccccagg acatgaaggg tgcctctcga agccccgaag acagcagtcc ggatgccgcc
 421 cgcatccgag tcaagcgcta ccgccagagc atgaacaact tccagggcct ccggagcttt
 481 ggctgccgct tcgggacgtg cacggtgcag aagctggcac accagatcta ccagttcaca
 541 gataaggaca aggacaacgt cgcccccagg agcaagatca gcccccaggg ctacggccgc
 601 cggcgccggc gctccctgcc cgaggccggc ccgggtcgga ctctggtgtc ttctaagcca
 661 caagcacacg gggctccagc ccccccgagt ggaagtgctc cccactttct ttaggattta
 721 ggcgcccatg gtacaaggaa tagtcgcgca agcatcccgc tggtgcctcc cgggacgaag
 781 gacttcccga gcggtgtggg gaccgggctc tgacagccct gcggagaccc tgagtccggg
 841 aggcaccgtc cggcggcgag ctctggcttt gcaagggccc ctccttctgg gggcttcgct
 901 tccttagcct tgctcaggtg caagtgcccc agggggcggg gtgcagaaga atccgagtgt
 961 ttgccaggct taaggagagg agaaactgag aaatgaatgc tgagaccccc ggagcagggg
1021 tctgagccac agccgtgctc gcccacaaac tgatttctca cggcgtgtca ccccaccagg
1081 gcgcaagcct cactattact tgaactttcc aaaacctaaa gaggaaaagt gcaatgcgtg
1141 ttgtacatac agaggtaact atcaatattt aagtttgttg ctgtcaagat ttttttgta
1201 acttcaaata tagagatatt tttgtacgtt atatattgta ttaagggcat tttaaaagca
1261 attatattgt cctcccctat tttaagacgt gaatgtctca gcgaggtgta aagttgttcg
1321 ccgcgtggaa tgtgagtgtg tttgtgtgca tgaaagagaa agactgatta cctcctgtgt
1381 ggaagaagga aacaccgagt ctctgtataa tctatttaca taaaatgggt gatatgcgaa
1441 cagcaaacc
```

cDNA, die für Präproadrenomedullin kodiert

Fig. 1

```
   1 cacactgctc agggaagagc ctgctacggt ggactgtgag actcagtgca ctgtcctcct
  61 cccagcgacc ccacgctgga ccccctgccg gaccctccac ccttcggccc ccaagcttcc
 121 caggggcttc ctttggactg gactgtccct gctcatccat tctcctgcca cccccagacc
 181 tcctcagctc caggttgcca cctcctctcg ccagagtgat gaggtcccgg cttctgctct
 241 ccgtggccca tctgcccaca attcgggaga ccacggagga gatgctgctt gggggtcctg
 301 gacaggagcc cccaccctct cctagcctgg atgactacgt gaggtctata tctcgactgg
 361 cacagcccac ctctgtgctg gacaaggcca cggcccaggg ccaacccagg ccaccccaca
 421 ggccagccca ggcctgccgg aagggccgcc ctgctgtgtc cctgcgagac atcaccgcac
 481 gtttcagtgg ccagcagccc acactgccca tggctgatac tgtggacccc ctggactggc
 541 tttttgggga gtcccaggaa aagcagccaa gccagaggga cctgccaagg aggactggcc
 601 cctctgctgg cctctggggt ccacatagac agatggacag cagcaagccc atgggggccc
 661 ccagagggag gctctgtgaa gccaggatgc ctgggcattc cctggcaaga ccaccgcagg
 721 atgggcagca gagctctgac ctaagaagct ggacttttgg gcagtctgcc caagccatgg
 781 cctcccgcca ccgcccccgc cccagcagtg tcctcagaac actctactcg cacctcccgg
 841 tgatccatga actctgaccc ctccccagta aaggcttctg tagagagcat gctgggtctg
 901 catctcctct cgtctcctcc atggtggtca ctgcccctgg caggtctctg aaagggaaat
 961 gcttttctgc agaggccccc tcttgggcag ttcacagtta gacccacccc ctctgaatat
1021 gataacagcc tgtttcacat gaggagatgt taccaatccc gttcgctctg acccttgctg
1081 gctgatcacc ttgagcaact tacttaacat ctgtgttcct cagtttctca tgggtaatat
1141 agggataatt actggcacct gcctcccagg ccattctgac gtgtaccgca tataggagcc
1201 cactggctga gtagctacca tcatcgctgg tggggaaact ggtggtaggg gtgtgagggt
1261 agtgggggtg tcagccccca ggtgtttcag aacaaggcct cgggcactcc caagtctgcc
1321 tcttggctcc caccctcaaa gcccatgttc tgtgaggccc aagagaacac atggagtctt
1381 agcaaatgca ctaatgtatt ccgggggact gtcacctggc accactgggg cactctgctg
1441 gctacaactc atacgtcctg tggtggcatt gggagagttc ccccatgatg agggccaaga
1501 tagaatctgt accactcagt gctaccatcc ccacccctac accacttcca cacaggggcc
1561 tcatggcatg gtcagggtcc cagctgtggg tgagagcagg gcactgtcca gctgtccact
1621 ggggaagtca agatgtccta aggcccaggc cagggcatct ggagtctgaa ggaccctagt
1681 tcctagaggc atctggcagc aagaaggtga ggcatcaggg aacgggaatc aggctgggac
1741 tgatcagagg tgaagggaca gagagaggag aggaggaaga ttgagctggg gcaacagcca
1801 agctcacctg gcaggtctct gccacctcct tctctgtgag ctgtcagtct aggttattct
1861 ctttttttgt ggctattttt aattgctttg gatttgttaa atgttttctg tcttctgtta
1921 agtgtgtttt ctctggagat agaatgtaaa ccatattaaa aggaaaaagt ttcagacaag
1981 caattaccca gtttccttat ctataaaatg gggacatcag caatgttctt cacaccctgc
2041 aagggctggg aattgcgcat gtgaacttgg agctgcattt atgagcactg tagacaaatg
2101 tttgtatctg tcac
```

cDNA, die für DEPP kodiert

Fig. 2

```
   1 gaattccggc acgaagctcg agccgcctcc gccgcgcgac cccacctcgg ccgccgccgc
  61 ctgcgccgcg agatccgccc cggcctcccc gagagcgagc cccggccgcc gcgaccacca
 121 gccgcgctaa ccgccgacca accgccaccg aggcgcctga gcgagagcag aggaggagga
 181 ggcatgagtg aggcgggcga ggccaccacc accaccacca ccaccctccc gcaggctccg
 241 acggaggcgg ccgccgcggc tccccaggac cccgcgccca agagccccggt gggcagcggt
 301 gcgccccagg ccgcggcccc ggcgcccgcc gcccacgtcg caggaaaccc cggtggggac
 361 gcggcccccg cagccacggg caccgcggcc gccgcctctt tagccaccgc cgccggcagc
 421 gaagacgcgg agaaaaaagt tctcgccacc aaagtccttg gcactgtcaa atggttcaac
 481 gtcagaaatg gatatggatt tataaatcga aatgacacca aagaagatgt atttgtacat
 541 cagactgcca tcaagaagaa taacccacgg aaatatctgc gcagtgtagg agatggagaa
 601 actgtagagt ttgatgtggt tgaaggagag aagggtgcag aagctgccaa tgtgactggc
 661 ccggatggag ttcctgtgga agggagtcgt tacgctgcag atcggcgccg ttacagacgt
 721 ggctactatg gaaggcgccg tggccctccc cggaattacg ctggggagga ggaggaggaa
 781 gggagcggca gcagtgaagg atttgacccc cctgccactg ataggcagtt ctctggggcc
 841 cggaatcagc tgcgccgccc ccagtatcgc cctcagtacc ggcagcggcg gttcccgcct
 901 taccacgtgg gacagacctt tgaccgtcgc tcacgggtct taccccatcc caacagaata
 961 caggctggtg agattggaga gatgaaggat ggagtcccag agggagcaca acttcaggga
1021 ccggttcatc gaaatccaac ttaccgccca aggtaccgta gcaggggacc tcctcgccca
1081 cgacctgccc cagcagttgg agaggctgaa gataaagaaa atcagcaagc caccagtggt
1141 ccaaaccagc cgtctgttcg ccgtggatac cggcgtccct acaattaccg gcgtcgcccg
1201 cgtcctccta acgctccttc acaagatggc aaagaggcca aggcaggtga agcaccaact
1261 gagaaccctg ctccacccac ccagcagagc agtgctgagt aacaccaggc tcctcaggca
1321 ccttcaccat cggcaggtga cctaaagaat taatgaccat tcagaaataa agcaaaaagc
1381 aggccggaat tc
```

cDNA, die für CsdA kodiert

Fig. 3