

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2005-508148

(P2005-508148A)

(43) 公表日 平成17年3月31日(2005.3.31)

(51) Int. Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/09	C 1 2 N 15/00	2 G O 4 5
A O 1 K 67/027	A O 1 K 67/027	4 B O 2 4
A 6 1 K 31/7088	A 6 1 K 31/7088	4 B O 6 4
A 6 1 K 45/00	A 6 1 K 45/00	4 C O 8 4
A 6 1 K 48/00	A 6 1 K 48/00	4 C O 8 6
	審査請求 未請求 予備審査請求 有	(全 58 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2003-507120 (P2003-507120)	(71) 出願人	397056695
(86) (22) 出願日	平成14年6月24日 (2002.6.24)		アベンティス・ファーマ・ドイツュラント
(85) 翻訳文提出日	平成15年12月19日 (2003.12.19)		・ゲゼルシャフト・ミット・ベシュレンク
(86) 国際出願番号	PCT/EP2002/006964		テル・ハフツング
(87) 国際公開番号	W02003/000717		ドイツ連邦共和国デー65929フラン
(87) 国際公開日	平成15年1月3日 (2003.1.3)		クフルト・アム・マイン、ブリュニングシ
(31) 優先権主張番号	101 30 247.9		ユトラーセ50
(32) 優先日	平成13年6月22日 (2001.6.22)	(74) 代理人	100091731
(33) 優先権主張国	ドイツ (DE)		弁理士 高木 千嘉
		(74) 代理人	100080355
			弁理士 西村 公佑
		(74) 代理人	100127926
			弁理士 結田 純次
		(74) 代理人	100105290
			弁理士 三輪 昭次
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 s e s - 3 の同定、およびその使用

(57) 【要約】

本発明は、S E S - 3 タンパク質または変異 S E S - 3 タンパク質をコードする単離された核酸分子、ならびに、このような核酸分子を含むベクターおよびトランスジェニック生物に関する。本発明はまた、医薬を製造するため、およびモデル生物を作製するための、このような核酸分子または機能的に類似したものの使用に関する。さらに本発明は、対応する S E S - 3 タンパク質および変異 S E S - 3 タンパク質、ならびに、それにより誘導された抗体に関する。最後に、本発明は、アルツハイマー病を治療するための、ヒトプレセニリンの発現を増加させる物質の使用、前記物質それ自身、および、それらを含む医薬組成物に関する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

S E S - 3 をコードする単離された核酸分子。

【請求項 2】

変異 S E S - 3 をコードする単離された核酸分子。

【請求項 3】

変異 S E S - 3 が、1 またはそれ以上の改変を含む、請求項 2 に記載の単離された核酸分子。

【請求項 4】

D N A 分子、特に c D N A 分子もしくはゲノム D N A 分子、または R N A 分子である、請求項 1 ～ 3 のいずれか一項に記載の単離された核酸分子。 10

【請求項 5】

S E S - 3 が、配列番号 1 で示されるアミノ酸配列と同一であるかまたは実質的に同じアミノ酸配列を有する、請求項 1 ～ 4 のいずれか一項に記載の単離された核酸分子。

【請求項 6】

配列番号 2 またはその相補配列で与えられるヌクレオチド配列を含む、請求項 1 に記載の単離された核酸分子。

【請求項 7】

ヌクレオチド配列が、請求項 6 に記載の単離された核酸分子と少なくとも 75 % の配列類似性を示すか、またはストリンジェントな条件下で請求項 6 に記載の単離された核酸分子とハイブリダイズする、単離された核酸分子。 20

【請求項 8】

請求項 1 ～ 7 のいずれか一項に記載の単離された核酸分子を含むベクター。

【請求項 9】

請求項 1 ～ 7 のいずれか一項に記載の単離された核酸分子の断片を含むベクター。

【請求項 10】

線虫 *C. elegans* の細胞における発現のためのプロモーターを含む、請求項 8 または 9 に記載のベクター。

【請求項 11】

プラスミド、コスミド、バクミド、ウイルスまたはバクテリオファージである、請求項 8 ～ 10 のいずれか一項に記載のベクター。 30

【請求項 12】

配列番号 1 で示されるアミノ酸配列またはそれらの断片を有する S E S - 3 タンパク質。

【請求項 13】

変異 S E S - 3 タンパク質またはそれらの断片。

【請求項 14】

配列番号 1 で示されるアミノ酸配列の 1 またはそれ以上のアミノ酸を欠くか、または配列番号 1 で示されるアミノ酸配列の 1 またはそれ以上のアミノ酸が他のアミノ酸で置換されているか、または 1 またはそれ以上のアミノ酸が配列番号 1 で示されるアミノ酸配列に付加されている、請求項 12 または 13 に記載の S E S - 3 タンパク質。 40

【請求項 15】

請求項 12 ～ 14 のいずれか一項に記載の S E S - 3 タンパク質に対して産生された抗体。

【請求項 16】

モノクローナル抗体またはポリクローナル抗体である、請求項 15 に記載の抗体。

【請求項 17】

請求項 1 ～ 7 のいずれか一項に記載の核酸分子を含むトランスジェニック非ヒト生物。

【請求項 18】

線虫、特に *C. elegans* である、請求項 17 に記載のトランスジェニック非ヒト生物。

【請求項 19】

S E S - 3 の活性を減少させるか、増幅させるか、または除去する S E S - 3 対立遺伝子を示す、請求項 18 に記載のトランスジェニック C. e l e g a n s 生物。

【請求項 20】

s e l - 1 2 の C. e l e g a n s 変異体における産卵異常表現型 (E g l) を相殺する S E S - 3 対立遺伝子を示す、請求項 19 に記載のトランスジェニック C. e l e g a n s 生物。

【請求項 21】

h o p - 1 または s e l - 1 2 の活性を増加させる S E S - 3 対立遺伝子を示す、請求項 19 または 20 に記載のトランスジェニック C. e l e g a n s 生物。

10

【請求項 22】

s e s - 3 に相同なヒト遺伝子 (K I A A 0 6 0 1) を含むか、または相同 D r o s o p h i l a m e l a n o g a s t e r 遺伝子 (A L T 1) を含むか、または特に C. e l e g a n s 由来の機能的に類似した遺伝子を含む、トランスジェニック非ヒト生物 (特に C. e l e g a n s) 。

【請求項 23】

神経疾患、特に神経変性疾患を治療するための医薬を製造するための、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の単離された核酸分子または機能的に類似した遺伝子の使用。

【請求項 24】

神経疾患、特に神経変性疾患の調査および解明のためのモデル生物を作製するための、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の単離された核酸分子または機能的に類似した遺伝子の使用。

20

【請求項 25】

S E S - 3 の活性を改変する物質を同定および／または特徴付ける方法における、請求項 17 ~ 22 のいずれか一項に記載のトランスジェニック C. e l e g a n s 生物の使用。

【請求項 26】

S E S - 3 の活性を減少させる物質または除去する物質を同定および／または特徴付ける方法における、請求項 25 に記載のトランスジェニック C. e l e g a n s 生物の使用。

【請求項 27】

h o p - 1 または s e l - 1 2 の活性を増加させる物質を同定および／または特徴付ける方法における、請求項 17 ~ 22 のいずれか一項に記載のトランスジェニック C. e l e g a n s 生物の使用。

30

【請求項 28】

アルツハイマー病を治療および／または予防するための活性化合物として用いることができる物質を同定および／または特徴付ける方法における、請求項 17 ~ 22 のいずれか一項に記載のトランスジェニック C. e l e g a n s 生物の使用。

【請求項 29】

アルツハイマー病を治療する医薬品を製造するためのヒトプレセニリン 1 またはプレセニリン 2 の発現を増加させる物質の使用。

【請求項 30】

ヒトプレセニリン 1 またはプレセニリン 2 の発現を増加させる物質。

40

【請求項 31】

請求項 30 に記載の物質を含む医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、s e s - 3 または変異 s e s - 3 をコードする単離された核酸分子、これら核酸分子を含むベクター及びトランスジェニック生物、医薬製造およびモデル生物生産のためのこれら核酸分子または機能的に類似した核酸分子の使用、s e s - 3 の活性を改変する物質、または、プレセニリン活性 (例えば s e l - 1 2 または h o p - 1 の活性) をそ

50

れぞれ増加させる物質を同定する方法におけるトランスジェニック生物の使用、ならびに対応するSES-3タンパク質および変異SES-3タンパク質、同様に、これらタンパク質が産生する抗体に関する。その上、本発明は、アルツハイマー病を治療するためのヒトプレセニリンの発現を増加させる物質の使用、これら物質それ自体、および、これら物質を含む医薬組成物に関する。

【背景技術】

【0002】

パーキンソン病に加えて、最もよく知られた神経変性疾患としてアルツハイマー病がある。アルツハイマー病の特徴は、神経タンパク質の凝集の発達（プラークと称される）であり、これは実質的に、アミロイドβ-ペプチド（Aβ4）と称されるサイズが4kDaの不溶性のペプチドから成る。ここ数年で行われた調査によれば、Aβ4の形成が、原因として病気の進行に関与することが示唆される。3つの遺伝子における優性変異が、病気の家族性形態（FAD、家族性アルツハイマー病）をもたらす。関連する遺伝子の一つが、アミロイド前駆体タンパク質（APP）をコードし、APPは3種のプロテアーゼでプロセシングされ、その結果として特にAβ4が形成されるということがわかっている。APPにおけるFAD変異により、生産されるAβ42（42個のアミノ酸長のAβ4変異体）の量が増加する。

【0003】

アルツハイマー病が発症する家族の分子遺伝学的調査により、ヒト遺伝子プレセニリン1およびプレセニリン2が同定され（Rogaev et al. 1995, Nature 376, 775-778; Levy-Lahad, E. et al. 1995, Science 269: 973-977）これらが特定の変異により改変された場合、原因としてアルツハイマー病の発症に関与し、これはまた、病気の進行の際に、ノッチシグナル伝達経路において主要な役割を果たす。プレセニリンタンパク質はER-ゴルジに存在し、少なくとも6回膜貫通ドメインを有する。PS1およびPS2における変異が、Aβ4の形成に影響を及ぼし、おそらくアミロイド沈着が形成されることによりアルツハイマー病発症に関与するということがわかっている。プレセニリンファミリーのメンバーは、特に、マウス、キイロショウジョウバエ、アフリカツメガエル、および、線虫Caenorhabditis elegansで同定されている。ヒトにおいて変異プレセニリンはAPPのプロセシングに影響を与えるが、ヒトにおけるそれらの天然の機能は、詳細にはわかっていない；それらはAPPプロテアーゼ（γ-セクレターゼ）として機能する可能性があると仮定されている。ヒト細胞培養物で行われたその他の調査によれば、プレセニリンは、それらがリガンド結合により活性化された後の細胞内のノッチ様受容体のタンパク質分解において役割を果たすということが示されている。それゆえに、プレセニリンが、少なくとも2種の異なる膜タンパク質（APPおよびノッチ）のプロセシングに関与すると考えられる。目下、プレセニリンそれ自体がこのプロセシングにおいてプロテアーゼであるのかどうか、または、それらがこれら反応の補因子なのか、もしくは間接的にタンパク質分解に影響を与えるのかについて物議を醸している（Haass, C. et al. 1999, Science 286 (5441): 916-919）。

【0004】

上述のプレセニリン遺伝子を出発点として、分子レベルの病気のプロセスを明らかにし、アルツハイマー病を治療および予防するための医薬を開発するために集中的なリサーチが行われている。プレセニリン遺伝子の活性に影響を与える因子が探索されており、特に、この点において、プレセニリン変異体表現型のサプレッサーの探索が特に重視されている。サプレッサーは、プレセニリン機能の必要性を除去するその他の遺伝子における変異であってもよいし、または、プレセニリン変異体の欠陥が表現型の結果にいかなる影響も及ぼさないようにその他の遺伝子またはプレセニリンの活性を調節する物質であってもよい。

【0005】

線虫、特にCaenorhabditis elegansは、このような調査における

10

20

30

40

50

好ましいモデル生物として頻繁に用いられてきた。線虫モデル、特に *C. elegans* モデルの利点は、特に、ハイスループット法 (HTS; ハイスループットスクリーニング) に適していること、世代時間が短いために (2~3 日) 速い遺伝分析が可能であること、および、*C. elegans* の神経系の分子および機能的特性の知識が詳細であることにある。*C. elegans* はマイクロタイプレート上で維持できるために、この試験系を用いて、HTS により 10000 またはそれ以上の物質を、生きた線虫において短い期間で試験することが可能である。

【0006】

これまでのところ、*sel-12*、*hop-1* および *spe-4* と指定される 3 種のプレセニリン遺伝子が線虫 *C. elegans* で同定されている。*spe-4* は、最も分岐したファミリーメンバーである。*spe-4* における変異により、精子形成の際の細胞質分配において異常が生じる (L'Herneault, S. W. et al. 1992, J Cell Biol 119: 55-68)。*hop-1* における変異は目に見える表現型を全く示さないが、その変異と *sel-12* の変異とを組み合わせると、合成的な致死性の表現型がもたらされる (Li, X. et al. 1997, Proc Natl Acad Sci USA 94: 12204-12209)。*sel-12* は、ヒト PS1 および PS2 に最もよく似た遺伝子であり、*C. elegans* において最もよく研究されたプレセニリン遺伝子でもある。特定の *sel-12* 変異体は産卵異常を示し、さらに産卵口発達における形態学的変化も示すということがわかっている (Levitani, D. et al. 1995, Nature 377: 351-4)。*sel-12* はヒト
プレセニリンと 50% 同一であり、*sel-12* 変異体における産卵異常は、*sel-12* プロモーターから PS1 または PS2 を遺伝子導入により発現させることにより相殺される (Baumeister et al., 1997, Genes and Function 1: 149-159)。これは、PS1 および PS2 が、*sel-12* と機能的に相同であることを示している。当初は、*sel-12* 変異は、*lin-12* および *glp-1* ノッチ受容体遺伝子における機能獲得型突然変異体の複数の産卵口の表現型のサプレッサーとして同定された。ノッチ受容体は、多くの多細胞生物における細胞運命の決定を制御する。加えて、*sel-12* 変異体の表現型が、*lin-12* の弱い機能喪失型変異体の表現型と類似していることが示されている。要約すれば、哺乳動物など多数の生物におけるノッチシグナル伝達においてプレセニリンは重要な役割を果たすと言える。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

そこで本発明の発明者等は、驚くべきことに、他の遺伝子における特定の變異、すなわち本発明者により初めて同定された *C. elegans* の *ses-3* 遺伝子における變異が、欠陥、特に *sel-12* 變異体の産卵異常を抑制することができることを見出した。これら變異は、*ses-3* の発現または活性を改変する、特に減少させることを特徴とする。これは、*ses-3* 遺伝子における特定の變異により、例えば、特定の *sel-12* 變異により生じる産卵異常が除去され、二重變異体 (*sel-12⁻; ses-3⁻*) が再び正常な野生型表現型を示すようになることを意味する。より詳細な調査によれば、*ses-3* 遺伝子におけるこれら變異により、*sel-12* 變異体において、*hop-1* が活性化されるようになり、すなわち *hop-1* プレセニリンタンパク質が、欠陥 *sel-12* プレセニリンタンパク質の機能に取って代わることが示された (図 1)。

【0008】

本発明の発明者により、*C. elegans* のゲノムにおいて新規の *ses-3* 遺伝子の位置決定がなされ、さらに、それを配列決定した。

【0009】

その結果として、本発明はまず、SES-3 タンパク質をコードする単離された核酸分子に関し、および、變異 SES-3 タンパク質をコードする他の核酸分子に関する。

【0010】

これに加えて、本発明は、これら単離された核酸分子、またはそれらの断片を含むベクターに関する。

【0011】

その上、本発明は、前記核酸分子によりコードされたSES-3タンパク質および変異SES-3タンパク質またはそれらの断片に関し、および、これらタンパク質を用いて生産された抗体に関する。

【0012】

加えて、本発明は、SES-3タンパク質または変異SES-3タンパク質をコードする単離された核酸分子を含むトランスジェニック非ヒト生物に関する。特に、本発明は、ses-3の活性を減少させ、sel-12またはhop-1の活性をそれぞれ増加させる ses-3対立遺伝子を示すトランスジェニックC. elegans生物に関する。この点において、トランスジェニック生物は、ゲノムが変異により改変され、その結果として変異ses-3遺伝子が示される、または、ses-3遺伝子が除去された生物と理解される。

【0013】

最後に、本発明は、アルツハイマー病に向けられた医薬を製造するため、および、この病気をさらに調査するためのモデル系を作製するためのこれら核酸分子の使用に関する。

【0014】

特に、本発明は、ses-3の活性を減少させる物質またはsel-12またはhop-1の活性をそれぞれ増加させる物質を同定および／または特徴付ける方法における、トランスジェニックC. elegansの使用に関する。

【0015】

その上本発明はまた、アルツハイマー病に向けられた医薬を製造するため、および、この病気をさらに調査するためのモデル系を作製するための、相同ヒト遺伝子、相同キイロシヨウジョウバエ遺伝子、または、機能的にses-3と類似した遺伝子の使用に関する。

【0016】

最後に、本発明はまた、アルツハイマー病を治療するためのヒトプレセニリン1または2の発現を増加させる物質の使用、および、これら物質それ自体、および、これら物質を含む医薬組成物に関する。

【0017】

発明の詳細な説明

本発明は、C. elegansにおいて新規の遺伝子ses-3を同定することができたという事実に基づき、この遺伝子は、C. elegansプレセニリン遺伝子sel-12およびhop-1と相互作用し、それによりアルツハイマー病の進行において重要な役割を果たす。

【0018】

従って、ses-3遺伝子の完全な欠失もまた含むses-3遺伝子における様々な変異は、sel-12変異が抑制されることにより引き起こされる特定の改変された表現型を生じる。ses-3変異体におけるこれらsel-12の欠陥の抑制は、hop-1発現を後半に目立って活性化すること、および、HOP-1タンパク質がおそらく欠陥SEL-12タンパク質の機能に取って代わることが可能なことにより達成される。

【0019】

同定されたses-3遺伝子は、アミノ酸137～アミノ酸264のFAD結合部位、および、アミノ酸264～アミノ酸677のアミノオキシダーゼモチーフを含むタンパク質をコードする(図2)。SES-3タンパク質は、ヒトタンパク質KIAA0601およびDrosophila melanogasterタンパク質ALT1と系統発生的関係を示し、加えて、コンピューター検索(BLAST検索プログラム)では、その他の類似のC. elegansタンパク質T08D10.2に関する遺伝子が同定された。相同性の程度を図3および4に示す。

【0020】

10

20

30

40

50

その結果として、本発明は、SES-3タンパク質をコードする単離された核酸分子を提供する。

【0021】

その上、本発明は、変異SES-3タンパク質をコードする単離された核酸分子を含む。特に、本発明は、変異SES-3タンパク質をコードする単離された核酸分子を提供する。

【0022】

これに加えて、本発明の他の観点は、単離された核酸分子、特にDNA分子、例えばcDNA分子またはゲノムDNA分子、さらにRNA分子に関し、これらは、例えば、配列番号1で示されるアミノ酸配列を有するC. elegansのSES-3タンパク質をコードし、特に配列番号2で示される核酸配列を示す核酸分子である。 10

【0023】

本発明はまた、ヌクレオチド配列が、上述の核酸分子と、少なくとも75%、特に少なくとも80%、特に少なくとも85%、好ましくは少なくとも90%、特に好ましくは少なくとも95%、最も好ましくは少なくとも98%の配列類似性を示し、特にストリンジェントな条件下で上述の核酸分子とハイブリダイズする単離された核酸分子を含む。このようなハイブリダイゼーションは、好ましくは、低いストリンジェンシー条件で起こり；他の実施形態においては、高いストリンジェンシー条件下でも起こる。本明細書においては、低いストリンジェンシーの条件は、3×SSC中の、室温〜65℃でのハイブリダイゼーションを意味するものと理解され、高いストリンジェンシーの条件は、0.1×SSC中の、68℃でのハイブリダイゼーションを意味するものと理解される。SSCとは、0.15M塩化ナトリウム、0.015Mクエン酸三ナトリウム緩衝液の略語である。 20

【0024】

配列番号2で示される核酸配列に類似した核酸配列を有する本発明に係る核酸分子はまた、特に所定の核酸配列の対立遺伝子変異体を含み、この変異体は、特に上述の変異を含む。

【0025】

本発明はまた、それぞれの場合において上述の核酸配列に相補的な核酸配列を含む核酸分子にも及ぶ。

【0026】

本明細書において、用語「単離された核酸分子」は、初発細胞または生産細胞から生じた性質が異なる核酸分子の主な量から実質的に精製された形態で存在する核酸分子を意味する。しかしながら、本発明に係る単離された核酸分子の調製物は、その他の成分、例えば塩、培地からの物質または生産細胞の残留成分、例えば様々なタンパク質を含んでいてもまったく問題がない。 30

【0027】

本発明はまた、SES-3タンパク質または変異SES-3タンパク質をコードする本発明に係る核酸分子を含むベクターを含む。本発明はまた、本発明に係る核酸分子の断片を含むベクターを含む。この点において、該核酸分子は、発現のために用いられる生物で該核酸分子を発現させるプロモーターに連結される。この点において、既知のC. elegansプロモーターの一つ (<http://chinook.uoregon.edu/promoters.html>) が、特にC. elegansで発現させるために用いられる。 40

【0028】

ベクターとしては、例えば、プラスミド、コスミド、バクミド、ウイルスまたはバクテリオファージが可能である。

【0029】

他の観点は、上記核酸分子でコードされたポリペプチドまたはタンパク質、特に配列番号1で示されるアミノ酸配列を有するC. elegansのSES-3タンパク質、および、上述の変異SES-3タンパク質に関し、また、アミノ酸の置換、修飾、欠失、挿入または付加によりそれらから誘導され、かつ、上述のアミノ酸配列と、少なくとも75%、 50

特に少なくとも80%、特に少なくとも85%、好ましくは少なくとも90%、特に好ましくは少なくとも95%、最も好ましくは少なくとも98%の配列類似性を示すポリペプチドまたはタンパク質に関する。本発明はまた、融合タンパク質を含み、該融合タンパク質は、性質が異なるタンパク質または性質が異なるタンパク質セグメント（例えばマーカータンパク質または指標タンパク質）に融合した本発明に係るポリペプチド、タンパク質またはタンパク質断片を含む。本発明はまた、上述のタンパク質またはポリペプチドの断片を含む。

【0030】

同様に、これらタンパク質を用いて得られ、モノクローナルまたはポリクローナルであり得る抗体も本発明に含まれる。

10

【0031】

本発明はまた、トランスジェニック生物、特に微生物、例えば細菌、ウイルス、原生動物、菌類および酵母、藻類、植物または動物、ならびに、部分（例えば細胞）、ならびに、これらトランスジェニック生物からの繁殖のための物質（例えば種子）にも及び、該トランスジェニック生物は、必要に応じて染色体または染色体外に組込まれるか、組換え核酸配列を含み、この組換え核酸配列は導入遺伝子としてSES-3タンパク質もしくは変異SES-3タンパク質またはそれらの断片をコードする本発明に係る核酸分子を含む。好ましい観点において、トランスジェニック生物はまた、上述の導入遺伝子でコードされたポリペプチドまたはタンパク質、すなわちC. elegansのSES-3タンパク質またはそれらから誘導されたポリペプチドもしくはタンパク質を発現し得る。

20

【0032】

本発明の一つの観点によれば、トランスジェニックC. elegans生物は、ses-3の活性を減少させるか、増幅させるか、または除去するses-3対立遺伝子を示す。本発明はまた、ses-3遺伝子が完全に除去されたトランスジェニックC. elegans生物を含む。特に、本発明は、sel-12変異体における産卵異常表現型(Egl)を相殺するses-3対立遺伝子を示すトランスジェニックC. elegans生物に関する。加えて、本発明は、hop-1またはsel-12の活性を増加させるses-3対立遺伝子を示すトランスジェニックC. elegans生物に関する。

【0033】

本発明はまた、神経疾患、特に神経変性疾患、特に好ましくはアルツハイマー病を治療するための医薬を製造するため、または、神経疾患、特に神経変性疾患のさらなる調査および解明のためのモデル生物を作製するための、本発明に係る核酸分子の使用を含む。

30

【0034】

上述の医薬は、例えば、遺伝子治療剤として本発明に係る核酸分子自体を用いることにより、または、このような核酸分子を用いてモデル生物を構築し、このモデル生物を用いて見出された物質を製剤化することにより得ることができる。これに関するさらなる詳細については、読者は、例えば同出願人が所有する国際出願PCT/EPO1/03214を参照することができる。

【0035】

特に、本発明は、ses-3の活性を改変する、特に減少または除去する物質を同定および／または特徴付ける方法における、本発明に係る核酸分子を含むトランスジェニックC. elegans生物の使用に関する。その上、本発明は、hop-1またはsel-12の活性を増加させる物質を同定および／または特徴付ける方法における、本発明に係る核酸分子を含むトランスジェニックC. elegans生物の使用に関する。

40

【0036】

その上、本発明は、アルツハイマー病を治療および／または予防するための活性化合物として用いることができる物質を同定および／または特徴付ける方法における、この同じトランスジェニックC. elegans生物の使用に関する。ヒト細胞との類似性を考慮し、さらに、C. elegansおよびヒトにおいて実証されたノッチシグナル経路およびプレセニン機能の機能的類似性という背景において、FADプレセニン変異体の機能

50

不全は、ヒトにおける *ses-3* と相同または機能的に同等な遺伝子に変異を入れることにより同じような方法で相殺され得ると考えられる。このような相同遺伝子は、特に、遺伝子 *KIAA0601* である。それゆえに、本発明の内容において、ヒト *ses-3* 相同体または機能的に同等な遺伝子における欠陥により、*FAD* 変異により影響を受けないプレセニリン遺伝子の発現が増加すると予想される。

【0037】

それゆえに、本発明はまた、アルツハイマー病を治療するためのヒトプレセニリンの発現を増加させる物質の使用、および、これら物質それ自体に関する。特に、本発明に係る物質としては、ヒトプレセニリン遺伝子1またはプレセニリン遺伝子2を活性化し、ヒトプレセニリントタンパク質1またはヒトプレセニリントタンパク質2の発現を増加させる物質が挙げられる。また、本発明に係る物質としては、*C. elegans* において *ses-3* の活性を変化させる物質、および／または、*sel-12* または *hop-1* プレセニリン活性を増加させる物質も挙げられる。本発明はまた、これら物質を含む医薬組成物も含む。

10

【0038】

類似の様式において、本発明はまた、年齢依存性であり変異とは関連しない散发性のアルツハイマー病ケースの治療においても利点を有する可能性がある。この点において、発現の減少は、プレセニリン活性を増加させることにより $A\beta 4$ 、特に $A\beta 42$ の形成を減少させ、それにより、年代順に病気の発症を遅らせることができると予想される。

【0039】

加えて、本発明はまた、相同ヒト遺伝子 (*KIAA0601*) の使用、図4で示される相同 *Drosophila melanogaster* 遺伝子 (*ALT1*) の使用、および、アルツハイマー病を治療および／または予防するための活性化化合物として用いることができる物質を発見するための、特に *C. elegans* から得られた機能的に類似した遺伝子の使用に関する。特に、本発明は、ヒトプレセニリン活性を増加させることができる物質を発見するためのこれら遺伝子の使用に関する。本発明はまた、これら相同または機能的に類似した遺伝子を含むトランスジェニック生物に関し、*hop-1* または *sel-12* 活性を増加させる物質、または、*ses-3* の活性を減少させる物質を同定および／または特徴付ける方法における、これら生物、特に *C. elegans* 生物の使用に関する。

20

30

【0040】

図面および配列表の簡単な説明

図1：*ses-3* 対立遺伝子における *hop-1* 濃度である。*hop-1* 特異的プローブでハイブリダイズしたノーザンブロットである。

図2：*SES-3* タンパク質のドメイン構造である。

図3：*SES-3* のアミノ酸配列と相同タンパク質のアミノ酸配列との比較である。

図4：*SES-3* の系統発生的関係および相同性である。

図5：異なる変異に依存する *ses-3* mRNA の検出である。ノーザンブロットである。

図6：*ses-3* 領域のゲノム構造、および、*ses-3* 変異体を補足するゲノムDNA導入遺伝子の図解である。

40

【0041】

配列番号1：*SES-3* のアミノ酸配列である。

配列番号2：*ses-3* のcDNA配列である。

配列番号3：*ses-3* 変異体を補足することができる *Y40B1B.6* のサブフラグメントのゲノム配列である。その結果として、この断片は、*ses-3* の発現に必要な全配列およびプロモーターセグメントを含む。

【0042】

以下、実施例により本発明をより詳細に説明する。

【実施例】

50

【0043】

ses-3 変異体の単離

sel-12 変異動物でみられる産卵異常のサプレッサーを *C. elegans* において単離するために、sel-12 (ar171) 変異を、突然変異誘発系統 mut-7 (pk704) に交雑した。得られた系は、20℃で、全ての *C. elegans* トランスポゾンの温度依存性の活性化を示す。変異誘発のために、sel-12 (ar171) unc-1 (e538) ; mut-7 (pk704) 動物を、20℃で、3.5cmのOP50を含むNGM寒天プレートで培養した。それぞれを作製した後、産卵可能な動物の出現を調べた。約30000の一倍体ゲノムを分析した結果、再現可能に産卵できる2匹の独立した変異動物を単離した。これら動物の産卵行動を、野生型動物の産卵行動と比較した。これら変異のうちの一つは ses-3 (by101) と名付けられた。

10

【0044】

sel-12 ; ses-3 表現型

ses-3 における変異は、sel-12 変異体の産卵異常を、実質的に完全に抑制する。95%の sel-12 (ar171) ; ses-3 (by101) 二重変異動物は、野生型の産卵行動と類似した産卵行動を示したが、一方で、5%の動物は、産卵における欠陥を示し、この欠陥は、sel-12 単一変異体における欠陥に相当する。ses-3 における変異は、全ての既知の sel-12 変異を抑制することができる。このことから、ses-3 は対立遺伝子特異的な方法で作用しないと結論付けることができる。sel-12 (ar171) ; ses-3 (by101) 二重変異動物は180~280個の子孫を生じる卵を産み、これは、平均60匹の子孫が生じる sel-12 (ar171) 単一変異体と対照的である。sel-12 (ar171) ; ses-3 (by101) 二重変異動物は約2~3日後に産卵をやめ、sel-12 単一変異の場合に通例的な「bag-of-worm」表現型では死なない。野生型動物と比較すれば、sel-12 (ar171) ; ses-3 (by101) 二重変異動物は、成長が1世代あたり約1日遅れるという挙動を示す。

20

【0045】

ses-3 遺伝子座のクローニング

典型的な遺伝学を用いて、第1染色体右腕における劣性変異として ses-3 を位置付けた。トランスポゾン変異誘発により ses-3 変異が作製されることから、トランスポゾンを ses-3 遺伝子のコーディング領域に挿入することにより変異を発生させることができた。これにより、sel-12 単一変異体系と比較したいわゆる多型が生じる。これは、mut-7 バックグラウンドにより生じた残存する多型を除去した後、野生型 *C. elegans* 系 N2 との外部交雑により得ることができる。このようにして外部交雑された sel-12 (ar171) ; ses-3 (by101) 系におけるトランスポゾンは、トランスポゾンディスプレイにより可視化することができる。野生型 sel-12 系との比較により、sel-12 (ar171) ; ses-3 (by101) 二重変異動物のみに存在するトランスポゾンを同定することが可能である。この方法を用いたところ、Tc3 挿入が遺伝子 Y40B1B. 6 のエキソン7中に同定され、これは、さらなる外部交雑により ses-3 変異から分離することができなかった。

40

【0046】

ses-3 の導入遺伝子レスキュー

ses-3 表現型をレスキューするために、ses-3 ゲノム領域を含むフォスミド H14o4、H37o19 および H18N7 を単離した。この点において、フォスミド H14o4 および H37o19 は、Y40B1B. 6 の完全なゲノム配列を含むが、一方、H18N7 はエキソン7および8を欠く Y40B1B. 6 ゲノム配列の一部しか含まない。これらフォスミドの個々の例を含む導入遺伝子を、系 sel-12 (ar171) ; ses-3 (by101) に注入し、トランスジェニック動物の抗サプレッサー活性を試験した。すべてのクローンに、所定のフォスミドを1μlあたり50ngの濃度で、1μlあたり100ngの優性の形質転換マーカー pRF4 (Mello et al., 1991

50

)/ μ 1と共に注入した。ses-3によるsel-12-変異動物の産卵異常の抑制は、フォスミドH1404およびH37019の存在により実質的に完全に相殺され（レスキューされ）、一方で、フォスミドH18N7は、sel-12のses-3介在抑制をレスキューすることができなかった（図6を参照）。

【0047】

ses-3の構造

ses-3 (Y40B1B.6) は8個のエキソンで構成され、遺伝子Y40b1B.5と共にオペロンを形成する（図6を参照）。Y40B1B.6と予想されたcDNAは、2313個の塩基対のcDNAと計算され（配列番号2）、これがses-3と決定された。ses-3は、770個のアミノ酸からなるタンパク質をコードする（配列番号1）。ses-3を用いたモチーフ検索によれば、ses-3は、その長さの大部分にわたりアミノオキシダーゼモチーフを有し、N末端にFAD結合部位を有することが示された（図2）。データベースでの配列比較によれば、他のC. elegans 遺伝子、すなわちT08D10.2、および、ヒトEST KIAA0601、および、予想されたDrosophila 遺伝子alt1と相同性を示した（図3）。図4は、どのように遺伝子が互いに関連するかを示す。

10

【0048】

ses-3の発現

発生段階特異的なノーザンブロットによれば、ses-3が全ての発生段階において発現されていることが示される。

20

【0049】

ses-3における変異

by101: cDNAの1817位におけるY40B1B.6のエキソン7におけるTc3挿入であり、mRNA発現に影響を与える（図5）。

by113: EMS変異誘発から単離され、mRNA発現に対する作用をまったくもたない（図5）。

by119: EMS変異誘発から単離され、mRNA発現を減少させる（図5）。

by128: UV/TMP変異誘発から単離され、mRNA発現の減少、ならびにmRNAおよびゲノム領域の再構成を起こす（図5）。

by134: UV/TMP変異誘発から単離され、mRNA発現を減少させる（図5）。 30

by139: UV/TMP変異誘発から単離され、mRNA発現の減少、バンドのサイズ減少、第二のより大きいバンドの出現、および、cDNAのエキソン8、2015~2169位の欠失を起こす（図5）。

【0050】

ses-3によるsel-12抑制のメカニズム

ses-3変異は、sel-12;hop-1 ses-3の生殖不能を抑制することができない。これは、hop-1がsel-12を抑制するのに必要であることを実証する。ses-3対立遺伝子by101、by119、by128およびby139を含むsel-12;ses-3二重変異体のノーザンブロットによれば、hop-1発現は、sel-12および野生型系N2と比べて、L1段階でアップレギュレートされることが示される。hop-1はsel-12に取って代わることが可能であるため、hop-1は、初期の幼生段階でsel-12に取って代わる。

40

【図面の簡単な説明】

【0051】

【図1】 ses-3対立遺伝子におけるhop-1濃度である。hop-1特異的プローブとハイブリダイズさせたノーザンブロットである。

【図2】 SES-3タンパク質のドメイン構造である。

【図3A】 SES-3のアミノ酸配列と相同タンパク質のアミノ酸配列との比較である。

【図3B】 3Aの続きである。

【図4】 SES-3の系統発生的関係および相同性である。

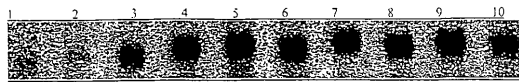
50

【図 5】異なる変異に依存する *ses-3* mRNA の検出である。ノーザンブロットである。

【図 6】*ses-3* 領域のゲノム構造、および、*ses-3* 変異体を補足するゲノム DNA 導入遺伝子の図解である。

【図 1】

ses-3 対立遺伝子における *hop-1* 濃度

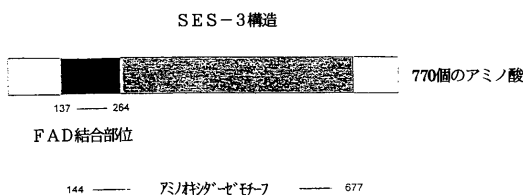


hop-1 特異的プローブとハイブリダイズさせたノーザンブロットである。等量のトータル RNA がローディングされた。*ses-3* 変異の結果として *hop-1* の mRNA 濃度は、5 倍～10 倍高いことがわかる。

レーン 1: 野生型
 レーン 2: *sel-12* (*ar171*)
 レーン 3: *sel-12* (*ar171*) *ses-3* (*by101*)
 レーン 4: *sel-12* (*ar171*) *ses-3* (*by119*)
 レーン 5: *sel-12* (*ar171*) *ses-3* (*by128*)
 レーン 6: *sel-12* (*ar171*) *ses-3* (*by139*)
 レーン 7～10: 本文には記載されていない他の変異体の RNA

【図 2】

SES-3 のドメイン構造



【図 3 A】

SES-3 のアミノ酸配列と、*C. elegans* の T08D10.2、*Drosophila* *alt1* およびヒト KIA0601 の類似性

SES-3	(1)	-----	200
T08D10.2	(1)	-----	
Dm alt1	(1)	-----	
KIA0601	(1)	-----	
SES-3	(1)	-----	200
T08D10.2	(1)	-----	
Dm alt1	(1)	-----	
KIA0601	(1)	-----	
SES-3	(1)	-----	300
T08D10.2	(1)	-----	
Dm alt1	(1)	-----	
KIA0601	(1)	-----	
SES-3	(1)	-----	400
T08D10.2	(1)	-----	
Dm alt1	(1)	-----	
KIA0601	(1)	-----	
SES-3	(1)	-----	500
T08D10.2	(1)	-----	
Dm alt1	(1)	-----	
KIA0601	(1)	-----	
SES-3	(1)	-----	600
T08D10.2	(1)	-----	
Dm alt1	(1)	-----	
KIA0601	(1)	-----	

【国際公開パンフレット】

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
3. Januar 2003 (03.01.2003)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 03/000717 A2

- (51) Internationale Patentklassifikation: C07K 14/00 (81) Bestimmungsstaaten (national): AF, AG, AI, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/JP02/06964
- (22) Internationales Anmeldedatum: 24. Juni 2002 (24.06.2002)
- (25) Einreichungssprache: Deutsch
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität: 101 30 247.9 22. Juni 2001 (22.06.2001) DE
- (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): ELEGENE AG [DE/DE]; Am Klopferspitz 19, 82152 Martinsried (DE).
- (84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SI, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- (72) Erfinder: und
- (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): BAUMEISTER, Ralf [DE/DE]; Freiandstrasse 44a, 82194 Grobenzell (DE); LAKOWSKI, Bernard [DE/DE]; Kornweger Strasse 60, 81375 München (DE); EIMER, Stefan [DE/DE]; Stahlackplatz 1a, 81375 München (DE).
- (74) Anwalt: WIBBELMANN, Jobst; Wuesthoff & Wuesthoff, Schweigersstrasse 2, 81541 München (DE).
- Veröffentlicht: — ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts
- Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: IDENTIFICATION OF SES-3 AND THE USES OF THE SAME

(54) Bezeichnung: IDENTIFIZIERUNG VON SES-3 SOWIE DUSSEN VERWENDUNGEN

WO 03/000717 A2

(57) Abstract: The invention relates to isolated nucleic acid molecules coding for SES-3 proteins or muted SES-3 proteins, and vectors and transgenic organisms containing such nucleic acid molecules. The invention also relates to uses of such nucleic acid molecules or others which are functionally similar, for producing pharmaceuticals and for producing model organisms. The invention further relates to the corresponding SES-3 proteins and muted SES-3 proteins, and the antibodies induced thereby. Finally, the invention relates to the use of substances which increase the expression of human presenilin, for the treatment of Alzheimer's disease, in addition to said substances themselves and pharmaceutical compositions containing the same.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft isolierte Nukleinsäuremoleküle, die für SES-3 Proteine bzw. mutierte SES-3 Proteine codieren, Vektoren und transgene Organismen, welche solche Nukleinsäuremoleküle enthalten, Verwendungen solcher Nukleinsäuremoleküle oder funktionell ähnlicher zur Herstellung von Arzneimitteln sowie zur Erzeugung von Modellorganismen und die entsprechenden SES-3 Proteine und mutierte SES-3 Proteine sowie damit hervorgerufene Antikörper. Zudem betrifft die Erfindung die Verwendung von Substanzen, die die Expression von humanen Presenilin steigern, zur Behandlung der Alzheimer'schen Krankheit, sowie diese Substanzen selbst und pharmazeutische Zusammensetzungen, die diese Substanzen enthalten.

WO 03/000717

PCT/EP02/06964

Identifizierung von *ses-3* sowie dessen Verwendungen

5 Die vorliegende Erfindung betrifft isolierte Nukleinsäuremoleküle, die für *ses-3* bzw. mutierte *ses-3* codieren, Vektoren und transgene Organismen, welche solche Nukleinsäuremoleküle enthalten, Verwendungen solcher Nukleinsäuremoleküle oder
10 zur Erzeugung von Modellorganismen, die Verwendung von transgenen Organismen in Verfahren zur Identifizierung von Substanzen, welche die *ses-3* Aktivität verändern resp. die Presenilin Aktivität (z.B. die von *sel-12* oder *hop-1*) steigern, und die entsprechenden SES-3 Proteine und mutierte SES-3 Proteine sowie
15 damit hervorgerufene Antikörper. Zudem betrifft die Erfindung die Verwendung von Substanzen, die die Expression eines humanen Presenilin steigern, zur Behandlung der Alzheimer'schen Krankheit, sowie diese Substanzen selbst und pharmazeutische Zusammensetzungen, die diese Substanzen enthalten.

20

Hintergrund der Erfindung

Die Alzheimer'sche Krankheit ist neben der Parkinsonschen Krankheit die bekannteste neurodegenerative Erkrankung. Das
25 charakteristische Merkmal der Alzheimer'schen Erkrankung ist die Entwicklung neuronaler Proteinaggregationen, sogenannter Plaques, die im wesentlichen aus einem unlöslichen, 4 kDa großen Peptid namens Amyloid Beta-Peptide (A β 4) bestehen. Untersuchungen der letzten Jahre deuten darauf hin, dass die
30 Bildung von A β 4 ursächlich an der Entstehung der Krankheit beteiligt ist. Dominante Mutationen in drei Genen verursachen familiäre Formen der Erkrankung (FAD Familial Alzheimer's Disease). Es wurde gefunden, dass eines der betroffenen Gene für das Amyloid Precursor Protein (APP) kodiert, das durch drei
35 Proteasen prozessiert werden kann, wobei unter anderem A β 4 entsteht. FAD Mutationen in APP erhöhen die Produktionsmenge von A β 42, einer 42 Aminosäure langen Variante von A β 4.

WO 03/000717

PCT/EP02/06964

- 2 -

Molekulargenetische Untersuchungen von Familien, in denen die Alzheimer'sche Krankheit auftrat, haben zu der Identifizierung der humanen Gene Presenilin 1 und Presenilin 2 geführt (Rogaev
5 et al. 1995, Nature 376, 775-778; Levy-Lahad, E. et al. 1995, Science 269: 973-977), die, durch bestimmte Mutationen verändert, ursächlich am Ausbruch der Alzheimer'schen Krankheit beteiligt sind und welche außerdem während der Entwicklung eine Schlüsselrolle in dem Notch-Signaltransduktionsweg spielen.
10 Presenilinproteine sind ER-Golgi lokalisiert und besitzen mindestens 6 Transmembrandomänen. Es wurde gefunden, dass Mutationen in PS1 und PS2 die Bildung von A β 4 beeinflussen und an der Verursachung der Alzheimer'schen Erkrankung beteiligt sind, vermutlich über die Entstehung von Amyloidablagerungen.
15 Mitglieder der Presenilinfamilie wurden unter anderem in Maus, *Drosophila melanogaster*, *Xenopus laevis* und im Fadenwurm *Caenorhabditis elegans* identifiziert. Obwohl mutierte Preseniline die Prozessierung von APP im Menschen beeinflussen, ist ihre natürliche Funktion dort nicht detailliert bekannt; eine Funktion als APP-Protease (gamma-Sekretase) wurde postuliert. Aus
20 weiteren Untersuchungen mit menschlichen Zellkulturen ergaben sich Hinweise darauf, dass Preseniline bei der intrazellulären Proteolyse von Notch-ähnlichen Rezeptoren nach deren Aktivierung durch Ligandenbindung eine Rolle spielen. Daher wird
25 angenommen, dass die Preseniline bei der Prozessierung von mindestens zwei unterschiedlichen Membranproteinen (APP und Notch) beteiligt sind. Es wird gegenwärtig kontrovers diskutiert, ob die Preseniline selbst die Proteasen in dieser Prozessierung sind, oder ob sie Kofaktoren dieser Reaktionen sind
30 oder die Proteolyse indirekt beeinflussen (Haass, C. et al. 1999, Science 286 (5441): 916-919).

Ausgehend von den erwähnten Presenilin-Genen wird intensiv geforscht, um die molekularen Erkrankungsprozesse aufzuklären
35 und um Arzneimittel für die Behandlung und Prävention der Alzheimer'schen Krankheit zu entwickeln. Insbesondere wird dabei nach Faktoren gesucht, die die Aktivität der Presenilin-Gene

WO 03/000717

PCT/EP02/06964

- 3 -

beeinflussen. Dabei kommt der Suche nach Suppressoren des Presenilin-Mutanten Phänotyps eine besondere Bedeutung zu. Suppressoren können Mutationen in anderen Genen sein, die die Notwendigkeit der Presenilinfunktion eliminieren, oder es können Substanzen sein, die die Aktivität anderer Gene oder der Preseniline modulieren, so dass der Presenilin-Mutanten-Defekt keine phänotypischen Auswirkungen hat.

Als ein bevorzugter Modellorganismus wurde bei solchen Untersuchungen vielfach ein Nematode, insbesondere *Caenorhabditis elegans* eingesetzt. Der Vorteil eines Nematodenmodells, insbesondere des *C. elegans*-Modells, besteht vor allem in der Eignung für ein Hochdurchsatzverfahren (HTS; High-Throughput-Screening), der Möglichkeit einer schnelleren genetischen Analyse durch geringere Generationszeit (2-3 Tage) und einem detaillierterem Wissen über molekulare und funktionelle Eigenschaften des Nervensystems in *C. elegans*.

Da *C. elegans* in Mikrotiterplatten gehalten werden kann, können mit diesem Testsystem 10.000 und mehr Substanzen in kurzer Zeit per HTS am lebenden Wurm ausgetestet werden.

Im Fadenwurm *C. elegans* wurden bisher drei Presenilingene namens *sel-12*, *hop-1* und *spe-4* identifiziert. *Spe-4* ist das divergenteste Mitglied der Familie. Mutationen in *spe-4* führen zu einem Defekt der cytoplasmatischen Partitionierung während der Spermatogenese (L'Hernault, S. W. et al. 1992, J Cell Biol 119: 55-68). Mutationen in *hop-1* haben keinen sichtbaren Phänotyp, führen aber in Kombination mit Mutationen in *sel-12* zu einem synthetisch letalen Phänotyp (Li, X. et al. 1997, Proc Natl Acad Sci USA 94: 12204-12209). *Sel-12* ähnelt den menschlichen PS1 und PS2 am stärksten und ist auch das am besten studierte Presenilingen in *C. elegans*. Es wurde gefunden, daß bestimmte *sel-12* Mutanten einen Eiablagedefekt aufweisen und morphologische Veränderungen der Vulva-Entwicklung zeigen (Levitan, D. et al. 1995, Nature 377: 351-4). *Sel-12* ist 50 % identisch zu humanen Presenilinen und der Eiablagedefekt von *sel-12* Mutanten lässt sich durch transgene Expression von PS1

WO 03/000717

PCT/EP02/06964

- 4 -

oder PS2 vom *sel-12* Promoter aus kompensieren (Baumeister et al., 1997, Genes and Function 1: 149-159). Dies zeigt, dass PS1 und PS2 funktionelle Homologie zu *sel-12* aufweisen. *Sel-12* Mutationen wurden zuerst als Suppressoren des Multivulva Phänotyps einer Funktionsgewinnmutante (gain-of-function) im *lin-12* und *glp-1* Notch Rezeptor-Gen identifiziert. Notch Rezeptoren kontrollieren die Determinierung von Zellschicksalen in vielen mehrzelligen Organismen. Außerdem wurde gezeigt, dass der Phänotyp von *sel-12* Mutanten dem von schwachen Funktionsverlust-Mutanten von *lin-12* ähnelt. Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass Preseniline bei der Notch Signaltransduktion in zahlreichen Organismen, einschließlich den Säugern, eine wichtige Rolle spielen.

Zusammenfassung der Erfindung

Die gegenwärtigen Erfinder haben nun überraschend festgestellt, dass bestimmte Mutationen in einem weiteren Gen, dem von den Erfindern erstmals identifizierten *ses-3*-Gen von *C. elegans*, einen Defekt, insbesondere den Eiablagedefekt einer *sel-12*-Mutante unterdrücken können. Diese Mutationen zeichnen sich dadurch aus, dass sie die Expression oder Aktivität von *ses-3* verändern, insbesondere vermindern. Das heißt, bestimmte Mutationen in dem *ses-3*-Gen führen dazu, dass z.B. der Eiablagedefekt, der durch bestimmte *sel-12*-Mutationen verursacht wird, behoben wird und die Doppelmutanten (*sel-12*; *ses-3*) wieder einen normalen Wildtyp-Phänotyp zeigen. Genauere Untersuchungen ergaben, daß diese Mutationen in dem *ses-3*-Gen bei den *sel-12*-Mutanten zu einer Aktivierung von *hop-1* führen, d.h. das *hop-1* Presenilin-Protein übernimmt die Funktion des defekten *sel-12* Presenilin-Proteins (Figur 1).

Die gegenwärtigen Erfinder haben das neue *ses-3*-Gen auf dem Genom von *C. elegans* lokalisiert und sequenziert.

Somit betrifft die vorliegende Erfindung zunächst ein isoliertes Nukleinsäuremolekül, das für SES-3 Protein codiert, sowie

WO 03/000717

PCT/EP02/06964

- 5 -

weitere Nukleinsäuremoleküle, die für mutierte SES-3 Proteine codieren.

5 Darüber hinaus betrifft die Erfindung einen Vektor, der solche isolierten Nukleinsäuremoleküle oder Fragmente davon umfasst.

Weiterhin betrifft die Erfindung die von den Nukleinsäuremolekülen codierten SES-3 Proteine und mutierte SES-3-Proteine oder Fragmente davon sowie Antikörper, die mit Hilfe dieser Proteine erzeugt wurden.

Außerdem betrifft die Erfindung einen transgenen nichtmenschlichen Organismus, welcher ein isoliertes, für SES-3-Protein- oder mutierte SES-3 Protein codierendes Nukleinsäuremolekül umfasst. Insbesondere betrifft die Erfindung transgene *C. elegans*, die ein *ses-3* Allel aufweisen, das die Aktivität von *ses-3* vermindert resp. die Aktivität von *sel-12* oder *hop-1* steigert. In diesem Zusammenhang werden unter transgenen Organismen auch solche Organismen verstanden, bei denen das Genom durch Mutation verändert wurde, und die dadurch ein mutiertes *ses-3* Gen aufweisen, oder denen das *ses-3* Gen entfernt worden ist.

Schließlich betrifft die Erfindung Verwendungen solcher Nukleinsäuremoleküle zur Herstellung eines Arzneimittels gegen die Alzheimer'sche Krankheit sowie zur Erzeugung von Modellsystemen zur weiteren Erforschung dieser Erkrankung.

30 Insbesondere betrifft die Erfindung die Verwendung von transgenen *C. elegans* in einem Verfahren zur Identifizierung und/oder Charakterisierung von Substanzen, die die Aktivität von *ses-3* vermindern resp. die Aktivität von *sel-12* oder *hop-1* steigern.

35 Zudem betrifft die Erfindung auch die Verwendung von homologen humanen Genen, homologen *Drosophila melanogaster* Genen oder Genen, die eine funktionale Ähnlichkeit zu *ses-3* aufweisen, zur Herstellung eines Arzneimittels gegen die Alzheimer'sche Krank-

WO 03/000717

PCT/EP02/06964

- 6 -

heit sowie zur Erzeugung von Modellsystemen zur weiteren Erforschung dieser Erkrankung.

Schließlich betrifft die Erfindung auch die Verwendung von Substanzen, die die Expression des humanen Presenilin 1 oder 2 steigern, zur Behandlung der Alzheimer'schen Krankheit, sowie diese Substanzen selbst und pharmazeutische Zusammensetzungen, die diese Substanzen enthalten.

Detaillierte Beschreibung der Erfindung

Die vorliegende Erfindung basiert darauf, dass ein neues Gen, *ses-3*, in *C. elegans* identifiziert werden konnte, welches mit den *C. elegans*-Presenilin-Genen *sel-12* und *hop-1* wechselwirkt und damit eine wichtige Rolle bei der Entwicklung der Alzheimer'schen Krankheit spielt.

So führten verschiedene Mutationen in dem *ses-3*-Gen, darunter auch die vollständige Deletion des *ses-3*-Gens, dazu, dass bestimmte von *sel-12*-Mutationen hervorgerufene veränderte Phänotypen supprimiert bzw. unterdrückt wurden. Die Suppression solcher *sel-12*-Defekte in *ses-3*-Mutanten wird dadurch erreicht, dass sie die Expression von *hop-1* deutlich dereprimieren und das HOP-1 Protein vermutlich die Funktion des defekten *sel-12*-Proteins übernehmen kann.

Das identifizierte *ses-3*-Gen codiert für ein Protein, das eine FAD Bindestelle zwischen Aminosäure 137 und Aminosäure 264 enthält sowie ein Amino-Oxidase-Motiv zwischen Aminosäure 264 und Aminosäure 677 (Figur 2). Das SES-3 Protein zeigt phylogenetische Verwandtschaft zu dem humanen Protein KIAA0601 und zu dem *Drosophila melanogaster* Protein ALT1, außerdem wurde durch Computerrecherche (BLAST Suchprogramm) ein Gen für ein weiteres, ähnliches *C. elegans* Protein T08D10.2 identifiziert. Der Grad der Homologie ist in den Figuren 3 und 4 beschrieben.

Somit stellt die vorliegende Erfindung ein isoliertes Nukleinsäuremolekül zur Verfügung, das für SES-3-Protein codiert.

WO 03/000717

PCT/EP02/06964

- 7 -

Weiterhin umfasst die Erfindung isolierte Nukleinsäuremoleküle, die für mutierte SES-3 Proteine codieren. Insbesondere werden isolierte Nukleinsäuremoleküle zur Verfügung gestellt, die für mutierte SES-3 Proteine codieren.

Darüber hinaus betreffen weitere Aspekte der Erfindung isolierte Nukleinsäuremoleküle, insbesondere DNA-, wie cDNA- oder genomische DNA-Moleküle, aber auch z.B. RNA-Moleküle, die ein SES-3 Protein aus *C. elegans* mit der in SEQ ID NR:1 angegebenen Aminosäuresequenz codieren, insbesondere jene, die eine in SEQ ID NR:2 angegebene Nukleinsäuresequenz aufweisen.

Von der Erfindung ebenfalls umfasst werden auch isolierte Nukleinsäuremoleküle, deren Nukleotidsequenz mindestens 75%, insbesondere mindestens 80%, speziell mindestens 85%, bevorzugt mindestens 90%, besonders bevorzugt mindestens 95% und am meisten bevorzugt mindestens 98% Sequenzähnlichkeit zu den erwähnten Nukleinsäuremolekülen aufweisen, insbesondere solche, die unter stringenten Bedingungen mit den erwähnten Nukleinsäuremolekülen hybridisieren. Vorzugsweise erfolgt eine solche Hybridisierung unter niedrig stringenten Bedingungen, in einer weiteren Ausführungsform auch bei hochstringenten Bedingungen. Im Rahmen dieser Beschreibung wird unter niedrig stringenten Bedingungen eine Hybridisierung in 3 x SSC bei Raumtemperatur bis 65°C und unter hochstringenten Bedingungen eine Hybridisierung in 0,1 x SSC bei 68°C verstanden. SSC steht als Abkürzung für einen 0,15 M Natriumchlorid, 0,015 M Trisnatriumcitrat-Puffer.

Die erfindungsgemäßen Nukleinsäuremoleküle mit Nukleinsäuresequenzähnlichkeit zu der in SEQ ID NR:2 angegebenen Nukleinsäuresequenz umfassen insbesondere auch allelische Varianten der angegebenen Nukleinsäuresequenz, die insbesondere die oben erwähnten Mutationen einschließen.

WO 03/000717

PCT/EP02/06964

- 8 -

Die Erfindung erstreckt sich auch auf die Nukleinsäuremoleküle mit jeweils zu den oben erläuterten Nukleinsäuresequenzen komplementärer Nukleinsäuresequenz.

5 Der Begriff "isoliertes Nukleinsäuremolekül" bezieht sich im vorliegenden Zusammenhang auf Nukleinsäuremoleküle, die im wesentlichen gereinigt von der Hauptmenge der andersartigen Nukleinsäuremoleküle aus den Ausgangs- bzw. Produzentenzellen vorliegen. Präparationen von erfindungsgemäßen isolierten Nukleinsäuremolekülen können jedoch ohne weiteres weitere Bestandteile, wie Salze, Substanzen aus dem Medium oder auch restliche Bestandteile der Produzentenzellen, wie z.B. diverse Proteine, enthalten.

15 Die Erfindung umfasst ebenso Vektoren, welche ein erfindungsgemäßes Nukleinsäuremolekül, das für SES-3 Protein oder mutierte SES-3 Proteine codiert, enthalten. Teil der Erfindung sind auch Vektoren, die ein Fragment eines erfindungsgemäßen Nukleinsäuremoleküls aufweisen. Das Nukleinsäuremolekül ist dabei mit einem Promoter verknüpft, der für eine Expression des Nukleinsäuremoleküls in dem zur Expression verwendeten Organismus sorgt. Für eine Expression in *C. elegans* wird dabei insbesondere einer der bekannten *C. elegans*-Promotoren (<http://chinook.uoregon.edu/promoters.html>) verwendet.

25 Der Vektor kann beispielsweise ein Plasmid, ein Cosmid, ein Bacmid, ein Virus oder ein Bakteriophage sein.

Ein weiterer Aspekt betrifft die Polypeptide oder Proteine, die von den erläuterten Nukleinsäuremolekülen codiert werden, insbesondere SES-3 Protein aus *C. elegans* mit der in SEQ ID NR:1 angegebenen Aminosäuresequenz und die oben erwähnten mutierten SES-3 Proteine sowie davon durch Substitution, Modifizierung, Deletion, Insertion oder Hinzufügung von Aminosäuren abgeleitete Polypeptide oder Proteine, die mindestens 75%, insbesondere mindestens 80%, speziell mindestens 85%, bevorzugt mindestens 90%, besonders bevorzugt mindestens 95% und am

WO 03/000717

PCT/EP02/06964

- 9 -

meisten bevorzugt mindestens 98% Sequenzähnlichkeit zu den
erwähnten Aminosäuresequenzen aufweisen. Gleichfalls umfasst
sind Fusionsproteine, die erfindungsgemäße Polypeptide, Protei-
ne oder Proteinfragmente fusioniert an ein andersartiges Prote-
in oder einen andersartigen Proteinabschnitt, z.B. ein Marker-
5 oder Indikatorprotein, enthalten. Teil der Erfindung sind auch
Fragmente der oben erwähnten Proteine oder Polypeptide.

Die mit Hilfe solcher Proteine erhältlichen Antikörper, welche
monoklonal oder polyklonal sein können, sind von der Erfindung
ebenfalls umfasst.

Die Erfindung erstreckt sich auch auf transgene Organismen,
insbesondere Mikroorganismen, z.B. Bakterien, Viren, Protozoen,
Pilze und Hefen, Algen, Pflanzen oder Tiere, wie auch Teile,
z.B. Zellen, und Vermehrungsmaterial, z.B. Samen, von solchen
transgenen Organismen, die eine rekombinante Nuklein-
säuresequenz - ggf. in ein Chromosom integriert oder auch
extrachromosomal - umfassen, die ein erfindungsgemäßes Nuk-
leinsäuremolekül, das für SES-3 Protein, mutiertes SES-3 Prote-
in oder Fragmente davon codiert, als Transgen enthält. Unter
einem bevorzugten Aspekt werden die transgenen Organismen das
von dem erwähnten Transgen codierte Polypeptid oder Protein,
d.h. SES-3 Protein aus *C. elegans* oder ein davon abgeleitetes
25 Polypeptid oder Protein, auch exprimieren.

Gemäß einem Aspekt der Erfindung weisen transgene *C. elegans*
ein *ses-3* Allel auf, das die Aktivität von *ses-3* vermindert,
verstärkt oder ausschaltet. Teil der Erfindung sind auch solche
transgenen *C. elegans*, denen das *ses-3*-Gen vollständig entfernt
worden ist. Insbesondere betrifft die vorliegende Erfindung
transgene *C. elegans*, die ein *ses-3* Allel aufweisen, das den
Eiablagedefekt Phänotyp (Egl) in *sel-12*-Mutanten kompensiert.
Zudem betrifft die vorliegende Erfindung transgene *C. elegans*,
die ein *ses-3* Allel aufweisen, das die Aktivität von *hop-1* oder
35 *sel-12* steigert.

WO 03/000717

PCT/EP02/06964

- 10 -

Die Erfindung erfasst auch die Verwendung des erfindungsgemäßen Nukleinsäuremoleküls zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung neurologischer, insbesondere neurodegenerativer Erkrankungen, besonders bevorzugt der Alzheimer'schen Krankheit
5 bzw. zur Erzeugung eines Modellorganismus zur weiteren Untersuchung und Erforschung neurologischer, insbesondere neurodegenerativer Erkrankungen.

Die oben erwähnten Arzneimittel sind beispielsweise dadurch
10 erhältlich, dass ein erfindungsgemäßes Nukleinsäuremolekül selbst als Gentherapeutikum eingesetzt wird oder indem mit Hilfe eines solchen Nukleinsäuremoleküls ein Modellorganismus aufgebaut wird und die mit Hilfe dieses Modellorganismus aufgefundenen Substanzen zu einem Arzneimittel formuliert werden.
15 Für nähere Einzelheiten hierzu wird z.B. auf die internationale Anmeldung PCT/EP01/03214 desselben Anmelders verwiesen.

Insbesondere betrifft die Erfindung die Verwendung von transgenen *C. elegans*, die ein erfindungsgemäßes Nukleinsäuremolekül
20 aufweisen, in einem Verfahren zur Identifizierung und/oder Charakterisierung von Substanzen, die die *ses-3* Aktivität verändern, insbesondere vermindern oder eliminieren. Des Weiteren betrifft die Erfindung die Verwendung von transgenen *C. elegans*, die ein erfindungsgemäßes Nukleinsäuremolekül aufwei-
25 sen, in einem Verfahren zur Identifizierung und/oder Charakterisierung von Substanzen, die die *hop-1* oder *sel-12* Aktivität steigern.

Zudem betrifft die Erfindung die Verwendung ebensolcher transgener *C. elegans* in einem in einem Verfahren zur Identifizierung und/oder Charakterisierung von Substanzen, die als
30 Wirkstoffe zur Behandlung und/oder Prävention der Alzheimer'schen Krankheit verwendet werden können. Im Hinblick auf die Analogie zu humanen Zellen und im Hintergrund zur gezeigten funktionalen Ähnlichkeit des Notch Signalwegs und der Presenilin-
35 funktion in *C. elegans* und Mensch wird davon ausgegangen, dass die Fehlfunktion der FAD Presenilinmutanten äquivalent

WO 03/000717

PCT/EP02/06964

- 11 -

durch Mutation eines homologen oder funktional äquivalenten Gens zu *ses-3* im Mensch kompensiert werden kann. Ein solches homologes Gen ist insbesondere das Gen KIAA0601. Im Rahmen der Erfindung wird daher erwartet, dass ein Defekt in einem humanen *ses-3* Homologen oder funktional äquivalenten Gen zu einer Steigerung der Expression des nicht von der FAD Mutation betroffenen Presenilin-Gens führt.

Die Erfindung betrifft daher auch die Verwendung von Substanzen, die die Expression eines humanen Presenilin steigern, zur Behandlung der Alzheimer'schen Krankheit, sowie diese Substanzen selbst. Insbesondere fallen unter die erfindungsgemäßen Substanzen solche, die das humane Presenilinen 1 oder 2 aktivieren und die Expression des humanen Presenilinproteins 1 oder 2 steigern. Zu den erfindungsgemäßen Substanzen gehören auch jene, die in *C. elegans* zu einer Veränderung der *ses-3* Aktivität führen, und/oder die *sel-12* oder *hop-1* Presenilin Aktivität steigern. Von der Erfindung umfasst sind auch pharmazeutische Zusammensetzungen, die diese Substanzen enthalten.

Analog kann diese Erfindung auch bei der Behandlung der sporadischen, altersabhängigen und nicht an Mutationen gekoppelten Fälle der Alzheimer'schen Erkrankung von Nutzen sein. Dabei wird erwartet, dass die Minderung der Expression durch eine Steigerung der Presenilinaktivität die Bildung von A β 4, insbesondere von A β 42, vermindert und dadurch der Ausbruch der Erkrankung zeitlich verzögert wird.

Außerdem betrifft die Erfindung auch die Verwendung des humanen homologen Gens (KIAA0601) sowie die Verwendung des homologen *Drosophila melanogaster* Gens aus Figur 4 (ALT1) sowie funktional ähnlicher Gene, insbesondere aus *C. elegans*, zur Auffindung von Substanzen, die als Wirkstoffe zur Behandlung und/oder Prävention der Alzheimer'schen Krankheit verwendet werden können. Insbesondere betrifft die Erfindung die Verwendung solcher Gene zur Auffindung von Substanzen, die die Aktivität von humanen Presenilinen steigern können. Die Erfindung be-

WO 03/000717

PCT/EP02/06964

- 12 -

trifft auch transgene Organismen, die diese homologen oder funktional ähnlichen Gene enthalten und die Verwendung solcher Organismen, insbesondere *C. elegans* Organismen, in einem Verfahren zur Identifizierung und/oder Charakterisierung von Substanzen, die die *hop-1* oder *sel-12* Aktivität steigern oder die *ses-3* Aktivität vermindern.

Kurze Beschreibung der Figuren und des Sequenzprotokolls

- Fig. 1: Konzentration von *hop-1* in *ses-3* Allelen. Northern Blot, hybridisiert mit einer *hop-1* spezifischen Probe.
 Fig. 2: Domänenstruktur von SES-3 Protein.
 Fig. 3: Aminosäurevergleich von SES-3 mit homologen Proteinen.
 Fig. 4: Phylogenetische Verwandtschaft von SES-3 sowie Homologie.
 Fig. 5: Nachweis der *ses-3* mRNA in Abhängigkeit der verschiedenen Mutationen. Northern Blot.
 Fig. 6: Genomische Struktur der *ses-3* Region und Darstellung der Transgene mit genomischer DNA, die *ses-3* Mutanten komplementieren.

SEQ ID NR:1: SES-3 Aminosäuresequenz

SEQ ID NR:2: *ses-3* cDNA Sequenz

- SEQ ID NR:3: Genomische Sequenz eines Subfragments von Y40B1B.6, das *ses-3* Mutanten komplementieren kann. Dieses Fragment enthält folglich alle für die Expression von *ses-3* notwendigen Sequenzen und Promotorabschnitte.

Die Erfindung wird im folgenden anhand von Beispielen näher erläutert.

Experimenteller Teil

WO 03/000717

PCT/EP02/06964

- 13 -

Isolierung der *ses-3* Mutanten

Zur Isolierung von Suppressoren des Eiablagedefektes von *sel-12* Mutanten Tieren in *C. elegans* wurde die *sel-12(ar171)* Mutation in einen Mutatorstamm *mut-7(pk704)* eingekreuzt. Der so erzeugte Stamm zeigt eine temperaturabhängig Aktivierung aller Transposons von *C. elegans* bei 20°C. Zur Mutagenese wurden *sel-12(ar171) unc-1(e538); mut-7(pk704)* Tiere bei 20°C auf 3,5 cm NGM Agar Platten mit OP50 kultiviert. Nach jeder Generation wurde nach dem Auftreten von Tieren gesucht, die in der Lage waren, Eier zu legen. Aus der Analyse von etwa 30'000 haploiden Genomen wurden zwei unabhängige Mutanten-Tiere isoliert, die in der Lage waren, reproduzierbar Eier zu legen. Das Eiablageverhalten dieser Tiere war mit dem von Wildtyptieren vergleichbar. Eine dieser Mutationen wurde *ses-3(by101)* genannt.

Der *sel-12; ses-3* Phänotyp

Mutationen in *ses-3* supprimieren den Eiablagedefekt von *sel-12* Mutanten nahezu vollständig. 95% der *sel-12(ar171); ses-3(by101)* Doppelmutanten Tiere zeigten ein wildtypähnliches Eiablageverhalten, während 5% der Tiere Defekte in der Eiablage aufwiesen, die den Defekten der *sel-12* Einzelmutante entsprechen. Mutationen in *ses-3* sind in der Lage, alle bekannten *sel-12* Mutationen zu supprimieren. Daraus kann gefolgert werden, dass *ses-3* nicht allelspezifisch wirkt. *Sel-12(ar171); ses-3(by101)* Doppelmutanten Tiere legen zwischen 180 und 280 Eier, die zu Nachkommen führen; im Gegensatz zur *sel-12(ar171)* Einzelmutante, die im Durchschnitt 60 Nachkommen erzeugt. Die *sel-12(ar171); ses-3(by101)* Doppelmutanten Tiere beendenden ihre Eiablage nach etwa 2-3 Tagen und sterben nicht mit einem "bag of worms" Phänotyp, wie für die *sel-12* Einzelmutation üblich. *Sel-12(ar171); ses-3(by101)* Doppelmutanten Tiere zeigen gegenüber Wildtyptieren ein um etwa einen Tag verlangsamtes Wachstumsverhalten pro Generation.

WO 03/000717

PCT/EP02/06964

- 14 -

Klonierung des *ses-3* Genlocus

Mittels klassischer Genetik wurde *ses-3* als rezessive Mutation auf dem rechten Arm von Chromosom I lokalisiert. Da die *ses-3* Mutation mittels einer Transposonmutagenese erzeugt wurde, war es wahrscheinlich, dass die Mutation durch die Insertion eines Transposons in den kodierenden Bereich des *ses-3* Genes hervorgerufen wurde. Hierdurch ergibt sich ein s.g. Polymorphismus gegenüber dem *sel-12* Einzelmutanten Stamm. Dieser kann nach Entfernung der restlichen durch den *mut-7* Hintergrund erzeugten Polymorphismen mittels Auskreuzung mit dem Wildtyp *C. elegans* Stamm N2. Die Transposons in dem so ausgekreuzten *sel-12(ar171); ses-3(by101)* Stamm können mittels Transposondisplay sichtbar gemacht werden. Durch einen Vergleich mit dem Wildtyp *sel-12* Stamma können die Transposons identifiziert werden, die nur in den *sel-12(ar171); ses-3(by101)* Doppelmutanten Tieren vorhanden sind. Mittels dieses Verfahrens wurde ein Tc3 Insertion im 7 Exon des Gens Y40B1B.6 identifiziert, das durch weiteres Auskreuzen nicht von der *ses-3* Mutation getrennt werden konnte.

Transgene Rettung des *ses-3*

Zur Rettung des *ses-3* Phänotyps wurden die Fosmide H14o4, H37o19 und H18N7 isoliert, die die *ses-3* genomische Region beinhalten. Hierbei beinhalten die Fosmide H14o4 und H37o19 die vollständige genomische Sequenz von Y40B1B.6, während H18N7 nur einen Teil der Y40B1b.6 genomischen Sequenz beinhaltet, der die Exons 7 und 8 fehlen. Es wurden Transgene mit einzelnen dieser Fosmide in den Stamm *sel-12(ar171); ses-3(by101)* injiziert und die Antisuppressor -Aktivität der transgenen Tiere getestet. Alle Klone wurden bei einer Konzentration von 50ng/µl des jeweiligen Fosmids zusammen mit 100ng/µl des dominanten Transformationsmarkers pRF4 (Mello et al., 1991) injiziert. Die Suppression des Eiablagedefektes von *sel-12* mutanten Tieren durch *ses-3* wurde durch die Anwesenheit der Fosmide H14o4 und H37o19 nahezu vollständig kompensiert (gerettet), während das

WO 03/000717

PCT/EP02/06964

- 15 -

Fosmid H19N7 nicht in der Lage war, die durch *ses-3* vermittelte Suppression von *sel-12* zu retten (siehe Figur 6).

5 Struktur von *ses-3*

ses-3 (Y40B1B.6) ist in 8 Exons organisiert und bildet ein Operon mit dem Gen Y40b1B.5 (siehe Figur 6). Die für Y40B1B.6 vorhergesagte cDNA stimmt mit der für *ses-3* bestimmten cDNA von 2313 Basenpaaren überein (SEQ ID NR:2). *Ses-3* kodiert für ein
10 Protein von 770 Aminosäuren (SEQ ID NR:1). Eine Motivsuche mit *Ses-3* ergab, dass *Ses-3* eine Amino-Oxidase Motiv über den Grossteil seiner Länge besitzt und am N-Terminus eine FAD Bindestelle (Figur 2). Sequenzvergleiche mit der Datenbank zeigten Homologien zu einem weiteren *C. elegans* Gen T08D10.2,
15 sowie zu einem humanen EST KIAA0601 und einem vorhergesagten *Drosophila* Gen *alt1* (Figur 3). Figur 4 zeigt die verwandtschaftliche Beziehung der Gene untereinander.

20 Expression von *ses-3*

Ein Stadien spezifischer Northern Blot zeigt, dass *ses-3* in allen Entwicklungsstadien exprimiert wird.

25 Mutationen in *ses-3*

by101:
ist eine Tc3 Insertion im 7 Exon von Y40B1B.6 an der Position 1817 der cDNA und beeinflusst die mRNA Expression (Figur 5).
30 by113:
wurde aus einer EMS Mutagenese isoliert und zeigt keinen Einfluss auf die mRNA Expression (Figur 5).
by119:
35 wurde aus einer EMS Mutagenese isoliert und zeigt eine Abschwächung der mRNA Expression (Figur 5).

WO 03/000717

PCT/EP02/06964

- 16 -

by128:

wurde aus einer UV/TMP Mutagenese isoliert und zeigt eine abgeschwächte Expression der mRNA und ein Rearrangement der mRNA und des genomischen Bereichs (Figur 5).

by134:

wurde aus einer UV/TMP Mutagenese isoliert und zeigt eine abgeschwächte Expression der mRNA (Figur 5).

by139:

wurde aus einer UV/TMP Mutagenese isoliert und zeigt eine abgeschwächte Expression der mRNA eine verkleinerte Bande, das Auftreten einer zweiten grösseren Bande und eine Deletion in Exon8 von Position 2015 bis 2169 der cDNA (Figur 5).

Mechanismus der Suppression von *sel-12* durch *ses-3*

ses-3 Mutationen sind nicht in der Lage, die Sterilität einer *sel-12*; *hop-1* *ses-3* zu supprimieren. Dies demonstriert, dass *hop-1* notwendig ist für die Suppression von *sel-12*. Ein Northern Blot der *sel-12*; *ses-3* Doppelmutanten mit den *ses-3* Allelen by101, by119, by128 und by139 zeigt, dass *hop-1* Expression in dem L1 Stadium relativ zu *sel-12* und dem Wildtypstamm N2 hochreguliert wird. Da *hop-1* in der Lage ist, *sel-12* zu ersetzen, ersetzt somit *hop-1* *sel-12* in den frühen larvalen Stadien.

WO 03/000717

PCT/EP02/06964

- 17 -

PATENTANSPRÜCHE

1. Isoliertes Nukleinsäuremolekül, das für SES-3 codiert.
5
2. Isoliertes Nukleinsäuremolekül, das für ein mutiertes
SES-3 codiert.
3. Isoliertes Nukleinsäuremolekül nach Anspruch 2, wobei
10 das mutierte SES-3 eine oder mehrere Veränderungen ent-
hält.
4. Isoliertes Nukleinsäuremolekül nach einem der Ansprüche
1 bis 3, wobei das Nukleinsäuremolekül ein DNA-Molekül,
15 insbesondere ein cDNA-Molekül oder ein genomisches DNA-
Molekül, oder ein RNA-Molekül ist.
5. Isoliertes Nukleinsäuremolekül nach einem der Ansprüche
1 bis 4, wobei das SES-3 die identische oder im wesent-
20 lichen dieselbe Aminosäuresequenz wie die in SEQ ID NR:1
gezeigte Aminosäuresequenz aufweist.
6. Isoliertes Nukleinsäuremolekül nach Anspruch 1, das die
in SEQ ID NR:2 angegebene Nukleotidsequenz oder eine da-
25 zu komplementäre Sequenz umfasst.
7. Isoliertes Nukleinsäuremolekül, dessen Nukleotidsequenz
mindestens 75% Sequenzähnlichkeit zu dem isolierten Nuk-
leinsäuremolekül nach Anspruch 6 aufweist oder unter
30 stringenten Bedingungen mit dem isolierten Nukleinsäure-
molekül nach Anspruch 6 hybridisiert.
8. Vektor, welcher ein isoliertes Nukleinsäuremolekül nach
einem der Ansprüche 1 bis 7 umfasst.
35

WO 03/000717

PCT/EP02/06964

- 18 -

9. Vektor, welcher ein Fragment eines isolierten Nukleinsäuremolekül nach einem der Ansprüche 1 bis 7 umfasst.
10. Vektor nach einem der Ansprüche 8 oder 9, welcher einen Promoter für die Expression in einer Zelle des Nematoden *C. elegans* umfasst.
11. Vektor nach einem der Ansprüche 8 bis 10, welcher ein Plasmid, ein Cosmid, ein Bacmid, ein Virus oder ein Bakteriophage ist.
12. SES-3 Protein mit der in SEQ ID NR:1 gezeigten Aminosäuresequenz oder ein Fragment davon.
13. Mutiertes SES-3 Protein oder ein Fragment davon.
14. SES-3 nach Anspruch 12 oder 13, welchem eine oder mehrere Aminosäuren der in SEQ ID NR:1 gezeigten Aminosäuresequenz fehlen, oder bei welchem eine oder mehrere Aminosäuren der in SEQ ID NR:1 gezeigten Aminosäuresequenz durch andere Aminosäuren ersetzt sind, oder bei welchem eine oder mehrere Aminosäuren an die in SEQ ID NR:1 gezeigte Aminosäuresequenz addiert sind.
15. Antikörper, der gegen SES-3 nach einem der Ansprüche 12 bis 14 hervorgerufen wurde.
16. Antikörper nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, dass der Antikörper ein monoklonaler oder ein polyklonaler Antikörper ist.
17. Transgener nichtmenschlicher Organismus, welcher ein Nukleinsäuremolekül nach irgendeinem der Ansprüche 1 bis 7 umfasst.

WO 03/000717

PCT/EP02/06964

- 19 -

18. Transgener nichtmenschlicher Organismus nach Anspruch 17, welcher ein Nematode, insbesondere *C. elegans* ist.
19. Transgener *C. elegans* nach Anspruch 18, der ein *SES-3* Allel aufweist, das die Aktivität von *SES-3* vermindert, verstärkt oder ausschaltet.
20. Transgener *C. elegans* nach Anspruch 19, der ein *SES-3* Allel aufweist, das den Eiablagedefekt-Phänotyp (*Egl*) in *sel-12 C. elegans* Mutanten kompensiert.
21. Transgener *C. elegans* nach Anspruch 19 oder 20, der ein *SES-3* Allel aufweist, das die Aktivität von *hop-1* oder *sel-12* steigert.
22. Transgener nichtmenschlicher Organismus, insbesondere *C. elegans*, welcher ein zu *ses-3* homologes humanes Gen (*KIAA0601*) oder ein homologes *Drosophila melanogaster* Gen (*ALTI*) oder ein funktional ähnliches Gen, insbesondere aus *C. elegans*, umfasst.
23. Verwendung eines isolierten Nukleinsäuremoleküls nach einem der Ansprüche 1 bis 7 oder eines funktional ähnlichen Gens zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung neurologischer, insbesondere neurodegenerativer Erkrankungen.
24. Verwendung eines isolierten Nukleinsäuremoleküls nach einem der Ansprüche 1 bis 7 oder eines funktional ähnlichen Gens zur Erzeugung eines Modellorganismus zur Untersuchung und Erforschung neurologischer, insbesondere neurodegenerativer Erkrankungen.
25. Verwendung von transgenen *C. elegans* nach einem der Ansprüche 17 bis 22 in einem Verfahren zur Identifizierung

WO 03/000717

PCT/EP02/06964

- 20 -

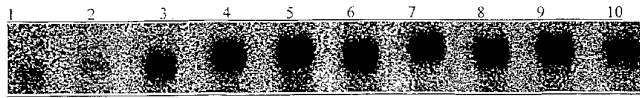
und/oder Charakterisierung von Substanzen, die die SES-3 Aktivität verändern.

- 5 26. Verwendung von transgenen *C. elegans* nach Anspruch 25 in einem Verfahren zur Identifizierung und/oder Charakterisierung von Substanzen, die die SES-3 Aktivität vermindern oder eliminieren.
- 10 27. Verwendung von transgenen *C. elegans* nach einem der Ansprüche 17 bis 22 in einem Verfahren zur Identifizierung und/oder Charakterisierung von Substanzen, die die *hop-1* oder *sel-12* Aktivität steigern.
- 15 28. Verwendung von transgenen *C. elegans* nach einem der Ansprüche 17 bis 22 in einem Verfahren zur Identifizierung und/oder Charakterisierung von Substanzen, die als Wirkstoffe zur Behandlung und/oder Prävention der Alzheimer'schen Krankheit verwendet werden können.
- 20 29. Verwendung von Substanzen, die die Expression von humanem Presenilin 1 oder 2 steigern, zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung von der Alzheimer'schen Krankheit.
- 25 30. Eine Substanz, die die Expression von humanem Presenilin 1 oder 2 steigert.
- 30 31. Pharmazeutische Zusammensetzung, die eine Substanz nach Anspruch 30 enthält.

WO 03/000717

PCT/EP02/06964

1/7

Figur 1: Konzentration von *hop-1* in *ses-3* Allelen

Northern Blot, hybridisiert mit einer *hop-1* spezifischen Probe. Gleiche Mengen an Gesamt-RNA wurden aufgetragen. Zu sehen ist eine fünf- bis 10-fache stärkere *hop-1* mRNA Konzentration als Konsequenz der *ses-3* Mutationen.

Spur 1: Wildtyp
 Spur 2: *sel-12(ar171)*
 Spur 3: *sel-12(ar171) ses-3(by101)*
 Spur 4: *sel-12(ar171) ses-3(by119)*
 Spur 5: *sel-12(ar171) ses-3(by128)*
 Spur 6: *sel-12(ar171) ses-3(by139)*
 Spur 7-10: RNA einer anderen, im Text nicht erwähnten Mutante

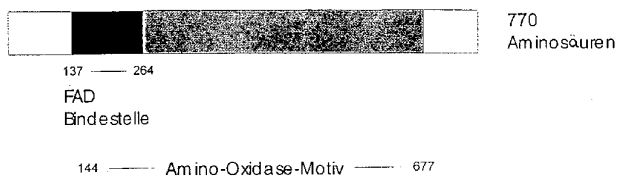
WO 03/000717

PCT/EP02/06964

2/7

Figur 2: Domänenstruktur von SES-3

SES-3 Struktur



[illegible]

WO 03/000717

PCT/EP02/06964

4/7

700

SES-3
T08D10.2
Dm alt1
KIA0601

(346) EKEEENALPPTTANHWONAEKQANCKHPSSEFAITNEGFEPEVTGQEFKAVFECDSMONENGVAARIRGIGILLIQISEKRIARHPIHVA
(447) EKEEACERETICERRIPIKIRCKCKCHPNFTHVNEIGFEPTFETKAVFECQWVEKLSQVAVQEGLOVENVANERAVPIHRAV
(485) SVEHIAERKQALAKHILIAHESVLESSEPRATIMFANIESNABPNNGOINDODPEFGHTVTRGYSQVVALTENHINAKS
(590) KQDDELAETOCERKQOLIAHPSVLESSEPRKILIMFANIESNABPNNGOINDODPEFTESIVTRGYSQVVALTEGCHIKANAV

800

SES-3
T08D10.2
Dm alt1
KIA0601

(446) PDIDSGFERHVAKVCENQCEBEMKAVVSHLPIGVKRTYIIPDEAPFETKAVFECQWVEKLSQVAVQEGLOVENVANERAVPIHRAV
(546) ISIPSSSDMVIKGRSPDSKGHVADYVSHLPIGVKRTYIIPDEAPFETKAVFECQWVEKLSQVAVQEGLOVENVANERAVPIHRAV
(584) KRIKGTCEVEMAEKISNSQMYKALIVGCTFSEVIRVAHKSQENTVKEPDEKQCATKISSENNKAVICQFPEPNDINAAUGER
(689) EAVVNSCCEVAVRESISQIFVKEAVVIRSVIKCPAVFETKAVFECQWVEKLSQVAVQEGLOVENVANERAVPIHRAV

900

SES-3
T08D10.2
Dm alt1
KIA0601

(541) VSPNIKQKSNKISVTSKVIKIVGSSAEPEDPDVITQANTHAKANCPRAISAHVWHDBAVSSAVMSJAPITSEVWEB
(639) VPKISEEMETSELESRTINVOBNRPIETTEFADATVEDCPSETAYVWHDBAKCHTIGSLAPPOBETJEBZ
(782) VGSITARGENTFESISRVIAVAKANVAVETDITIGKCSVNEENSVPKFTVAVKSDARKSSVSVAVSESDVQVLAQ
(779) VGSITARGENTFESISRVIAVAKANVAVETDITIGKCSVNEENSVPKFTVAVKSDARKSSVSVAVSESDVQVLAQ

1000

SES-3
T08D10.2
Dm alt1
KIA0601

(639) KACDMS-----RVFFAGHSSSTSHSANNSCQALFENHIGTJVDISTROQCEBEEFLEVIDDKIPKEDNEAEADLENANAF
(735) KACDMS-----RVFFAGHSSSTSHSANNSCQALFENHIGTJVDISTROQCEBEEFLEVIDDKIPKEDNEAEADLENANAF
(782) IPPSEKA-EGLEPFFAGHTNRYVAVHGVGHEGKADVIZEGCTPDIGYSVADANTVW-----RDHIFPPER
(879) TPGSITGAPOPFPPFFAGHTNRYVAVHGVGHEGKADVIZEGCTPDIGYSVADANTVW-----RDHIFPPER

SES-3
T08D10.2
Dm alt1
KIA0601

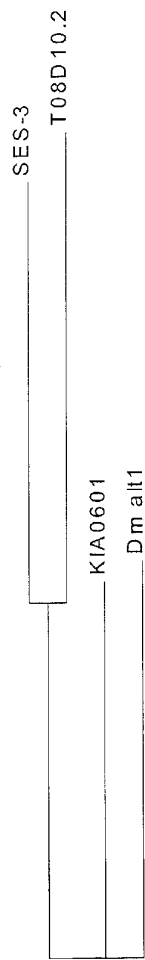
(732) NCGEIEFKIAEELVAAKAKKAVQLEPIVTE1039
(798) YSNBCD-----
(867) DSSPKKSENSNGNTADSTELQ-----
(944) AQSSN-----

WO 03/000717

PCT/EP02/06964

5 / 7

Figur 4: Phylogenetische Verwandtschaft von SES-3



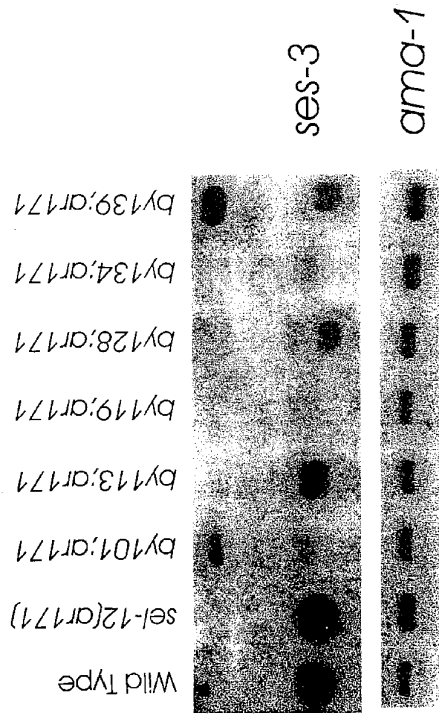
	Identität	Ähnlichkeit
SES-3	-	-
<i>C. elegans</i> T08D10.2	44%	62%
humanes KIA0601	27%	45%
<i>D. melanogaster</i> ALT1	28%	46%

WO 03/000717

PCT/EP02/06964

6/7

Figur 5: Northern Blots von *ser-3* Allelen mit *ser-3*. Bei den meisten Allelen von *ser-3* Mutanten ist eine deutliche Reduktion der mRNA Konzentration festzustellen. Ebenso variiert die Größe der *ser-3* Transkripte je nach Mutation. *ama-1*: Kontrolle für die gleiche RNA Aufreinigung.



Figur 6 Fosmid 'rescue' von sel-12; ses-3

WO 03/000717

rescue

+

+

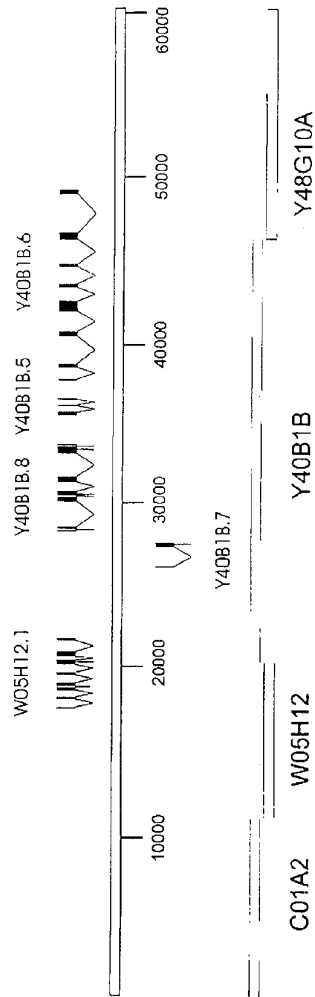
-

H14o4

H37o19

H18N7

7/7



PCT/EP02/06964

WO 03/000717

PCT/EP02/06964

Sequenzprotokoll

<110> EleGene AG

<120> Identifizierung von *ses-3* sowie dessen Verwendungen

<130> 88 840

<160> 3

<210> 1

<211> 770

<212> PRT, Einbuchstabencode

<213> *Caenorhabditis elegans*

<223> SES-3 Aminosäuresequenz (Y40B1B.6)

<400> 1
MSSDTGSEYLDEEIRGDELGPSIDDNALAAAAAARLPFDRPTDHELAFFPELWEHKTAVEV
FLLLRNSTLATWQYNPLKECTALDVRNNVFPFNSDLDLQNIHVYLSRHGLINFGRYVRST
KISRFLVRDRRSVIVIGAGAAGISAATQLESFGFDVIVLEARNICIGRIHSFKSKSGEIMET
GGDTLRKIEDSPMATLLHQVNFEEHGVDFDFTSVFVBCRPLNEEKIHLFLDHYKSAHGALNYQ
AHQCEHRDDQGSFISRQAYENLLSMCERGTLIKYNFCKSLETVARAREHHFNQMKQLRMT
ALMAENQLKMEEEGNLEQDPVLRRLKRDIAATSLEKFEEVADAFETADNHQRLNHPQAK
QYMHGSEFATFNFMLGFEEYLVGAQLEKVQFSCDSMQNKENGVAARLTGEGIAELLTQLSEK
RKLDIRLKHRLVDIDYSGFEHVLLKVQRENGDIEEMKAAFVSTLPIGVKKTI IADERAPT
FTPSLFDKKVEAIRNIGCGSVNKCILEFDRVFWTANGGRNQFVTVSPNIKTRGSMNIWSSVP
GSKVLCTYIVGEEAMLELPDDVIIQNAMINLQKAFGNNPCRAPISAHITRWHDELAFGSGA
FMSLRTETTSFDDVMEPLKTSDGMSRVYFAGEHTCSSYTSTIQAWMSGARAAADISNDHIG
IGFVDISGTRQQRGDEEEELLIEVDIDGKIPEKDENEAVADIPNAPNAPNAQKPEEIPKIAE
BIELVAAEAKAEVQLEPLVPTVE

<210> 2

<211> 2313

<212> cDNA

<213> *Caenorhabditis elegans*

<223> cDNA Sequenz von *ses-3* (Y40B1B.6)

<400> 2
atgtcgtctg acacgggttc cgagtatttg gacgaagaga tacgtggcga tgaattgggg ccgtctatag atgataatgc
tctgccgtct gccgccagcg ccgccgtct tccattcgac cgcccgactg atcagagtt gccattcttc ccgagactct
gggagcacaa gacagccgtc gaggtgttcc tctgctctag aaatcgacg ctgccacgt ggcaatacaa tccactgaaa
gagtgcacag cgttgatgt cagaataac gtitttcgc gttcaactc agatttagac ttgattcaga acattgtgca
ctatctatcc cgtcatggac taatcaattt cgtctgttac gtgagatcca ccaaatcag tegtittcta gtccgtgac
ggcgttcagt gattgtaatt ggccgtggag cagctggaat ttcagcagcc acccaactgg aatcattcgg attgatgta
atcgttttg aggcaaggaa ttgtatggt ggacgtatc acagtittaa atcgaaaagt ggagagatta tggagactgg
agggtatagc ctgcgaaaaa tcgaggatto accgatggcc acgtgtgtgc atcaggtaaa ctgcgaagag caccgagtat

WO 03/000717

PCT/EP02/06964

tcgatttca ctcagttatc gtcgagggtc gtccattaaa cgaagaaaag attcattat tccatgatca ctataaatct
 gctcacggag ccctaaaaa tcaagcccat caatgtgagc atcgtgatga tcaaggatca tttattccc gacacaagc
 ctatgagaat ctattaagta tttgtgaacg tggaaacatt atcaaatatt ataactttt taaatcactg gaaacccgtc
 ccgagcccg tgaagcatcat ttaattcaaa tgaacacgtt gagaatgaca gcatgtatgg ctgaaaaatca gctgaaaaa
 atggaagaa aaggaattt ggagcaggat ccggtgctca gaagatcatt aaaacgggat attgcaacat cactcgagaa
 atttgaagaa gtgcgtgacg ctttgagac ggctgataat catggcaac ggcttaatga gcattccacag gcgaacaaat
 atatgcatc cggatctgaa ttcgagactt ttaatttat gttgggattt gaggagtatt tztgtggagc acaattggaa
 aaagtgcatt tctgtgtga ttcgagcaa aataagaga atggagtggc ggcgagatta accgaaggaa ttgccgaact
 gcaacacaa tttccgaaa aacgaataat ggaatttcgt ctgaagcact gtttttga tattgattt agcgagttt
 agcatgttt actgaagtt cagcgagaaa atggagatat tgaagaatg aaagccgtt ttgtagtat taaattcca
 attgtgtgac ttaaaaaac aattatgcc gacgagcgtg ctccgacgtt cactccctca ctaccgata aaaaagtga
 agcaattcga aatttggct gtggaagtgt gaataagtgt attcgaat ttgacgagt ttttggagc gcaaatgggt
 gaagaaatca atttggacg gttcaaccga atataaaac acgtggctcc atgaatatct ggtcatcagt gcttggctca
 aaagtactgt gtacctacat tgaaggcga gaggcaatgc tgaagctacc cgaatgacgt ataattcaaa atgcgatgat
 aattcttcaa aaagcattt gaaataattg tccagtgct ccaatcagtg cacatattac acgttggcat gatgatgagt
 tggcatttgg atcgggtgca ttatgagct taaggactga aactacaagc ttgatgacg tcatggaaac cctcaaaacc
 tccgatggaa tgcacgggt ctatttggc gagaacaca cgtgtccag ctatcacgt ccgattcaag gacatggat
 gtctggcg agagccggc ccgacattc caacgatcat attggcatg cgttttggga tataagtga acacgtggc
 aacgggtga tgaagaaat gacgtctca ttgaattga tattgatga aaaaatccg agagggatga aatgaggct
 gatgtgata ttcaaatgc tcaaatgct ccnaatgct aaaaaccga agaaatccg aaaaatccg aagaaatga
 actcgtgct gaagctgaaa agcgtgaaa agctgaagtc cagctggagc cactatggc aacattgaa tag

<210> 3

<211> 11863

<212> DNA

<213> Caenorhabditis elegans

<223> Genomische Sequenz von *ses-3* (Y40B1B.6)

<400> 3

atgtcgtcgc acacgggttc cagttattg gacgaagaga tacgtggcga tgaattggg ccgtctatag atgataatg
 tgaggaaatc ctggaaaaag tgcagaaaaa tggataaaaa tggcgggtgt agaggctcga gtgtatttg tagtgtgagc
 ctcaaccaag ttttcagcga aaattcagca tttcagcag aaaaatcaca gttttgcgtc aataaacac caatataag
 aaaaaccat tgagtttcc atattttct gctaaaaaa ctttaaaat caacttcaa atgtgtgag gctagaatg
 ttgattttg tagtgtgga gctcaacca gttttcatc cattttaag gcaaaaatag gcaattttac attaaaaat
 cagattttc agtagaaaaa tgcattctt cgtattaat cgttaaaaac aaaaaaaat ttctaaagt ttgcacaga
 aacacaaat ttaaatgaa atcaatact tggttgagc tagaatgtt gtatttga gtgtgtgagc ctcaaccaat
 aagttgtgc atttacctg agaaaatctg aaagccacag tcaaaaatga gaattttg tagaaaacag catttttcc
 atttcaatc ggaataatc cgaataatgac ctgggtgag gctgagagaa gtgtatttg tagtgtcga gctcaacca
 attttttt tttttctg aatttaatat aattttccct gtaattttt aatttaagt gtcaaaaat ccaggaaaaa
 gggtgattt tagtctaat ttcccatc tttttcgc tctgcgcgt gccgccagc ccgcccgtc tccattgac
 cgcgccagc atcacaggtt ggcattctc ccgagctct gggagcaca gacagccgtc gagggttcc tctgtctag
 aaattcgac ctcgccagc ggcatacaca tccatgaaa gagtgcacag cgttggatg cagaaatc gttttccg
 cgttcaact agatttagc ttgattcag ttgtgaaat aggaataatc tgaatttgc acctaaact ttaaaaaat
 cgaataata gatgaaaaac tgcagtttt ttgtgaaaca tccgatttt tcttgggtg aggcctcagc actacaact
 acaacattt tagctcaac ctttgttga ggtgaaac ttgtattt ttgtctgc agcctcaac aagttgatt

WO 03/000717

PCT/EP02/06964

gtctgatttt tcagatattt catggatttt tcccgaaaaa tacaatttt taagcaaaaa ttagaatgga aatcccaaa
 aatcggttaa aaacggccaat attcatagag ttcagactac aaactacaaa acaattaaat ttattfgaaa aatgaanaat
 ttaaaatgaa attcaaaaat taaaaggcga aattatataa aaataaccaa aaacattttt gaattttcaa caaaaacctg
 gtttttga gaatttcaat tttttacc gaaaaatcta attaaaaact cgaatgaaa aaaaatttg ttttttgr
 tctgaaaaaa ttatttcta taaatttaa aattataag attaaaaaa taacgtttt cgcctgtca actcggaatt
 ggacttgatt cagggttgaa aattaggatt ttcactgatt ttgcatctaa aaatcatgaa aaactccaga aaactgata
 aaaaaccgca gttttcagcg aaaaatgggt gaaaaatccg attttgct tgggtgagcg tcagacacta caaactacaa
 ttgctgcta gccitcaacca atcaattttt gctttttttt agaatgaaaa ttgatttta tattttata tictgattg
 agatttaaaa aaaaaaattt aagaatttg aattttttt aacagaaaa cggaaatgaa tgaatcaatt ttltgaaatt
 ttcggcgcaa aagtgaattga gtgctggaaa atagttaaac ttatcaaaa ataactgaaa aatttgaatt ttcaatcatg
 aaatggcaa attcagggat ttgatgaaa ttittatga aaaaatcgaa ttitcacctg aaaaattatt gaaaatgctt
 attttttgc gaattttgac aaaaaaaac cgaaaaaaat tctttccga atatttttt acagaaaaat ggaatgaaat
 ttcaaaaat ttgaaatttt cggcgcaaaa gtgattgagt gctggaaagt agttgaaaat tatattttt ggcattttt
 atagaatttt aaaaaaaagg attattgaaa aaatcgaaat tictcctgaa aattattga aaatgcttat tttttcga
 attttgacaa aaaaaaacgg aaaaaaattt ctttccgaat attttttac agaaaaatcg aatgaaagt ttgagaaatt
 gggaataac taacaaaaaa aattgaaatt tcaaaaaaaa actggtttt ttttttga gaatttcaa ttitttcat
 gaaaaatcaa ataaaatgtt ttgtggaaa atgcgaaaat ttcatttta aaaaatcgaa ttitcaactg aaagttaatt
 gaaaatcta ttttttga aaaaatgagg ttttttcaag aattttgat aaattactt ccaaatitg tagttttag
 ttcaatttt cagaacattg tgcattact atcccgcat ggactaatca atttccgtc ttactgaga tccaccaaaa
 tcagctgtt tctatccgt gatcggcgtt cagtgtgtt aattggcgt ggagcagctg gaatttgc agccaccaaa
 cgggaatcat tccgattcga tgaatcgtt ttggaggcaa ggaattgat tgggtgacgt attcagatt ttaaatgaa
 aagtggagag attatgaga cttggagtg taccgtgcga aaaaatcgagg attcaccgat gccacgtg ttgcatcagg
 ttgctgga aaatcggtg aaattcgga aaatcgagg aaattgatt aaaaatgga gattttata aaaaatcgat
 ttgttatca aaactgtgtg aaaaacctat gaaaaactg agattcggc gaaaaatacc tgaaaaaacg caaatttga
 gtagaataat catttttgr ttaaaaaat tctgaacatc gatcaaaaaa ggcatattc agcgaaaaat accgaaaaa
 cgacgaatt taatcaattt cgttttttg ttgagctca cactacaaac tacaatcgt cttagctca agcatgttc
 tggttgagc tgaacgttc gtatgtgtg gtctggcct caaccaagt ggaatgacca atttttga aatttcaata
 aaaaaggaaa cattttcgt aattgttat gaataattg gagaataatg attaaaaaac tgcagatttt agcaaaaaa
 ctgaaaaaat gtatttctc aaaaatcta tgaaaaaatg caatttata gcgaaaaaac tgaaaaaacg acaattttt
 tggcaaaaat tcaattttg ctgaaaaaaa ttgaaaaat tgaatgaaa actgcagatt tcaaccgaaa aatccgaaa
 aacgacgaaa tttaatacaa atgacgaatt tctttttgt ggaggctcac actacaaact acaatcgtt ttgacctaa
 ccatgtttt ggttgaggct gaagcgttg tagttttag tctgagctc accaaaagt gatcaactg ttccagaa
 attcatgga atttttga aaaaagcaaa ttittcgtaa cttattgaa aaatcgaaa aaaaacgat ttgtgaacga
 aaaaatcgt ttcaaaaaa aattgttga ggcctcaggt acaactaca cttttaat ctcaaccagt ataaaagt
 gttaaacatt gtatttga gtctggtg gaaaattgc aaattttact caacttaaa aactcagta cctgtaact
 tgaattttg agtcagaaat ttaccactc gcgtgatata tcttcatta caaactcaa atctaaagta ttgtgtgtt
 gtatgtgag ctacactac aaactacaa aaacttcaa tttttgata tggaaaacga aaaaatgaaa catttttt
 taatgaagt ttaatttga caaaattat tttttttt cgacttttt ttggatttt tcaataaaa aaaaatttca
 ggtaaactc gaagagcagc gattatcga ttcaactca gtattcgtc aggtcgtc attaaacgaa gaaaagattc
 attttctt agatcactat aaatcgtc acggagcct aaactcaaa gccatcaat gtgagcatc gtatgatcag
 ggaatcatta ttcccgaca acaagcctat gagaactat laagtatg ttgaactgga acacttaca aattataa
 cttttttaa tactcgaaa cgtcgcctc agccgtgag catcattca atcaaatgaa acagtgtga atgacagcat
 tgaatgctga aaatcagctg aaaaaatgg aagaagaagg aaattggag caggatccg tgcacaga atcattaaaa
 cgggatattg caactcact cgagaaatt gaagaatcg ctgacgttt tgaacggtt gataatcatt ggcaacgct
 taatgagcat ccacaggcga aacaatatat gcatcggga tctgaattc cgactttta ttattgtg ggatttgaag
 agtattttg tggagcacia ttggaanaag tgcatttct gtgtatcg atgcanaaa aggagaatg agtggcgcg
 agatgttatt gatttgaana gacgaattt tgaatgaaa ttggaaatt ttctgtgaa gaattgaaa gtttaaggaa
 aatgggaaaa tttaatttt ggacttttt ttgacaaaa atggcaaaa tttaaaaa gtgcgaaaa atcgaaaatt
 ttcgatttt cgaaaaatc aacgagaaga aaattcaatg gaaaacattt gaaatttcat gaagaacct gaaaattgtg
 acgaatttt gattttagg caaaaaaat gatttctat ttitttcat ttgcgaaaa aaaaatgaaa ttittgcaaa
 caaactaat tcaattttt taagaattt ttctgcaaaa aattgattc tcaattatt ttcgtgtta cgcattgaa

WO 03/000717

PCT/EP02/06964

attcgagaaa aaattggaaa ttccaattt tgggaatttt tggcgaaaaa aaattccgca aaattgata aaattgcaga
 aaaaacggaa atttttagcg aaaaatagct ttctcgaaa attgaaaaat tcactgttat ttttgattt ttgaatttt
 ttcttaata aagtcgtaaa aatctgtgaa aattccagaa aatcttcaaa atttcggat aattcagttc aaaaacgctc
 aaatttgaa taataatcca aaattccaggt ggattttatg atttttgaa tgaattttgg attttggata gaaattgtca
 aaattcgtca aaattactaac tagaacagtg ataattgaaa ttttagact atacaggctt aatccaatga aatataatca
 tcaataaat tacagttaac gaagggaattg cgaactgct aacacaatta tcggaaaaac gaaaattgga tattcgtctg
 aagcatcgtg ttttgatat tgaattagc ggatttgagc atgtttact gaaagtcag cgagaaaaat gagatatga
 agaattgaaa gccgctttg tagtatctac attccaattt gggttacta aaaaatcagc gccatttttc gagaataaaa
 ttgattcgaa aaaaaaaca atttagcgtg gtggttttag aagcactgtt aaaaaaattg cagaaaaaaa ttgaaaaata
 accgaaaaatc gccgggttt ttccgaaaa cgtggaattt tcaggaaaa aaacgaattt taaaaaata agttatgcc
 gaaaatcag taataaattg aattttaac taaattaac gccaaaaat aaaaaaaa ccaattttt ccaagaaat
 tgcgaattt tcactgaaaa aactcaaac tagagggaatt catcaatta ggtgattaaa atagatttt gcctacaaca
 ttctgaaaat tgaatttt atcgtgaaa aatggggaaa tgcggatttt tccaaaaaaa aacgaattt tcagatgaaa
 aactagctat ttggctttaa aattgaaaa attgatttt ttgtttttt cctcaaaaa attgagctga aaatgaaaaa
 aacacatttt tcagaaaaa agtagcaaaa tticattga aaaaactcaa aaactagaga aattctgtac attttcaga
 ttaaatcga tatttgcta caaatctca aaaaaaaat tgaatttta tcacaaaaag tacaggaaaa tgttaaac
 taagaact ttgaatttat tgtttttt atcttttaa tcaataaaat gcaagttctc ttaagtlla tacaatttgc
 tgaattttt gtgataaaaa tcaatttt tttttgaaa ttgttagcc aaatctgat ttaattcga aaaaatgaca
 gaattctct attttgatt ttttcaatg aaaaatttgc tegtctgc tcaatttaac tcaattttc aaatttcca
 aatgactat ttaagtcaa aaattcgaa atctcgttt ttaccggaa aaatccgaaa aaatctgat ttttaagtc
 aaagatcaat tttttagtag taataaattc gactacacca cttttaaata aaaaataca cattttccag acaattatc
 gccagcagc gtgctccgac gtctactcc tcactaccg ataaaaaagt ggaagcaatt cgaattatg gcgtgggaag
 tgtgataaag tgaattctg aatttgatcg agtttttgg acggcaaatg gtggaagaaa tcaatttgc acggtttac
 cgaattatgc agcggttttt tcggactaca aactataaaa cgtactggtt gaggtcaca gactacaac tacaatttc
 tgaggctcac caagttttt gtcgttttt aagtttttc gaacgaattt ttccctgaaa aactaggttt tgaacaaaa
 ttctgtgt ttcttcggg ttctatcg attttaaac caaactgtt cagtcaaat ttgattgagg cgtagactac
 aaactacact ttctgttta gcctcaacca ttttcgcag aatttgag tatttttt ttftgaaa atcttaatt
 tctgttaaaa aatcaagatc ttgcccga aaatgcgaaa aaacgtcaa atttgattt taaaagaaca taaatttgg
 ttgaggctca gagactaca actacaattc atctcagcc tcaaccaatt actagtgttg aaaaatgcac atttttatt
 acaactgttg gtttgaccg ttctctca ttttcgatg acaaaattta agatttagca agaaaatct ttaaggaaac
 tgaatttgc tcgaaaaatg caaaaaaatt tcaattttc gaagaaaaag ttctactat ttggttgag gctcatagac
 tacaactac aattttgtt agcctcaacc atagcgaat tattggaatt aaaaaaaat attcgttaa aaaaattgt
 ttftaaaga gtgacgaatc acactcaaaa ctacacaatt ctaggaaaaa cgaatttt ttccgataaa aaatttttg
 aatcaggtt ttgactaca aactcaaaa aaaaaaagt attttggtt aaaaaatctg aaaaaacact tttttggtt
 ataaaaattt atatttcgg tagttgtag tgrgtacatt tcttaaaatt ttgataaaa atcaattttt tttgaaaaa
 aattttggag ctcccacaaa actacaact acaaaatgtt aaaaattaat ttftgaaaa aaaaatgtct gatttttaga
 ttgtgttt gtgctttt gaaaatgaaa ttctcaga atttctatt aataacgttt attctaagaa gctccgacta
 caaactaca tatttttt ttaaaatatt tgggtgagc tcagagacta caaactacac aaattctca gctccacca
 taattttaa ttctattat atttgatga ggtcagaga ctacaaacta caaactacac aaattctca ttttctatg
 aagaatcaa tttaatatg ttgaaata caaaatgaa aaaaaaaat tttaattagg ctcccacaaa actacaact
 acaaaaagt acattattg atttgattt tgcagtctct cattataac attttctt ttaaaaaa acaagaattg
 tgaatgaaa ataaagctcg actacaact acaatagac tatttggtg agttgcgag actacaact acaactaca
 caaaataaa tttttttt cagaaaaaca cgtggtctca tgaatctg gtcactagc cctggctcaa aagtagtg
 tactacatt gtaggcgaag aggcaatgt cgaactacc gatgagctca taattcaaaa tgcgatgata aatctcaaa
 aagcaatttg aataattgt ccactgtct caatcagtc acatattaca cgttggcatg atgatgagt ggcatttga
 tccgtgcat ttatgactt aaggactgaa actacaagt ttgatgact catggaacc ctcaaacct ccgatggaat
 gtcacgggtc tatttgtg gagaacac gtgtccagc tataatcga cgaatcaagg agcatggatg tctggggoga
 ggtacagaca ctacaacta caaactacac tttttttt gctgctaca aactacataa ttgtgttga agctgtatg
 tgtgagggcc agcgtgacta caaactacac tttttactg gcgaaaaatg caatttcta ctagggaata ttgtaatatg
 gggnaattgt aggaagacac acaaacatt aaacacaga tgggtcttt ggctacaaa atcattttt ggaatctgt
 aaactctgc ccaaatgcta aattttgcg cttaaaaagt agtcctttt ttgtcaaaa tgcgttttt cgtgtgtaga

WO 03/000717

PCT/EP02/06964

agtggctata taaaatttg gcactgcag cgcggttca atggccgalt ggfgaactct cgtgctcaat aactaaagg
 tcacgggttc gttcccaact aggtataat tttttttt gaattttcc tctagcatga aaatgcaca aaacacacac
 aaattgtcag tgaatctac tctgtaaat ttatgggtga gagagatag ggcattagta attaatgatg ttaagcttc
 acttcgatta ttattggta ctittgnaac aacttgcag tggacaact tttttatt taccgtcaa cggagctgga
 agtctttgaa agtaggtcct ttcttgaaa aactctagag aaacacaacg tggtttttc ctaaaaatga catttgatcc
 tccaatact tagaataat caaactaat ctgtcttcc aaacacaac cttttgaaa aaattttgaa aaattttt
 tgaagaaaa tatgtgcata tcagggtgga gaaaagtga aattatcaa aaaaagaaaa ctcccaaaaa gttcccaat
 tactttatg attaccagga accaaaaat ttatccgaa gtaccaaaa aacgggaagaa accgtgtttt tgtgcattt
 tcatgctaga ggaaaaattc aaaaaaaaa ttaataccta gtgggaacg aacccgtgac cttagaita atgagcacga
 gagttcacca atcggccatt cgaacggcgg ctgcagtgcc aaactttat gtaccactt ctacacaga aaacggcat
 ttgagcaaa aagagacta cttttaagg ccgaaaatt cagcttggg gcagagtta gcagatcca aaaaatgatt
 ttgtagcca aagacctcat ctgtcgttta aagtgttg tcttctcta gcaatcccc tattaacat attccctagt
 tagcacaat ccaattata ttcaacaaa aaaaattgag aaatcgtatg aaacctgca gatttcagcg aaagcatcg
 gaaaacgaca aaatttaac gaaaatccaa ttittgttt aagtgggt cacaacaa actacaact tttagctc
 aacctgtt gtgtgttg ggcgaaaa ttgtgttg tagtccgggc ctcaaccaat gtgtgtgc caatttcca
 gaattttc ggaattttc tgaataaac aaattttc taactttt gaaaaatgc aaaaaaaa cgtttttga
 acgaaaaatc acgttttcaa aaaaatttg gtgaggct acacacaa ctacaact tttagcctca accattgtg
 ttgtatgag cgtgaacgt ttgtgttg tagtctattg tgaataacc tgtttctga aataaaaacg gtgctaaaaa
 gacacgtgga ttattttaa aaatcgcag ttctgttag ttgtgtgt aattaatct cacaacaa actacaatg
 ttataaaaa tccgaaaaa agttattaa aaatttga aatggctt ttattgaa taaaattt ttacaaaat
 tccaacaaa aatgatttc ttgaaaaaa ttgttacta caactacaa aatttcgaga aatctgtaa aaattgaaa
 aatgtgata aattctata ttgtctta aagttttt ttctacaa taactttt tggaaaaaa ttgaaggt
 ttcatctt ttgtgttg tagtgaatt agttacta caactacaa taatttga cgaattcaa aaattcga
 gaaacattt ttgtgtg ttgtgtgt aaattgata attttcaa ttttccgaa gaaaaagct taaaaatga
 ggacacata caactacaa gataataaa gtgtgtgt gtgtgtgag accctttga aaattttt aaaaaata
 gaaatgcac atttttaac ccaaaatga aaatctgct atcttaatt tgttccaaa aatattgtg ttgtgtgt
 acctaaaaa aactacaac taattttt tctatttt agagcggcg ccgacattt caacgatcat attgcatcg
 gctttgtga tataagtga acacgtgct aacgcgtga tgaagaagaa gagcttcca ttgaagtga tatgatgga
 aaaatcccg agaaggaatga aaatgaggt gtactgata ttccaaatgc tccaaatgc ccaaatgct aaaaaccca
 agaaatccc aaaaatccc agaaatga actgtggt gaaatgaaa aggtgaaaa agctgaatc cagctggagc
 cactatgcc aacattgaa tag

【国際公開パンフレット（コレクトバージョン）】

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
3. Januar 2003 (03.01.2003)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 03/000717 A3

(51) Internationale Patentklassifikation: C07K 14/435,
C12N 15/12, 15/63, C07K 16/18, C12Q 1/68, A61K 48/00

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP02/06964

(22) Internationales Anmeldedatum:
24. Juni 2002 (24.06.2002)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
101 30 247.9 22. Juni 2001 (22.06.2001) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme
von US): AVENTIS PHARMA DEUTSCHLAND
GMBH [DE/DE]; Brünigstrasse 50, 65929 Frankfurt am
Main (DE).

(72) Erfinder; und
(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): BAUMEISTER, Ralf
[DE/DE]; Freilandsstrasse 44a, 82194 Grünheide (DE);
LAKOWSKI, Bernard [DE/DE]; Kornweger Strasse
60, 81375 München (DE); EIMER, Stefan [DE/DE];
Stahleckplatz 1a, 81375 München (DE).

(74) Anwalt: AVENTIS PHARMA DEUTSCHLAND
GMBH; Patent- und Lizenzabteilung, Industriepark
Höchst, Gebäude K 801, 65926 Frankfurt am Main (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): AF, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,
CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE,
GH, GM, GR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR,
KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK,
MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU,
SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG,
US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),
eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK,
ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SI, TR),
OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,
ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:
— mit internationalem Recherchenbericht

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen
Recherchenberichts: 30. Oktober 2003

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Ab-
kürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Co-
des and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der
PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: IDENTIFICATION OF SES-3 (SPR-5) IN C. ELEGANS AND THE USES OF THE SAME

(54) Bezeichnung: IDENTIFIZIERUNG VON SES-3 (SPR-5) AUS C. ELEGANS SOWIE DISSSEN VERWENDUNGEN

(57) Abstract: The invention relates to isolated nucleic acid molecules coding for SES-3 proteins or muted SES-3 proteins, and vectors and transgenic organisms containing such nucleic acid molecules. The invention also relates to uses of such nucleic acid molecules or others which are functionally similar, for producing pharmaceuticals and for producing model organisms. The invention further relates to the corresponding SES-3 proteins and muted SES-3 proteins, and the antibodies induced thereby. Finally, the invention relates to the use of substances which increase the expression of human presenilin, for the treatment of Alzheimer's disease, in addition to said substances themselves and pharmaceutical compositions containing the same.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft isolierte Nukleinsäuremoleküle, die für SES-3 Proteine bzw. mutierte SES-3 Proteine codieren, Vektoren und transgene Organismen, welche solche Nukleinsäuremoleküle enthalten, Verwendungen solcher Nukleinsäuremoleküle oder funktional ähnlicher zur Herstellung von Arzneimitteln sowie zur Erzeugung von Modellorganismen und die entsprechenden SES-3 Proteine und mutierte SES-3 Proteine sowie damit hervorgerufene Antikörper. Zudem betrifft die Erfindung die Verwendung von Substanzen, die die Expression von humanen Presenilin steigern, zur Behandlung der Alzheimer'schen Krankheit, sowie diese Substanzen selbst und pharmazeutische Zusammensetzungen, die diese Substanzen enthalten.

WO 03/000717 A3

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No. PCT/JP 02/06964
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 C07K14/435 C12N15/12 C12N15/63 C07K16/18 C12Q1/68 A61K48/00		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 C07K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used) SEQUENCE SEARCH, WPI Data, PAJ, BIOSIS, EPO-Internal		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DATABASE EMBL 'Online! 20 June 2001 (2001-06-20) "C. elegans cosmid Y40B18" retrieved from EBI Database accession no. AL032636 XP002247708 protein ID CAA21604.1 abstract --- -/--	1-19
☒ Further documents are listed in the continuation of box C. ☒ Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents: *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another document or other special reason (as specified) *C* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art *Z* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
15 July 2003		06/08/2003
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.O. 5918 Patentlaan 2 NL - 2260 PV Rijswijk Tel (+31 - 70) 940-2040, Tx 31 651 epo nl, Fax (+31 - 70) 940-2016		Authorized officer Stolz, B

Form: PCT/ISA/217 (second sheet) July 1992

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No. PCT/JP 02/06964
C/(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indications, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WEN C. ET AL.: "spr-2, a suppressor of the egg-laying defect caused by loss of sel-12 presenilin in <i>Caenorhabditis elegans</i> , is a member of the SET protein subfamily" PROC. NATL. ACAD. SCI. (USA), vol. 97, no. 26, 19 December 2000 (2000-12-19), pages 14524-14529, XP002247707	22
A	page 14525, paragraph 1 - paragraph 4 ----	1-31
A	WO 97 11956 A (GREENWALD IVA ;LEVITAN DIANE (US); UNIV COLUMBIA (US)) 3 April 1997 (1997-04-03) page 37 -page 42 ----	1-31
A	NAGASE T ET AL.: "PREDICTION OF THE CODING SEQUENCES OF UNIDENTIFIED HUMAN GENES. IX. THE COMPLETE SEQUENCES OF 100 NEW CDNA CLONES FROM BRAIN WHICH CAN CODE FOR LARGE PROTEINS IN VITRO" DNA RESEARCH, UNIVERSAL ACADEMY PRESS, JP, vol. 5, no. 5, 1998, pages 31-39, XP000878819 ISSN: 1340-2838 KIAA0601 tables 1,2 ----	22
A	DATABASE EMBL 'Online! 9 November 2000 (2000-11-09) "C. elegans cosmid T08D10" retrieved from EBI Database accession no. Z50756 XP002247709 abstract ----	22
A	DATABASE EMBL 'Online! 1 June 2001 (2001-06-01) "D. melanogaster" retrieved from EBI Database accession no. AE003514 XP002247710 abstract ----	22
T	EIMER S. ET AL.: "Loss of spr-5 bypasses the requirement for the C. elegans presenilin sel-12 by derepressing hop-1" THE EMBO JOURNAL, vol. 21, no. 21, 1 November 2002 (2002-11-01), pages 5787-5796, XP002247754 the whole document -----	1-31

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/EP02/06964
Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)		
This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:		
1.	☐	Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2.	☒	Claims Nos.: because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically: SEE SUPPLEMENTAL SHEET WEITERE ANGABEN PCT/ISA/210
3.	☐	Claims Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).
Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)		
This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:		
1.	☐	As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2.	☐	As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3.	☐	As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4.	☐	No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
Remark on Protest		☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest. ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP02/06964Box 1.2

Claims 29-31 relate to a product and to the use thereof, the product being characterised by its effect on the expression of presenilin. The claims therefore encompass all products, etc., that have this characteristic or property, whereas the application provides support in the description (PCT Article 5) for only a limited number of such products, etc. In the present case the claims lack the proper support and the application lacks the requisite disclosure to such an extent that it appears impossible to carry out a meaningful search covering the full scope of protection sought. Irrespective of this, the claims also lack the requisite clarity (PCT Article 6) since they attempt to define the products by the results which they are intended to achieve. This lack of clarity too is such that it is impossible to carry out a meaningful search covering the full scope of protection sought. The search was therefore directed to the parts of the claims that appear to be clear, supported and disclosed in the above sense, that is the parts relating to SES-3, KIAA0601, ALT1 and TORD10.2.

The applicant is advised that claims or parts of claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established cannot normally be the subject of an international preliminary examination (PCT Rule 66.1(e)). In its capacity as International Preliminary Examining Authority the EPO generally will not carry out a preliminary examination for subjects that have not been searched. This also applies to cases where the claims were amended after receipt of the international search report (PCT Article 19) or where the applicant submits new claims in the course of the procedure under PCT Chapter II.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No.

PCT/EP 02/06964

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9711956	A	03-04-1997	AU 728251 B2 04-01-2001
		AU 7251496 A	17-04-1997
		CA 2233297 A1	03-04-1997
		EP 0854881 A1	29-07-1998
		JP 11512611 T	02-11-1999
		WO 9711956 A1	03-04-1997

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		Internationales Aktenzeichen PCT/EP 02/06964						
A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES IPK 7 C07K14/435 C12N15/12 C12N15/63 C07K16/18 C12Q1/68 A61K48/00								
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK								
B. RECHERCHIERTE GEBIETE Recherchierte Mindestprüfzettel (Klassifikationssystem und Klassifikationsymbole) IPK 7 C07K								
Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfzettel gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen								
Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe) SEQUENCE SEARCH, WPI Data, PAJ, BIOSIS, EPO-internal								
C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN <table border="1"> <thead> <tr> <th>Kategorie*</th> <th>Beschreibung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile</th> <th>Bufr. Anspruchs Nr.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td> DATABASE EMBL 'Online! 20. Juni 2001 (2001-06-20) "C. elegans cosmid Y40B18" retrieved from EBI Database accession no. AL032636 XP002247708 protein ID CAA21604.1 Zusammenfassung --- -/- </td> <td>1-19</td> </tr> </tbody> </table>			Kategorie*	Beschreibung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Bufr. Anspruchs Nr.	X	DATABASE EMBL 'Online! 20. Juni 2001 (2001-06-20) "C. elegans cosmid Y40B18" retrieved from EBI Database accession no. AL032636 XP002247708 protein ID CAA21604.1 Zusammenfassung --- -/-	1-19
Kategorie*	Beschreibung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Bufr. Anspruchs Nr.						
X	DATABASE EMBL 'Online! 20. Juni 2001 (2001-06-20) "C. elegans cosmid Y40B18" retrieved from EBI Database accession no. AL032636 XP002247708 protein ID CAA21604.1 Zusammenfassung --- -/-	1-19						
<table border="1"> <tr> <td>☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen</td> <td>☒ Siehe Anhang Patentfamilie</td> </tr> </table>			☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen	☒ Siehe Anhang Patentfamilie				
☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen	☒ Siehe Anhang Patentfamilie							
<table border="1"> <tr> <td> * Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen : *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders beschreibend anzusehen ist *E* älteres Dokument, das jedoch wert ist oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist *I* Veröffentlichung, die bekannt ist, einen Prioritätsanspruch zweifelsfrei erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen (in Betracht kommenden) genannten Veröffentlichung bezeugt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie angegeben) *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Besprechung, eine Ausdeutung oder andere Maßnahmen bezieht *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist </td> <td> *1* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis der Erfindung zugunsten des Erfinders oder der für zugunsten liegenden Person angegeben ist *2* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung, nicht als neu oder auf erfindungsfähiger Tätigkeit beruhend betrachtet werden *3* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfindungsfähiger Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist *4* Veröffentlichung, die Mitglied desselben Patentfamilie ist </td> </tr> </table>			* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen : *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders beschreibend anzusehen ist *E* älteres Dokument, das jedoch wert ist oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist *I* Veröffentlichung, die bekannt ist, einen Prioritätsanspruch zweifelsfrei erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen (in Betracht kommenden) genannten Veröffentlichung bezeugt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie angegeben) *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Besprechung, eine Ausdeutung oder andere Maßnahmen bezieht *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist	*1* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis der Erfindung zugunsten des Erfinders oder der für zugunsten liegenden Person angegeben ist *2* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung, nicht als neu oder auf erfindungsfähiger Tätigkeit beruhend betrachtet werden *3* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfindungsfähiger Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist *4* Veröffentlichung, die Mitglied desselben Patentfamilie ist				
* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen : *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders beschreibend anzusehen ist *E* älteres Dokument, das jedoch wert ist oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist *I* Veröffentlichung, die bekannt ist, einen Prioritätsanspruch zweifelsfrei erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen (in Betracht kommenden) genannten Veröffentlichung bezeugt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie angegeben) *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Besprechung, eine Ausdeutung oder andere Maßnahmen bezieht *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist	*1* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis der Erfindung zugunsten des Erfinders oder der für zugunsten liegenden Person angegeben ist *2* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung, nicht als neu oder auf erfindungsfähiger Tätigkeit beruhend betrachtet werden *3* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfindungsfähiger Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist *4* Veröffentlichung, die Mitglied desselben Patentfamilie ist							
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche		Abschlußdatum des internationalen Recherchereports						
15. Juli 2003		06/08/2003						
Name und Postanschrift der internationalen Recherchebehörde Europäisches Patentamt, P.O. Box 5818, München 2 M - 85901 München Tel. (+43-70) 340-3040, Fax (+43-70) 340-3015 Fax (+43-70) 340-3015		Bevollmächtigter Beamt Stolz, B						

Formblatt PCT/ISA/210 (Beit. 3) (Juli 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		Internationales Atomkartell PCT/EP 02/06964
C. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie	Beschreibung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WEN C. ET AL.: "spr-2, a suppressor of the egg-laying defect caused by loss of sel-12 presenilin in <i>Caenorhabditis elegans</i> , is a member of the SET protein subfamily" PROC. NATL. ACAD. SCI. (USA), Bd. 97, Nr. 26 19. Dezember 2000 (2000-12-19), Seiten 14524-14529, XP002247707	22
A	Seite 14525, Absatz 1 - Absatz 4	1-31
A	WO 97 11956 A (GREENWALD IYA ;LEVITAN DIANE (US); UNIV COLUMBIA (US)) 3. April 1997 (1997-04-03) Seite 37 -Seite 42	1-31
A	NAGASE T ET AL.: "PREDICTION OF THE CODING SEQUENCES OF UNIDENTIFIED HUMAN GENES. IX. THE COMPLETE SEQUENCES OF 100 NEW CDNA CLONES FROM BRAIN WHICH CAN CODE FOR LARGE PROTEINS IN VITRO" DNA RESEARCH, UNIVERSAL ACADEMY PRESS, JP, Bd. 5, Nr. 5, 1998, Seiten 31-39, XP000878819 ISSN: 1340-2838 KIAA0601 Tabellen 1,2	22
A	DATABASE EMBL 'Online! 9. November 2000 (2000-11-09) "C. elegans cosmid T08D10" retrieved from EBI Database accession no. Z50756 XP002247709 Zusammenfassung	22
A	DATABASE EMBL 'Online! 1. Juni 2001 (2001-06-01) "D. melanogaster" retrieved from EBI Database accession no. AEC03514 XP002247710 Zusammenfassung	22
T	EIMER S. ET AL.: "Loss of spr-5 bypasses the requirement for the C. elegans presenilin sel-12 by derepressing hop-1" THE EMBO JOURNAL, Bd. 21, Nr. 21, 1. November 2002 (2002-11-01), Seiten 5787-5796, XP002247754 das ganze Dokument	1-31

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT	Internationales Aktenzeichen PCT/EP 02/06964
Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)	
Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:	
1. ☐ Ansprüche Nr. — weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich	
2. ☒ Ansprüche Nr. — weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich siehe Zusatzblatt. WEITERE ANGABEN PCT/ISA/210	
3. ☐ Ansprüche Nr. — weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 8.4 a) abgefaßt sind.	
Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)	
Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:	
1. ☐ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser Internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.	
2. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchengebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.	
3. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser Internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr. —	
4. ☐ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen enthalten: —	
Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs	
☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.	
☐ Die Zahlung zusätzlicher Recherchengebühren erfolgte ohne Widerspruch.	
Formblatt PCT/ISA/210 (Fortsetzung von Blatt 1 (1)) (Juli 1998)	

Internationales Abkürzungen PCT/EP 02 06964

WEITERE ANGABEN	PCT/ISA 210
Fortsetzung von Feld I.2	
Die geltenden Patentansprüche 29 bis 31 beziehen sich auf ein Produkt und seine Verwendung, wobei das Produkt durch seine Wirkung auf die Expression von Presenilin charakterisiert ist. Die Patentansprüche umfassen daher alle Produkte, die diese Eigenheit oder Eigenschaft aufweisen, wohingegen die Patentanmeldung Stütze durch die Beschreibung im Sinne von Art. 5 PCT nur für eine begrenzte Zahl solcher Produkte etc. liefert. Im vorliegenden Fall fehlen den Patentansprüchen die entsprechende Stütze bzw. der Patentanmeldung die nötige Offenbarung in einem solchen Maße, daß eine sinnvolle Recherche über den gesamten erstrebten Schutzbereich unmöglich erscheint. Desungsachtet fehlt den Patentansprüchen auch die in Art. 6 PCT geforderte Klarheit, nachdem in ihnen versucht wird, das Produkt über das jeweils erstrebte Ergebnis zu definieren. Auch dieser Mangel an Klarheit ist dergestalt, daß er eine sinnvolle Recherche über den gesamten erstrebten Schutzbereich unmöglich macht. Daher wurde die Recherche auf die Teile der Patentansprüche gerichtet, welche im o.a. Sinne als klar, gestützt oder offenbart erscheinen, nämlich die Teile betreffend SES-3, KIAA0601, ALT1 und T08D10.2. Der Anmelder wird darauf hingewiesen, daß Patentansprüche, oder Teile von Patentansprüchen, auf Erfindungen, für die kein internationaler Recherchenbericht erstellt wurde, normalerweise nicht Gegenstand einer internationalen vorläufigen Prüfung sein können (Regel 66.1(e) PCT). In seiner Eigenschaft als mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde wird das EPA also in der Regel keine vorläufige Prüfung für Gegenstände durchführen, zu denen keine Recherche vorliegt. Dies gilt auch für den Fall, daß die Patentansprüche nach Erhalt des internationalen Recherchenberichtes geändert wurden (Art. 19 PCT), oder für den Fall, daß der Anmelder im Zuge des Verfahrens gemäß Kapitel II PCT neue Patentansprüche vorlegt.	

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT			Internationales Abkürzungen	
Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören			PCT/EP 02/06964	
Im Recherchenbericht angeführtes Patentsymbol	Datum der Veröffentlichung	Mitglieder der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung	
WO 9711956	A	03-04-1997	AU 728251 B2	04-01-2001
			AU 7251496 A	17-04-1997
			CA 2233297 A1	03-04-1997
			EP 0854881 A1	29-07-1998
			JP 11512611 T	02-11-1999
			WO 9711956 A1	03-04-1997

Formblatt PCTISA4212 (4.0) vom 1. Juli 1999

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 P 25/28	A 6 1 P 25/28	4 H 0 4 5
C 0 7 K 14/435	C 0 7 K 14/435	
C 0 7 K 16/18	C 0 7 K 16/18	
G 0 1 N 33/15	G 0 1 N 33/15	Z
G 0 1 N 33/50	G 0 1 N 33/50	Z
// C 1 2 P 21/08	C 1 2 P 21/08	

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT, BE,CH,CY,DE,DK,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN, TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,ES,FI,GB,GD,GE, GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NO,NZ,OM,PH,P L,PT,RO,RU,SD,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VN,YU,ZA,ZM,ZW

(72)発明者 ラールフ・バウマイスター
ドイツ連邦共和国 8 2 1 9 4 グレーベンツェル. フライラントシュトラッセ 4 4 a

(72)発明者 ベルナルト・ラコウスキ
ドイツ連邦共和国 8 1 3 7 5 ミュンヘン. コルンヴェーガーシュトラッセ 6 0

(72)発明者 シュテファン・アイマー
ドイツ連邦共和国 8 1 3 7 5 ミュンヘン. シュタールエックプラッツ 1 a

Fターム(参考) 2G045 AA29 AA40 CB17 DA13 FB05
4B024 AA01 AA11 BA43 BA80 CA04 CA12 DA02 EA03 EA04 EA06
FA02 GA11 HA01
4B064 AG27 DA01 DA13
4C084 AA02 AA07 AA13 AA17 BA35 CA11 CA51 CA53 NA14 ZA152
ZA162
4C086 AA01 AA02 AA03 EA16 EA18 GA17 NA14 ZA15 ZA16
4H045 AA10 AA11 AA20 BA10 CA50 EA21 EA50 FA74