(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2005-537010
(P2005-537010A)
(43)公表日　平成17年12月8日(2005.12.8)

(51)Int.Cl.[7]	F I		テーマコード（参考）
C12Q 1/68	C12Q 1/68	A	4B024
C12N 15/09	C12N 15/00	ZNAA	4B063
	C12N 15/00	A	

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 58 頁）

(21)出願番号	特願2004-532878 (P2004-532878)
(86)(22)出願日	平成15年8月26日 (2003.8.26)
(85)翻訳文提出日	平成17年2月28日 (2005.2.28)
(86)国際出願番号	PCT/US2003/024799
(87)国際公開番号	WO2004/020580
(87)国際公開日	平成16年3月11日 (2004.3.11)
(31)優先権主張番号	60/406,432
(32)優先日	平成14年8月28日 (2002.8.28)
(33)優先権主張国	米国 (US)
(31)優先権主張番号	10/230,007
(32)優先日	平成14年8月28日 (2002.8.28)
(33)優先権主張国	米国 (US)

(71)出願人　504396379
ファルマシア・アンド・アップジョン・カンパニー・エルエルシー
アメリカ合衆国ミシガン州４９００７，カラマズー，ヘンリエッタ・ストリート　３０１
(74)代理人　100099759
弁理士　青木　篤
(74)代理人　100077517
弁理士　石田　敬
(74)代理人　100087871
弁理士　福本　積
(74)代理人　100087413
弁理士　古賀　哲次

最終頁に続く

(54)【発明の名称】精神分裂症の一塩基多型診断

(57)【要約】
本発明は、多型位置を含むヒトＧ蛋白結合受容体Ｓｅｑ－４０遺伝子の核酸断片を提供する。アレル特異的プライマー、及び当該位置の近傍領域にハイブリダイズするプローブも提供する。本発明は、精神分裂症を発症する遺伝的危険度を決定する方法又は精神分裂症を診断する方法も提供する。

【特許請求の範囲】
【請求項１】
単一の染色体上の、配列番号１の位置：
（１）６０１及び２１０６、
（２）１９４及び２１０６、
（３）１９４及び６０１、
（４）１０３８及び２１０６、
（５）６０１、１０３８及び２１０６、
（６）６０１、１０３８及び２１８５、
（７）１９４、１０３８及び２１０６、
（８）１９４、６０１及び１０３８、
（９）１９４、１０３８及び２１８５、
（１０）６０１、１０３８及び２３５９、
（１１）１９４、６０１及び２１０６、
（１２）１９４、６０１及び１０３８、
（１３）６０１、２１０６及び２３５９、
（１４）６０１、２１０６及び２１８５、
（１５）６０１、１０３８及び２１０６、
（１６）６０１、１０３８及び２３５９、
（１７）１９４、６０１及び２１０６、
（１８）６０１、１０３８、２１０６及び２１８５、
（１９）１９４、６０１、１０３８及び２１０６、
（２０）１９４、１０３８、２１０６及び２１８５、
（２１）１９４、６０１、１０３８及び２１８５、
（２２）６０１、１０３８、２１８５及び２３５９、
（２３）６０１、１０３８、２１０６及び２３５９、
（２４）１９４、１０３８、２１８５及び２３５９、並びに
（２５）１９４、６０１、１０３８及び２３５９
にある多型部位からなる群より選ばれる２以上のＳｅｑ－４０多型部位を占めるヌクレオチドに対応する核酸由来のヌクレオチドを測定することを含む、診断又は予知の目的のための個体のハプロタイプ決定方法。
【請求項２】
前記決定が、配列番号１の位置６０１のヌクレオチド又はその断片、及び配列番号１の位置２１０６のヌクレオチド又はその断片の同一性を測定することを含む、請求項１記載の方法。
【請求項３】
前記決定が、配列番号１の位置１９４のヌクレオチド又はその断片、及び配列番号１の位置２１０６のヌクレオチド又はその断片の同一性を測定することを含む、請求項１記載の方法。
【請求項４】
前記決定が、配列番号１の位置１９４のヌクレオチド又はその断片、及び配列番号１の位置６０１のヌクレオチド又はその断片の同一性を測定することを含む、請求項１記載の方法。
【請求項５】
前記決定が、配列番号１の位置１０３８のヌクレオチド又はその断片、及び配列番号１の位置２１０６のヌクレオチド又はその断片の同一性を測定することを含む、請求項１記載の方法。
【請求項６】
前記決定が、配列番号１の位置６０１のヌクレオチド又はその断片、配列番号１の位置２１０６のヌクレオチド又はその断片、及び配列番号１の位置２１０６又はその断片の同

一性を測定することを含む、請求項１記載の方法。
【請求項７】
前記決定が、配列番号１の位置６０１のヌクレオチド又はその断片、配列番号１の位置１０３８のヌクレオチド又はその断片、及び配列番号１の位置２１８５又はその断片の同一性を測定することを含む、請求項１記載の方法。
【請求項８】
前記決定が、配列番号１の位置１９４のヌクレオチド又はその断片、配列番号１の位置１０３８のヌクレオチド又はその断片、及び配列番号１の位置２１０６又はその断片の同一性を測定することを含む、請求項１記載の方法。
【請求項９】
前記決定が、配列番号１の位置１９４のヌクレオチド又はその断片、配列番号１の位置６０１のヌクレオチド又はその断片、及び配列番号１の位置１０３８又はその断片の同一性を測定することを含む、請求項１記載の方法。
【請求項１０】
前記決定が、配列番号１の位置１９４のヌクレオチド又はその断片、配列番号１の位置１０３８のヌクレオチド又はその断片、及び配列番号１の位置２１８５又はその断片の同一性を測定することを含む、請求項１記載の方法。
【請求項１１】
前記決定が、配列番号１の位置６０１のヌクレオチド又はその断片、配列番号１の位置１０３８のヌクレオチド又はその断片、及び配列番号１の位置２３５９又はその断片の同一性を側定することを含む、請求項１記載の方法。
【請求項１２】
前記決定が、配列番号１の位置１９４のヌクレオチド又はその断片、配列番号１の位置６０１のヌクレオチド又はその断片、及び配列番号１の位置２１０６又はその断片の同一性を測定することを含む、請求項１記載の方法。
【請求項１３】
前記決定が、配列番号１の位置１９４のヌクレオチド又はその断片、配列番号１の位置６０１のヌクレオチド又はその断片、及び配列番号１の位置１０３８又はその断片の同一性を測定することを含む、請求項１記載の方法。
【請求項１４】
前記決定が、配列番号１の位置６０１のヌクレオチド又はその断片、配列番号１の位置２１０６のヌクレオチド又はその断片、及び配列番号１の位置２３５９又はその断片の同一性測定することを含む、請求項１記載の方法。
【請求項１５】
前記決定が、配列番号１の位置６０１のヌクレオチド又はその断片、配列番号１の位置２１０６のヌクレオチド又はその断片、及び配列番号１の位置２１８５又はその断片の同一性を測定することを含む、請求項１記載の方法。
【請求項１６】
前記決定が、配列番号１の位置６０１のヌクレオチド又はその断片、配列番号１の位置１０３８のヌクレオチド又はその断片、及び配列番号１の位置２１０６又はその断片の同一性を測定することを含む、請求項１記載の方法。
【請求項１７】
前記決定が、配列番号１の位置６０１のヌクレオチド又はその断片、配列番号１の位置１０３８のヌクレオチド又はその断片、及び配列番号１の位置２３５９又はその断片の同一性を測定することを含む、請求項１記載の方法。
【請求項１８】
前記決定が、配列番号１の位置１９４のヌクレオチド又はその断片、配列番号１の位置６０１のヌクレオチド又はその断片、及び配列番号１の位置２１０６又はその断片の同一性を測定することを含む、請求項１記載の方法。
【請求項１９】

前記決定が、配列番号１の位置６０１のヌクレオチド又はその断片、配列番号１の位置１０３８のヌクレオチド又はその断片、配列番号１の位置２１０６又はその断片、及び配列番号１の位置２１８５又はその断片の同一性を測定することを含む、請求項１記載の方法。

【請求項２０】

前記決定が、配列番号１の位置１９４のヌクレオチド又はその断片、配列番号１の位置６０１のヌクレオチド又はその断片、配列番号１の位置１０３８又はその断片、及び配列番号１の位置２１０６又はその断片の同一性を測定することを含む、請求項１記載の方法。

【請求項２１】

前記決定が、配列番号１の位置１９４のヌクレオチド又はその断片、配列番号１の位置１０３８のヌクレオチド又はその断片、配列番号１の位置２１０６又はその断片、及び配列番号１の位置２１８５又はその断片の同一性を測定することを含む、請求項１記載の方法。

【請求項２２】

前記決定が、配列番号１の位置１９４のヌクレオチド又はその断片、配列番号１の位置６０１のヌクレオチド又はその断片、配列番号１の位置１０３８又はその断片、及び配列番号１の位置２１８５又はその断片の同一性を測定することを含む、請求項１記載の方法。

【請求項２３】

前記決定が、配列番号１の位置６０１のヌクレオチド又はその断片、配列番号１の位置１０３８のヌクレオチド又はその断片、配列番号１の位置２１８５又はその断片、及び配列番号１の位置２３５９又はその断片の同一性を測定することを含む、請求項１記載の方法。

【請求項２４】

前記決定が、配列番号１の位置６０１のヌクレオチド又はその断片、配列番号１の位置１０３８のヌクレオチド又はその断片、配列番号１の位置２１０６又はその断片、及び配列番号１の位置２３５９又はその断片の同一性を測定することを含む、請求項１記載の方法。

【請求項２５】

前記決定が、配列番号１の位置１９４のヌクレオチド又はその断片、配列番号１の位置１０３８のヌクレオチド又はその断片、配列番号１の位置２１８５又はその断片、及び配列番号１の位置２３５９又はその断片の同一性を測定することを含む、請求項１記載の方法。

【請求項２６】

前記決定が、配列番号１の位置１９４のヌクレオチド又はその断片、配列番号１の位置６０１のヌクレオチド又はその断片、配列番号１の位置１０３８又はその断片、及び配列番号１の位置２３５９又はその断片の同一性を測定することを含む、請求項１記載の方法。

【請求項２７】

前記決定が前記ＤＮＡの増幅を含む、請求項１記載の方法。

【請求項２８】

前記決定が特定のアレルのｍｕｌｔｉｐｌｅ　ＰＣＲ増幅を含む、請求項１記載の方法。

【請求項２９】

単一の染色体上の、配列番号１の位置：

（１）６０１及び１０３８、

（２）１９４及び１０３８、

（３）６０１及び２１０６、

（４）１９４及び２１０６、

（５）１９４及び６０１、
（６）１０３８及び２１０６、
（７）６０１、１０３８及び２１０６、
（８）６０１、１０３８及び２１８５、
（９）１９４、１０３８及び２１０６、
（１０）１９４、６０１及び１０３８、
（１１）１９４、１０３８及び２１８５、
（１２）６０１、１０３８及び２３５９、
（１３）１９４、６０１及び２１０６、
（１４）１９４、６０１及び１０３８、
（１５）６０１、２１０６及び２３５９、
（１６）６０１、２１０６及び２１８５、
（１７）６０１、１０３８及び２１０６、
（１８）６０１、１０３８及び２３５９、
（１９）１９４、６０１及び２１０６、
（２０）６０１、１０３８、２１０６及び２１８５、
（２１）１９４、６０１、１０３８及び２１０６、
（２２）１９４、１０３８、２１０６及び２１８５、
（２３）１９４、６０１、１０３８及び２１８５、
（２４）６０１、１０３８、２１８５及び２３５９、
（２５）６０１、１０３８、２１０６及び２３５９
（２６）１９４、１０３８、２１８５及び２３５９、並びに
（２７）１９４、６０１、１０３８及び２３５９
に１以上のＳｅｑ－４０多型部位を占めるヌクレオチドに対応する患者から得られた核酸由来のヌクレオチドを測定し、次いで
当該患者が精神分裂病を発症する傾向があるか否かを評価する、
ことを含む、当該患者における精神分裂症の発症傾向の評価方法。

【請求項３０】
配列番号１の位置６０１の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＧであり、かつ配列番号１の位置１０３８の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＣであるならば、前記評価ステップが、前記患者は精神分裂症を発症する傾向を有すると決定することを含む、請求項２９記載の方法。

【請求項３１】
配列番号１の位置１９４の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＡであり、かつ配列番号１の位置１０３８の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＣであるならば、前記評価ステップが、前記患者は精神分裂症を発症する傾向を有すると決定することを含む、請求項２９記載の方法。

【請求項３２】
配列番号１の位置６０１の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＧであり、かつ配列番号１の位置２１０６の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＧであるならば、前記評価ステップが、前記患者は精神分裂症を発症する傾向を有すると決定することを含む、請求項２９記載の方法。

【請求項３３】
配列番号１の位置１９４の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＡであり、かつ配列番号１の位置２１０６の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＧであるならば、前記評価ステップが、前記患者は精神分裂症を発症する傾向を有すると決定することを含む、請求項２９記載の方法。

【請求項３４】
配列番号１の位置１９４の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＧであり、かつ配列番号１の位置６０１の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定が

Ｇであるならば、前記評価ステップが、前記患者は精神分裂症を発症する傾向を有すると決定することを含む、請求項２９記載の方法。

【請求項３５】

配列番号１の位置１０３８の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＧであり、かつ配列番号１の位置２１０６の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＡであるならば、前記評価ステップが、前記患者は精神分裂症を発症する傾向を有すると決定することを含む、請求項２９記載の方法。

【請求項３６】

配列番号１の位置６０１の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＧであり、配列番号１の位置１０３８の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＣであり、かつ配列番号１の位置２１０６の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＧであるならば、前記評価ステップが、前記患者は精神分裂症を発症する傾向を有すると決定することを含む、請求項２９記載の方法。

【請求項３７】

配列番号１の位置６０１の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＧであり、配列番号１の位置１０３８の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＣであり、かつ配列番号１の位置２１８５の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＧであるならば、前記評価ステップが、前記患者は精神分裂症を発症する傾向を有すると決定することを含む、請求項２９記載の方法。

【請求項３８】

配列番号１の位置１９４の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＡであり、配列番号１の位置１０３８の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＣであり、かつ配列番号１の位置２１０６の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＧであるならば、前記評価ステップが、前記患者は精神分裂症を発症する傾向を有すると決定することを含む、請求項２９記載の方法。

【請求項３９】

配列番号１の位置１９４の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＡであり、配列番号１の位置６０１の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＧであり、かつ配列番号１の位置１０３８の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＣであるならば、前記評価ステップが、前記患者は精神分裂症を発症する傾向を有すると決定することを含む、請求項２９記載の方法。

【請求項４０】

配列番号１の位置１９４の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＡであり、配列番号１の位置１０３８の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＣ又はＧであり、かつ配列番号１の位置２１８５の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＧ又はＡであるならば、前記評価ステップが、前記患者は精神分裂症を発症する傾向を有すると決定することを含む、請求項２９記載の方法。

【請求項４１】

配列番号１の位置６０１の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＧであり、配列番号１の位置１０３８の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＣであり、かつ配列番号１の位置２３５９の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＧであるならば、前記評価ステップが、前記患者は精神分裂症を発症する傾向を有すると決定することを含む、請求項２９記載の方法。

【請求項４２】

配列番号１の位置１９４の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＡであり、配列番号１の位置６０１の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＧであり、かつ配列番号１の位置２１０６の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＡであるならば、前記評価ステップが、前記患者は精神分裂症を発症する傾向を有すると決定することを含む、請求項２９記載の方法。

【請求項４３】

配列番号１の位置１９４の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＧであり、配列番号１の位置６０１の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＧであり、かつ配列番号１の位置１０３８の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＣであるならば、前記評価ステップが、前記患者は精神分裂症を発症する傾向を有すると決定することを含む、請求項２９記載の方法。

【請求項４４】

配列番号１の位置６０１の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＧであり、配列番号１の位置２１０６の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＧであり、かつ配列番号１の位置２３５９の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＧであるならば、前記評価ステップが、前記患者は精神分裂症を発症する傾向を有すると決定することを含む、請求項２９記載の方法。

【請求項４５】

配列番号１の位置６０１の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＧであり、配列番号１の位置２１０６の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＧであり、かつ配列番号１の位置２１８５の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＧであるならば、前記評価ステップが、前記患者は精神分裂症を発症する傾向を有すると決定することを含む、請求項２９記載の方法。

【請求項４６】

配列番号１の位置６０１の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＧであり、配列番号１の位置１０３８の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＡであり、かつ配列番号１の位置２１０６の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＡであるならば、前記評価ステップが、前記患者は精神分裂症を発症する傾向を有すると決定することを含む、請求項２９記載の方法。

【請求項４７】

配列番号１の位置６０１の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＧであり、配列番号１の位置１０３８の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＣであり、かつ配列番号１の位置２３５９の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＴであるならば、前記評価ステップが、前記患者は精神分裂症を発症する傾向を有すると決定することを含む、請求項２９記載の方法。

【請求項４８】

配列番号１の位置１９４の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＡであり、配列番号１の位置６０１の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＧであり、かつ配列番号１の位置２１０６の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＧであるならば、前記評価ステップが、前記患者は精神分裂症を発症する傾向を有すると決定することを含む、請求項２９記載の方法。

【請求項４９】

配列番号１の位置６０１の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＧであり、配列番号１の位置１０３８の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＣであり、かつ配列番号１の位置２１０６の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＧであるならば、前記評価ステップが、前記患者は精神分裂症を発症する傾向を有すると決定することを含む、請求項２９記載の方法。

【請求項５０】

配列番号１の位置１９４の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＡであり、配列番号１の位置６０１の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＧであり、配列番号１の位置１０３８の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＣであり、かつ配列番号１の位置２１０６の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＧであるならば、前記評価ステップが、前記患者は精神分裂症を発症する傾向を有すると決定することを含む、請求項２９記載の方法。

【請求項５１】

配列番号１の位置１９４の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＡであ

り、配列番号１の位置１０３８の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＣであり、配列番号１の位置２１０６の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＧであり、かつ配列番号１の位置２１８５の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＧであるならば、前記評価ステップが、前記患者は精神分裂症を発症する傾向を有すると決定することを含む、請求項２９記載の方法。

【請求項５２】

配列番号１の位置１９４の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＡであり、配列番号１の位置６０１の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＧであり、配列番号１の位置１０３８の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＣであり、かつ配列番号１の位置２１８５の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＧであるならば、前記評価ステップが、前記患者は精神分裂症を発症する傾向を有すると決定することを含む、請求項２９記載の方法。

【請求項５３】

配列番号１の位置６０１の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＧであり、配列番号１の位置１０３８の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＣであり、配列番号１の位置２１８５の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＧであり、かつ配列番号１の位置２３５９の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＴであるならば、前記評価ステップが、前記患者は精神分裂症を発症する傾向を有すると決定することを含む、請求項２９記載の方法。

【請求項５４】

配列番号１の位置６０１の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＧであり、配列番号１の位置１０３８の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＣであり、配列番号１の位置２１０６の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＧであり、かつ配列番号１の位置２３５９の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＧであるならば、前記評価ステップが、前記患者は精神分裂症を発症する傾向を有すると決定することを含む、請求項２９記載の方法。

【請求項５５】

配列番号１の位置１９４の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＡであり、配列番号１の位置１０３８の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＣであり、配列番号１の位置２１８５の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＧであり、かつ配列番号１の位置２３５９の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＴであるならば、前記評価ステップが、前記患者は精神分裂症を発症する傾向を有すると決定することを含む、請求項２９記載の方法。

【請求項５６】

配列番号１の位置１９４の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＡであり、配列番号１の位置６０１の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＧであり、配列番号１の位置１０３８の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＣであり、かつ配列番号１の位置２３５９の前記ヌクレオチド又はその断片についての前記同定がＧであるならば、前記評価ステップが、前記患者は精神分裂症を発症する傾向を有すると決定することを含む、請求項２９記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

本発明は、精神分裂症を発症する遺伝的危険度の決定方法又は精神分裂症の診断方法を提供する。

【背景技術】

【０００２】

一塩基多型

生物は全て、進化の過程で周期的な突然変異を経験し、親配列の異型を生じる（Gusella,Ann.Rev.Biochem.55,831-854(1986)）。この異型は、親型に比較して進化的な利点を与

えるものでもよいし、与えないものでもよい。異型は中性でもよい。異型は、致死的であり、生物の次世代に伝達されない場合もある。異型は、種に進化的な利点を与え、種の多くの又はほとんどのＤＮＡに最終的に取り込まれ、効率よく親型となる場合もある。親型及び異型のいずれも生存し、種群で共存する場合が多い。このような複数の型の配列の共存は、多型を生ずる。

【０００３】

種々の異なったタイプの多型が報告されている。制限酵素断片長多型（ＲＦＬＰ）は、Botstein et al., Am. J. Hum. Genet. 32, 314-331 (1980)によって記載されている制限酵素断片長を部分的に変えるＤＮＡ配列での変異を意味する。制限酵素断片長多型は、制限酵素認識部位を形成又は削除させ、制限酵素断片長を変化させている。ＲＦＬＰは、ヒト及び動物の遺伝子分析に幅広く使用されている（米国特許第５，５８６，１０４号、１９９９年１月５日；Chee,et al.,国際公開第９０／１３６６８号パンフレット；国際公開第９０／１１３６９号パンフレット；Donis-Keller, Cell 51, 319-337 (1987)；Lander et al., Genetics 121, 85-99 (1989)参照）。遺伝的形質が特定のＲＦＬＰに関連する場合、個体のＲＦＬＰの存在は、動物がそのような形質を示す可能性の予測に用いることができる。

【０００４】

他の多型は、縦列性のジー、トリー及びテトラヌクレオチドの反復調を含む短縦列反復（ＳＴＲ）型である。短縦列反復は、変数縦列反復（ＶＮＴＲ）多型とも言われる。ＶＮＴＲは、同定と起源分析（米国特許第５，０７５，２１７号；Armour et al., FEBS Lett. 307, 113-115 (1992)；Horn et al.,国際公開第９１／１４００３号；Jeffreys,欧州特許第３７０，７１９号）、及び多数の遺伝子マッピング研究に使用されてきた。

【０００５】

他の多型には、同種間で一塩基置換型をとるものがある。当該多型は、ＲＦＬＰ、ＳＴＲ及びＶＮＴＲよりもかなり頻繁に見られる。しかしながら、一塩基の置換は結果として制限酵素部位の形成や削除となり得るので、一塩基多型はＲＦＬＰにもなることを理解する必要がある。一塩基多型の中には、蛋白コード配列に生じるものがあり、この場合、多型の一つは、欠失蛋白質又は変異蛋白質を発現し、遺伝病を引き起こす可能性がある。コード配列内の多型が遺伝病を引き起こす遺伝子の例は、β－グロブリン（鎌状赤血球貧血）及びＣＦＴＲ（嚢胞性線維症）を含む。他の一塩基多型は非コード領域に生じる。当該多型の中には、欠陥蛋白質を発現するものもある（例えば、欠陥スプライシングの結果として）。他の一塩基多型は表現型効果を有さないが、表現型効果に遺伝的に関連している。

【０００６】

一塩基多型の頻度や同一性が大きくなればなる程、このことは、当該多型が、他の多型の場合よりも、対象とする遺伝子座に近い位置に見られる傾向が大きいことを意味する。また、特徴的な一塩基多型の異型は、他の多型タイプよりも容易に区別できる場合が多い（例えば、アレル特異的ハイブリダイゼーションプローブ又はプライマーを用いるアッセイの使用による）。精神分裂症等の、複数の遺伝子産物が疾患の分析に役立つような疾患において、ＳＮＰは研究手段として特に有望であり、価値ある診断手段でもある。

【０００７】

精神分裂症

精神分裂症は、人口の約１％を占め、患者やその家族の生活に深刻な分裂を招く重度の神経精神病学的疾患である。一般的な症状は、妄想、概念的混乱、視覚又は聴覚の幻覚及び感情言動の変化を含む。米国精神科協会（精神障害の診断的及び統計的マニュアル　第３版及び第４版）によるＤＳＭ分類を含み、症状の評価のための多数の指標や診断を確認する多数の方法が開発され、これらは臨床的診断の精度を高めている。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【０００８】

しかしながら、類似の症状は種々の内在的異常から起こり得るものであり、臨床的症状にのみ頼る診断は、主観的で、時間もコストもかかり、難しく賛否両論があると考えられる。従って、精神分裂症を発症する傾向を診断又は予知する新規な方法が強く求められている。

【課題を解決するための手段】

【０００９】

本発明は、一組の精神分裂症関連多型マーカーの発見に基いている。当該マーカーは、我々がＳｅｑ－４０として設計したＧ蛋白結合受容体（ＧＰＣＲ）の遺伝子の非コード領域及びコード領域に位置している。Ｓｅｑ－４０のコード領域及び関連する非コード領域を以下に示す。多型は太字で示す。

【００１０】

【表１】

```
   1  AGTAGGAATC AGATAGCGAG ATTGATTAAT AATAATACTT ATCACTCTTT
  51  ATAACTTGAA AAGCAAGTTC ACAAATGTCT CTAAAGTCAC AGCCCTGTAC
 101  TGGAAAGAGA GTTGAACCCT TCTTCAGGAA GACAATAATA TAATAATAAC
 151  AATATTTTCT TCACTCTGCA GTGTCTTTAC ATTCCAGGGT TGGG/AAACATT
 201  ACTGAGGATT CTCTTCCCAT TTTCCAGTTT CCTGTTCATT ATTCTTATTT
 251  TTTTGACTGC TTTTAGCATC GGGAGCACAA AGGCCAGTCA CCAGGAATTG
 301  CAAACAAATG CGTAGTCAGA GAGAGAGGGC TCACTGCCCA TTTGTCATGT
 351  GGATGCAGAC ACATTGCAGA TGTGTTCCCA GTAACAATGT CTTGAGAAGA
 401  GGACTGGTCT TTCCACCAGC ATCTCAGAAA TGCCGGTGTG TCTAAACAGC
 451  ATGTCGTTCT TTAATGCTTT CATGCAATAT ATTTTATCAA TCTCAAGTTC
 501  CCCTCACTAT GTATTATAAT AATTTCTGCT TGTTGGTAAC CAATGCAGAT
 551  GGAAAATTGA TTCTTAACAG AAGAGAAAGA GCCAAGTATT GATGCTTACT
 601  A/GTTTACACCC TATTGTATCT TTGTAACAAA AACCCGGGTG GCTAAGTTAT
 651  GATTGGGAAC AAGGGAATGG TTCAAGTCTA TGCACTAAGG AAAAACAAAT
 701  CTTTGGCCTA AAACAATAAT GATAATAGAA TTTAATATAG AGTAGAGACC
 751  TGTTTTGTAG AATAACTTTC CTAGTAATCA CTGTTGAAAA TAATCATACT
 801  AGTTCACACC GCGCACTACA GGGATTCCAT CGAGGGATTT TCCCATTGAA
 851  GGCATTTATT TAGCTAAAAG GACTTCATCT TTAAGGCGGT AATGCAGGAC
 901  AGATAACAGA GATAAAGATA ACAGGAGGTG ATCTTTCAGC TCCATAATTA
 951  CATTCCATAT CAGCGACTGT TGCACAGAGA AACTCAAAAG GTAAAAATAA
1001  AATATGAAAG GATATTTAAA ATCAAAAGG/AA ATTTTATC/GAAATTAAGAGCA
1051  TGAGACATTT ATCAGTTGAA ACAA/CTCTCCA ATAATCTTGT GCAATATAAT
1101  TTTTGTCAAA TTTTATTTTG TCATAAACAT TTGGGATTTA TAATAAAAAT
1151  GGAAACTTGA AAAATTATAT TAGAGATAAT ATCTGATCAT TTCCTCTGGC
```

【００１１】

【表２】

```
1201 ATCCTGGTGA ATATGTGTTT TTTTCCGCAG GAGCACTGAA AATCAGGAAC
1251 AATCCTGTAT TTTTTGTGAT AATCAACAAG GACAAAACTT CTCCATATGT

                    M  S  S   N  S  S   L  L  V   A  V  Q  L
1301  AAATAACAGC GTTATGAGCA GCAATTCATC CCTGCTGGTG GCTGTGCAGC

       C  Y  A   N  V  N   G  S  C  V   K  I  P   F  S  P
1351  TGTGCTACGC GAACGTGAAT GGGTCCTGTG TGAAAATCCC CTTCTCGCCG
                                                  TM1
      G  S  R  V   I  L  Y   I  V  F   G  F  G   A  V  L  A
1401  GGATCCCGGG TGATTCTGTA CATAGTGTTT GGCTTTGGGG CTGTGCTGGC

      V  F  G  N   L  L  V   M  I  S   I  L  H   F  K  Q  L
1451  TGTGTTTGGA AACCTCCTGG TGATGATTTC AATCCTCCAT TTCAAGCAGC

       H  S  P   T  N  F   L  V  A  S   L  A  C   A  D  F
1501  TGCACTCTCC GACCAATTTT CTCGTTGCCT CTCTGGCCTG CGCTGATTTC
                          TM2
      L  V  G  V   T  V  M   P  F  S   M  V  R   T  V  E  S
1551  TTGGTGGGTG TGACTGTGAT GCCCTTCAGC ATGGTCAGGA CGGTGGAGAG

       C  W  Y   F  G  R  S   F  C  T   F  H  T   C  C  D  V
1601  CTGCTGGTAT TTTGGGAGGA GTTTTTGTAC TTTCCACACC TGCTGTGATG
                                          TM3
      A  F  C   Y  S  S  L   F  H  L   C  F  I   S  I  D
1651  TGGCATTTTG TTACTCTTCT CTCTTTCACT TGTGCTTCAT CTCCATCGAC

      R  Y  I   A  V  T  D   P  L  V   Y  P  T   K  F  T  V
1701  AGGTACATTG CGGTTACTGA CCCCCTGGTC TATCCTACCA AGTTCACCGT
                                    TM4
      S  V  S   G  I  C  I   S  V  S   W  I  L   P  L  M  Y
1751  ATCTGTGTCA GGAATTTGCA TCAGCGTGTC CTGGATCCTG CCCCTCATGT

       S  G  A   V  F  Y   T  G  V  Y   D  D  G   L  E  E
1801  ACAGCGGTGC TGTGTTCTAC ACAGGTGTCT ATGACGATGG GCTGGAGGAA

      L  S  D  A   L  N  C   I  G  G   C  Q  T  V   V  N  Q
1851  TTATCTGATG CCCTAAACTG TATAGGAGGT TGTCAGACCG TTGTAAATCA
                                                TM5
      N  W  V  L   T  D  F   L  S  F   F  I  P   T  F  I  M
1901  AAACTGGGTG TTGACAGATT TTCTATCCTT CTTTATACCT ACCTTTATTA

       I  I  L  Y   G  N  I   F  L  V   A  R  R   Q  A  K
1951  TGATAATTCT GTATGGTAAC ATATTTCTTG TGGCTAGACG ACAGGCGAAA

      K  I  E  N   T  G  S   K  T  E   S  S  S   E  S  Y  K
2001  AAGATAGAAA ATACTGGTAG CAAGACAGAA TCATCCTCAG AGAGTTACAA

       A  R  V   A  R  R  E   R  K  A   A  K  T   L  G  V  T
2051  AGCCAGAGTG GCCAGGAGAG AGAGAAAAGC AGCTAAAACC CTGGGGGTCA
          (I)                 TM6
      V  V  A   F  M  I  S   W  L  P   Y  S  I   D  S  L
2101  CAGTGG/ATAGC ATTTATGATT TCATGGTTAC CATATAGCAT TGATTCATTA
                                          (Y)
      I  D  A  F   M  G  F   I  T  P   A  C  I   Y  E  I  C
2151  ATTGATGCCT TTATGGGCTT TATAACCCCT GCCTG/ATATTT ATGAGATTTG
                                          TM7
      C  W  C   A  Y  Y  N   S  A  M   N  P  L   I  Y  A  L
2201  CTGTTGGTGT GCTTATTATA ACTCAGCCAT GAATCCTTTG ATTTATGCTT

        F  Y  P   W  F  R   K  A  I  K   V  I  V   T  G  Q
2251  TATTTTACCC ATGGTTTAGG AAAGCAATAA AAGTTATTGT AACTGGTCAG

      V  L  K  N   S  S  A   T  M  N   L  F  S   E  H  I  *
2301  GTTTTAAAGA ACAGTTCAGC AACCATGAAT TTGTTTTCTG AACATATATA
2351  AGCAGTTGT/GA TAGACGAAGT TCAGGATACC TTTAAAATTA CCAAGCGAAA
2401  TGAGTTTTTA AAAATCAAGT AAGACTATGA ATGAATAGCA AATAAATTGC
```

【００１２】

【表３】

```
2451  TCTTCAAATG AAAAACAAAT CAATGTTTTT CAGTCTTGTT AAGATGTGCA
2501  CTTTCCTGTC CCTTCTGCAA AAGTATTTAC TTGGCTAACA AATGTTAAAT
2551  TCCTATTTGT TAACTGCTTT AGAGCTCAGC ATATCCCACT CCCTGCAGAC
2601  ACTTTTTGTC TTTTAATCCA TTGACTCTTC CCTCTGCTCT GGTATTTTTC
2651  CTAAAAATAT TTC/GTGTTTTT TTTTTTTTTA TTTATTCCCT TTCCTCTTTT
2701  CTTTACAAAG CTTTCTACTC TTTCCCAGCC TGCCAAAAAT TTCATTTGTG
2751  AATAGCCTTT ATCAAATTAT TGGTTTCTTT TGCTTTGGTT ATTTTA/GCCAC
2801  AGGAGTCCTT TTAGGTATTA ATTTAATTTA TTCAATCTTG GGAGAGATCT
2851  CAGGGTGTAT GGGGCAATTT GCAAATGAAG ACATCATCTT GACCAGGCTG
2901  TTGTAATTGT CAAACCAGTT ACTGTCATTC TTGTAATTAT TTCCTCCCCC
2951  AAAGTGGGAA GCAGAAGCCA CTGTACTTCC CAGAATGATG TTAGGATGAT
3001  TATTTGGCTG CTGTTCTTGC TATTGCACAA AACTGTTTAA AGAGTTGGTA
3051  TGAATAGAGC CCTGTGTTAC ATTATTCAGT   3080
```

【００１３】

上記配列は、２０００年１１月１６日に出願の米国特許出願第０９／７１４４４９号で国際公開第０１３６４７３号パンフレットとして報告されているＯＲＦ予測を含む。交互にスプライス置換が存在していることが理解できよう。当該配列は、更に近傍の配列を含む。

【００１４】

本発明の１つの具体例は、配列番号１の１２～２００までの連続ヌクレオチドを含む、当該ヌクレオチドからなる又は当該ヌクレオチドから本質的になる単離ポリヌクレオチド、あるいは位置１９４、６０１、１０２９、１０３８、１０７４、２１０６、２１８５、２３５９、２６６３及び２７９６の多型部位からなる群より選ばれる少なくとも一つのＳｅｑ－４０多型部位を含む相補鎖を包含する。以下の「１２～２００の連続」の語を使用する場合の定義は、整数１２～２００のヌクレオチド長の各ポリヌクレオチド又は全てのポリヌクレオチドを含む意である。

【００１５】

本発明は、ヌクレオチド位置１９４がヌクレオチドＧ又はＡの群より選ばれる、配列番号１の１２～２００の連続ヌクレオチドからなる単離ポリヌクレオチドを提供する。

本発明は、ヌクレオチド位置６０１がヌクレオチドＡ又はＧの群より選ばれる、配列番号１の１２～２００の連続ヌクレオチドからなる単離ポリヌクレオチドを提供する。

本発明は、ヌクレオチド位置１０２９がヌクレオチドＧ又はＡの群より選ばれる、配列番号１の１２～２００の連続ヌクレオチドからなる単離ポリヌクレオチドを提供する。

本発明は、ヌクレオチド位置１０３８がヌクレオチドＣ又はＧの群より選ばれる、配列番号１の１２～２００の連続ヌクレオチドからなる単離ポリヌクレオチドを提供する。

本発明は、ヌクレオチド位置１０７４がヌクレオチドＡ又はＣの群より選ばれる、配列番号１の１２～２００の連続ヌクレオチドからなる単離ポリヌクレオチドを提供する。

本発明は、ヌクレオチド位置２１０６がヌクレオチドＧ又はＡの群より選ばれる、配列番号１の１２～２００の連続ヌクレオチドからなる単離ポリヌクレオチドを提供する。

本発明は、ヌクレオチド位置２１８５がヌクレオチドＧ又はＡの群より選ばれる、配列番号１の１２～２００の連続ヌクレオチドからなる単離ポリヌクレオチドを提供する。

本発明は、ヌクレオチド位置２３５９がヌクレオチドＴ又はＧの群より選ばれる、配列番号１の１２～２００の連続ヌクレオチドからなる単離ポリヌクレオチドを提供する。

本発明は、ヌクレオチド位置２６６３がヌクレオチドＣ又はＧの群より選ばれる、配列番号１の１２～２００の連続ヌクレオチドからなる単離ポリヌクレオチドを提供する。

本発明は、ヌクレオチド位置２７６９がヌクレオチドＡ又はＧの群より選ばれる、配列番号１の１２～２００の連続ヌクレオチドからなる単離ポリヌクレオチドを提供する。

【００１６】

これらの断片の相補鎖も含まれる。断片はＤＮＡでもＲＮＡでもよく、二本鎖でも一本

鎖でもよい。断片の中には、１０～２０又は１０～５０塩基長のものもある。
【００１７】
本発明は更に、配列番号１で示した配列又はその相補鎖にハイブリダイズするアレルに特異的なオリゴヌクレオチドを提供する。当該オリゴヌクレオチドはプローブでもプライマーでもよい。
【００１８】
本発明は更に、ヒト由来の核酸を分析する方法を提供する。当該方法は、いずれのヌクレオチドがＳｅｑ－４０すなわち「Ｓｅｑ－４０多型」又は「Ｓｅｑ－４０多型部位」内に含まれる多型部位に存在するかを測定する。場合により、配列番号１内の各多型部位の塩基は１つの反応と同時に測定される。このようなタイプの分析は、疾患の表現型の存在を試験した多数の個体について実施できる。その後、疾患の表現型の存在もしくは不存在又は病状の進行予測は、試験した個体の多型部位に存在する塩基又は一組の塩基と関連付けられる。あるいは、当該測定ステップは、一つの染色体上のＳｅｑ－４０多型部位を同定する方法で行われる。
【００１９】
本発明は更に、精神分裂症の診断方法、あるいは位置１９４、６０１、１０２９、１０３８、１０７４、２１０６、２１８５、２３５９、２６６３及び２７９６の１以上のヌクレオチドを含む核酸を含有する患者由来の試料を入手して、患者のＳｅｑ－４０ハプロタイプの存在もしくは不存在を測定することによって精神分裂症を発症する傾向を決定する方法、並びにＳｅｑ－４０ハプロタイプを決定する方法を提供する。
【発明の効果】
【００２０】
本発明は、精神分裂症の診断及び精神分裂症を発症する傾向の予測に好適なヒトＧ蛋白結合受容体Ｓｅｑ－４０遺伝子配列に由来するポリヌクレオチド断片の最初の記述を含む。本発明は更に診断方法及び予知方法を含む。
【発明を実施するための最良の形態】
【００２１】
＜定義＞
「アレル」の語は、ここではヌクレオチド配列の変異体を言う。「精神分裂症に作用する薬剤」は、１以上の精神分裂症を扱い、軽減し又は緩和する技術分野で知られたいずれのかの薬物又は化合物を含む。「精神分裂症に作用する薬剤」は、当該分野で知られた精神分裂症に含まれる酵素もしくは調節分子の活性又は濃度を調節する薬物あるいは化合物を含む。精神分裂症に作用する薬剤は、ソラジン、メラリル、モデケート、プロリキシン、ナヴァン、ステラジン、ハルドール、リスペリドン（リスペリダール）、クロザピン（クロザリル）、オランザピン（ジィプレクサ）及びクィチアピン（セロクィル）を含むが、これらに限定されない。
【００２２】
「精神分裂症に作用する薬剤への反応」の語は、薬効を言い、化合物を代謝する能力、プロドラッグを活性薬物に変換する能力、個体での薬物の薬物動力学的能力（吸収、分配、除去）と薬物の薬力学的能力（受容体関連）に限定されない。「精神分裂症に作用する薬剤の副作用」の語は、薬物の主な薬理作用の拡張の結果得られる反対の治療効果、あるいは薬物と特定のホスト因子との相互作用から得られる特異な反対の作用を言う。「精神分裂症に作用する薬物の副作用」は、起立性低血圧、視力障害、口渇、鼻詰まり、便秘等の自立神経系副作用を含むが、これらに限定されない。「精神分裂症に作用する薬物の副作用」はまた、不安、睡眠障害、性交機能障害、胃腸障害、吐気、下痢、起立、（orthostasis）目眩、鎮静、高血圧、ショック、無運動（遅運動）、静座不能（下肢静止不能）及び遅発性ジスキネジー（永続的な回復不能な運動障害）を含む。
【００２３】
「相補的」又は「その相補鎖」の語は、ここでは、相補的領域の全体を通じて、他の特定のポリヌクレオチドとワトソン・クリック塩基対を形成することができるポリヌクレオ

チド配列を言うのに用いる。当該語は、単にポリヌクレオチドの配列からポリヌクレオチド塩基対について用い、２つのポリヌクレオチドが実際に結合するかという特定の条件群には用いない。

【００２４】

ここで使用する「遺伝子型」の語は、ここでは、個体又は試料中に存在するアレルの同定を言う。本発明の文脈中、遺伝子型は、好ましくは個体又は試料中に存在する多型アレルの説明を言う。多型マーカーに関する試料又は個体を「遺伝子型を特定する」の語は、多型マーカーにおいて、個体が有する特定のアレル又は特定のヌクレオチドを測定することを含む。

【００２５】

「異種接合体率」の語は、ここでは、集団中の個体の発生率であって、特定のアレルにおける異種接合性を言うのに用いる。多型では、異種接合体率は、平均して２Ｐａ（１－Ｐａ）に匹敵する。ここで、Ｐａは、少なくとも一般的なアレル頻度である。遺伝子研究において有用であるためには、遺伝子マーカーは、無作為に選ばれたヒトが異種接合性であるという合理的な可能性を満足できるに充分な程度の異種接合体を有している必要がある。

【００２６】

ここで用いる「突然変異」の語は、１％以下の頻度を有する種々のゲノム間又は個体間あるいはゲノム内又は個体間内のＤＮＡ配列の差を言う。

【００２７】

「ハプロタイプ」の語は、一つの染色体上にあるアレルの実際の組合せを言う。本発明の文脈中、ハプロタイプは、好ましくは特定の個体に見られ、表現型と関連してもよい多型の組合せを言う。

【００２８】

ここで使用する「多型」とは、２以上の対立（alternative）ゲノム配列の存在、あるいは種々のゲノム間もしくは個体間又はゲノム内もしくは個体間内のアレルの存在を言う。「多型的」とは、集団中に、特定のゲノム配列について２以上の変異体が見られる状態を言う。「多型部位」とは、変異が起こる座位を言う。多型とは、集団中の２以上の遺伝子的に決定された対立（alternative）配列又はアレルの存在を言う。好ましい多型は、少なくとも２つのアレルを有し、各アレルが１％より高い頻度で起こり、より好ましくは１０％又は２０％より高い頻度で起こるものである。多型座位は、一つの塩基対程度の小さいものでもよい。

【００２９】

多型マーカーは、制限酵素断片長多型、縦列変数（ＶＮＴＲｓ）、高可変領域、ミニサテライト、ジヌクレオチド反復、トリヌクレオチド反復、テトラヌクレオチド反復、単純配列反復及びＡｌｕ等の挿入要素を含む。最初に同定されたアレル変異体は、対照型として任意に設計され、他の対立形質は対立（alternative）アレル又は変異アレルとして設計されている。選択された集団で最も頻繁に起こる対立形質は、野生型と言われることがある。複相生物は、アレル体について同種接合性でも異種接合性でもよい。２アレル多型は２つの型を有する。トリアレル多型は３つの型を有する。

【００３０】

「一塩基多型」（ＳＮＰ）とは、一つの塩基対が変化している。一塩基多型は、一つのヌクレオチドによって占められる多型部位、すなわちアレル配列間の変異部位で起こる。当該部位は一般的にアレル配列の前にあり、その後に高保存アレル配列が続く（例えば、集団の１／１００又は１／１０００未満で変異する配列）。

【００３１】

一塩基多型は、一般的に多型部位で一つのヌクレオチドが他のヌクレオチドに置換することにより起こる。転移は、一つのプリンと他のプリンとの交換、又は一つのピリミジンと他のピリミジンとの交換である。トランスバージョンは、プリンとピリミジンとの交換、又はピリミジンとプリンとの交換である。一塩基多型は、一つのヌクレオチドの除去、

又は対照アレルへの一つのヌクレオチドの挿入からも起こり得る。一塩基多型が結果として制限酵素認識部位の削除又は形成であることは注目すべきである。従って、一塩基多型は、制限酵素断片長多型としてそれ自体存在することもできる。

【００３２】

一塩基多型（ＳＮＰｓ）は、ＲＦＬＰｓ及びＶＮＴＲｓと同じ方法で使用されるが、いくつかの利点がある。一塩基多型は、他の多型よりも高い頻度で起こり、ゲノム全体を通じてより均一にスペーシングされている。ＳＮＰｓは、約１／１０００の頻度の塩基対で起こり、最も少ないアレルが１％以上の頻度を有する必要性がある点で、稀な変異又は突然変異とは区別される（Brookes,1999）。

【００３３】

ＳＮＰの例としては以下のものが挙げられる。

１．遺伝子によってコードされる蛋白質産物において一つのアミノ酸を他のアミノ酸と置換している非同義コード領域変化、

２．遺伝子コードの縮重によってアミノ酸コード配列を変える同義変化、

３．遺伝子の複製を変化させても変化させなくてもよいプロモーター、エンハンサー又は他の遺伝子制御因子配列の変化、

４．ｍＲＮＡの非翻訳領域、特にリボゾーム結合効率、開始又は翻訳を変化させてもよい５’末端、あるいはｍＲＮＡ安定性を変化させてもよい３’末端での変化、及び

５．翻訳のスプライシング又は他の遺伝子調節因子の機能を変化させてもよいイントロン領域内の変化。

【００３４】

「２アレル多型」及び「２アレルマーカー」の語は、集団中、かなり高頻度で２つのアレルを有する多型、好ましくは一塩基多型を言うために交互に使用される。「２アレルマーカーアレル」は、２アレルマーカー部位に存在するヌクレオチド変異体を言う。本発明の２アレルマーカーのあまり一般的でないアレル頻度は、通常、１％を超え、好ましくは１０％を超え、より好ましくは少なくとも２０％（すなわち、少なくとも０．３２の異種接合体率）、更により好ましくは少なくとも３０％（すなわち、少なくとも０．４２の異種接合体率）。あまり一般的でないアレル頻度が３０％以上である２アレルマーカーは、「高品質２アレルマーカー」と言う。

【００３５】

「Ｓｅｑ－４０多型」又は「Ｓｅｑ－４０多型部位」は、ここでは、ここで開示されたＳｅｑ－４０遺伝子内の多型又は多型部位を意味するのに用いる。当該語は、Ｓｅｑ－４０コード配列、イントロン領域及び近傍領域内の多型又は多型部位を包含する。「Ｓｅｑ－４０多型」は、同質性を持たせるためにＳｅｑ－４０蛋白質産物中のアミノ酸を変化させる必要がない。Ｓｅｑ－４０多型の語は、一塩基多型、２アレルその他を包含し、当該開示の表１で説明した多型である。Ｓｅｑ－４０一塩基多型は、一塩基の変異を反映している多型である。「少なくとも一つのＳｅｑ－４０多型部位」は、当該開示の表１に詳述した遺伝子から選ばれるＳｅｑ－４０遺伝子内の少なくとも一つの多型部位を意味する。

【００３６】

ここで交互に用いる「オリゴヌクレオチド」及び「ポリヌクレオチド」は、ＲＮＡ、ＤＮＡ、又は一本鎖もしくは二本鎖の形での２以上のヌクレオチドのＲＮＡ／ＤＮＡハイブリッド配列を含む。ここで「ヌクレオチド」の語は、ＲＮＡ、ＤＮＡ又は一本鎖もしくは二本鎖の形でのいずれかの長さのＲＮＡ／ＤＮＡハイブリッド配列を含む分子を説明するために形容詞としても用いる。「ヌクレオチド」の語はまた、オリゴヌクレオチドとポリヌクレオチド内のヌクレオチドの場合に、プリンもしくはピリミジン、リボースもしくはデオキシリボース糖部分、及びリン酸基もしくはホスホジエステル結合を含む、大きな核酸分子中の分子又は個々のユニットを意味する個々のヌクレオチド又は種々のヌクレオチドを言う名詞としても用いる。

【００３７】

「ヌクレオチド」の語はまた、ここでは、例えば類似結合基、プリン、ピリミジン及び

糖類等の（ａ）代替結合基、（ｂ）プリンのアナローグ、（ｃ）ピリミジンのアナローグ又は（ｄ）類似糖類の少なくとも一つの修飾を含む「修飾ヌクレオチド」を包含するために用いる。例えばＰＣＴ出願の国際公開第９５／０４０６４号パンフレット参照。

【００３８】

しかしながら、本発明のポリヌクレオチドは、一般的デオキシリボースヌクレオチドを好ましくは５０％を超えて、より好ましくは９０を超えて含む。本発明のポリヌクレオチド配列は、合成、組換え、エクスビボ(ex vivo)産生又はこれらの組み合わせを含むいずれかの方法、及び当該分野で知られている精製方法を用いて調製できる。

【００３９】

ポリヌクレオチドの中心に関して、ポリヌクレオチド中のヌクレオチドの位置は、ここでは以下のように説明される。ポリヌクレオチドが奇数のヌクレオチドを有する場合には、ポリヌクレオチドの３’末端と５’末端から等しい距離にあるヌクレオチドは、ポリヌクレオチドの「中心」にあると考えられ、中心のヌクレオチドの直ぐ隣又は中心そのもののヌクレオチドは、「中心から１ヌクレオチド内」にあると考えられる。ポリヌクレオチドの奇数のヌクレオチドと共に、ポリヌクレオチドの中心にあるいずれかの５つのヌクレオチド位置は、中心から２ヌクレオチド以内にあると考えられる。

【００４０】

ポリヌクレオチドが偶数のヌクレオチドを有する場合には、ポリヌクレオチドの中心には、ポリヌクレオチドの結合が存在し、１ヌクレオチドは存在しない。従って、２つの中心的なヌクレオチドのいずれかは、「中心から１ヌクレオチド以内」にあると考えられ、ポリヌクレオチドの中心にある４ヌクレオチドのいずれかは、「中心から２ヌクレオチド以内」にあると考えられる。

【００４１】

１以上のヌクレオチドの置換、挿入又は欠失を含む多型について、多型の３’置換、挿入又は欠失ポリヌクレオチドと、ポリヌクレオチドの３’末端との距離、及び多型の５’置換、挿入又削除ポリヌクレオチドと、ポリヌクレオチドの５’末端との距離の差がゼロ又は１ヌクレオチドであるならば、当該多型、アレル又は２アレルのマーカーは、ポリヌクレオチドの「中心」にある。この差が０～３であるならば、当該多型は「中心から１ヌクレオチド以内」にあると考えられる。この差が０～５であるならば、当該多型は「中心から２ヌクレオチド以内」にあると考えられる。この差が０～７であるならば、当該多型は「中心から３ヌクレオチド以内」にあると考えられる。

【００４２】

１以上のヌクレオチドの置換、挿入又は欠失を含む多型について、多型の置換、挿入又欠失ポリヌクレオチドと、ポリヌクレオチドの３’末端との距離、及び多型の置換、挿入又は欠失ポリヌクレオチドと、ポリヌクレオチドの５’末端との距離の差がゼロ又は１ヌクレオチドであるならば、当該多型、アレル又は２アレルのマーカーは、ポリヌクレオチドの「中心」にある。この差が０～３であるならば、当該多型は「中心から１ヌクレオチド以内」にあると考えられる。この差が０～５であるならば、当該多型は「中心から２ヌクレオチド以内」にあると考えられる。この差が０～７であるならば、当該多型は「中心から３ヌクレオチド以内」にあると考えられる。

【００４３】

ポリヌクレオチド末端に関し、ポリヌクレオチド中のヌクレオチドの位置は、ここでは以下のように説明される。ヌクレオチドは、ポリヌクレオチドの５’又は３’末端にあるならば、ポリヌクレオチドの「末端」にある。

【００４４】

「上流」の語は、ここでは、特定の基準点からポリヌクレオチドの５’末端までの位置を言うために用いる。「塩基対」及び「ワトソン・クリック塩基対」の語は、ここでは、アデニン残基と２つの水素結合によって結合されたチミン又はウラシル残基と、３つの水素結合によって結合されたシトシン及びグアニン残基とを有するダブルヘリックスＤＮＡに見られる方法で、ヌクレオチドの配列を認識できるように他のヌクレオチドと水素結合

し得るヌクレオチドを言うために交互に用いる（Stryer, L., Biochemisty, 第４版, 1995）。

【００４５】

「単離」の語は、ここでは、他の核酸、炭水化物、脂質及び蛋白質（ポリヌクレオチドの合成に用いる酵素等）に限定されない他の化合物からある程度分離されている本発明のポリヌクレオチド又はポリヌクレオチドベクターを説明するために用い、あるいは直線状ポリヌクレオチドからの共有結合的閉環状ポリヌクレオチドの分離を説明するために用いる。ポリヌクレオチドは、試料の少なくとも約５０％、好ましくは６０～７５％が単一のポリヌクレオチド配列及びコンホメーション（直線状対共有結合的閉環状）を示す場合に、実質的に単離されている。実質的に単離されたポリヌクレオチドは、通常、核酸試料の重量の約５０％、好ましくは６０～９０％重量、より一般的には約９５％、更により好ましくは約９９％純度を超えて含む。ポリヌクレオチド単離又は均質の程度は、試料のアガロース又はポリアクリルアミドゲルの電気泳動を行い、次いでゲルを染色して単一のポリヌクレオチドのバンドを視覚化するなどの当該分野でよく知られた多数の手段によって表される。特定の目的のためには、ＨＰＬＣ又は当該分野でよく知られた他の手段を用いて、より高度な解析をすることができる。

【００４６】

「プライマー」の語は、好適な条件下（すなわち、４つの異なったヌクレオチド三リン酸及びＤＮＡもしくはＲＮＡポリメラーゼ又は逆転写酵素等のポリメリゼーション試薬の存在下）、好適な緩衝液及び好適な温度で、鋳型に対するＤＮＡ合成の開始点として働くことができる一本鎖オリゴヌクレオチドを言う。プライマーの好適な長さは、プライマーの使用目的によるが、通常、１５～３０ヌクレオチドの範囲である。短いプライマー分子は、一般的に、鋳型と十分に安定なハイブリッドを形成するには低い温度を必要とする。プライマーは鋳型の配列を厳密に反映している必要はないが、鋳型にハイブリダイズする程度に十分に相補的である必要がある。「プライマー部位」の語は、プライマーがハイブリダイズするターゲットＤＮＡの領域を言う。「プライマー対」の語は、増幅されるＤＮＡの５’末端とハイブリダイズする５’上流プライマー及び増幅される配列の３’末端の相補鎖とハイブリダイズする３’下流プライマーを含む一組のプライマーを意味する。

【００４７】

「プローブ」又は「ハイブリダイゼーションプローブ」の語は、試料中に存在する特定のポリヌクレオチド配列を同定するために用いられる定義された核酸断片（又はヌクレオチドアナローグ断片、例えばここで定義したポリヌクレオチド）であって、当該核酸断片がハイブリダイゼーションによって同定される特定のポリヌクレオチド配列に相補的なヌクレオチド配列を含む核酸断片を意味する。「プローブ」又は「ハイブリダイゼーションプローブ」は、核酸の相補鎖に塩基特有の方法で結合することができる核酸である。当該プローブは、Nielsen et al., Science 254, 1497-1500 (1991)に記載のペプチド核酸を含む。ハイブリダイゼーションは、通常、例えば、１M以下の塩濃度で、少なくとも２５℃の温度の「ストリンジェントな条件」下で実施される。例えば、５ＸＳＳＰＥ（７５０ｍＭ　ＮａＣｌ、５０ｍＭ　Ｎａリン酸塩、５ｍＭ　ＥＤＴＡ、ｐＨ７．４）及び２５～３０℃の温度の条件は、アレル特異的プローブハイブイリダイゼーションには好適である。特定の緩衝液組成物は例示できるが、当業者であれば、同等に好適な他の組成物と容易に置き換えることができる。

【００４８】

ここで用いる「塩基配列決定」の語は、核酸中のヌクレオチドの順序を決定するプロセスを意味する。核酸の塩基配列を決定する種々の方法は、当該分野で知られている。当該塩基配列決定法は、ジデオキシ媒介連鎖停止のサンガー法を含む。サンガー法は、参考としてここに示した、例えばSanger et al., によるProc.Natl. Acad. Sci. 74:5463 (1977)に記載されている（参考としてここに示した、「ＤＮＡ塩基配列決定」Sambrook et al. (eds), Molecular Cloning：A Laboratory Manual(Second Edition), Plainview, N. Y.:Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989)も参照）。

【００４９】
大腸菌ＤＮＡポリメラーゼＩのクレノウ断片;配列ＴＭ（Ｔ７ＤＮＡポリメラーゼ）；ＴａｑＤＮＡポリメラーゼ及びＡｍｐｌｉｔａｑを含むポリメラーゼは、酵素的塩基配列決定法に使用される。よく知られた塩基配列決定法としては、マキサム・ギルバードのＤＮＡの化学的切断法（ここに参考として示したMaxam and Gilbert, Methods Enzymol. 65 : 499 (1980)、及び「ＤＮＡ塩基配列決定」Sambrook et al., supra, 1989参照）も含む。当業者は、塩基配列決定が現在では自動化法により行われていることが多いことを理解している。
【００５０】
「精神分裂症」の語は、例えばＤＳＭ－ＩＩＩ－Ｒと呼ばれる症状の布置を特徴とする精神障害等の一般的な意味である。
【００５１】
「形質」又は「表現型」の語は、ここでは交互に使用し、疾患の症状又は疾患に対する感受性等の視認可能な、検出可能な又は測定可能な生物の性質を言う。通常、「形質」又は「表現型」の語は、ここでは、精神分裂症の症状もしくは感受性；精神分裂症に作用する薬剤に対する個体の反応；又は、精神分裂症に作用する薬剤の副作用の症状もしくは感受性を言うために用いる。
【００５２】
＜本発明の多型＞
Ｓｅｑ－４０ｃＤＮＡのヌクレオチド及びアミノ酸配列は、ここにいずれも参考として示した、米国特許出願第０９／７１４４４９号及び国際公開第０１／３６４７３号パンフレットに既に開示されている。
【００５３】
Ｓｅｑ－４０は、生物起源のアミン受容体の顕著な特徴を有さないが、ＧＰＣＲスーパーファミリーのアミン作用性／コリン作用性の一次分枝に最も近い配列相同性を有する新規なＧＰＣＲである。脳部分でのｍＲＮＡのin situハイブリダイゼーションは、Ｓｅｑ－４０ＲＮＡが、脳の辺縁系領域、特には外皮、梨状皮質、海馬状隆起、黒質、細胞層部（pars compacta）、外側隔膜、分界条の床核、視床、腹側被蓋、脚間核、背面縫線、内側膝状、カレジャ島（Islands of Calleja）、脈絡叢及び視床腹部で発現されることを示している。
【００５４】
Ｓｅｑ－４０をコードする遺伝子の染色体位置は、スタンフォードＧ３放射線ハイブリッド・パネル（Research Genetics, Inc., Huntsville, AL）を使って測定した。当該パネルは、スタンフォードゲノムセンターによって創られた全ヒトゲノムの８３の放射線ハイブリッドクローンを含む。ＰＣＲプライマーは、どのレーンがＰＣＲ産物を与えるかを測定するために、配列番号１の配列から設計した。レーンは、期待したＰＣＲ産物の存在又は不存在について記録し、結果は、分析のため、ｅ－メールによってスタンフォードゲノムセンターに提供した。この分析は、１１．８４のＬＯＤスコア（３．０を超えるスコアならいずれも高値である）を有するスタンフォードマーカーＳＨＧＣ－１８３６（平均断片サイズは４．０Ｍｂである）に非常に近い関係を示す、染色体６上のＳｅｑ－４０を認識した。当該マーカーは、位置６ｑ２１に存在する。Cao et al.,(1997)は、２つの無関係のデータで連鎖解析を行い、精神分裂症の感受性遺伝子座を含むと考えられる領域６ｑ１３－６ｑ２６を示した。
【００５５】

【表４】

表１

Seq-40 SNPs		
SNP	位置(塩基)	通常／レア　アレル
S1	194	G/A
S2	601	A/G
S3	1029	G/A
S4	1038	C/G
S5	1074	A/C
S6	2106	G/A
S7	2185	G/A
S8	2359	T/G
S9	2663	C/G
S10	2796	A/G

【００５６】

上述のように、配列番号１の位置１９４のＳｅｑ－４０一塩基多型をＳ１と設計し、配列番号１の位置６０１のＳｅｑ－４０一塩基多型をＳ２と設計し、配列番号１の位置１０２９のＳｅｑ－４０一塩基多型をＳ３と設計し、配列番号１の位置１０３８のＳｅｑ－４０一塩基多型をＳ４と設計し、配列番号１の位置１０７４のＳｅｑ－４０一塩基多型をＳ５と設計し、配列番号１の位置２１０６のＳｅｑ－４０一塩基多型をＳ６と設計し、配列番号１の位置２１８５のＳｅｑ－４０一塩基多型をＳ７と設計し、配列番号１の位置２３５９のＳｅｑ－４０一塩基多型をＳ８と設計し、配列番号１の位置２６６３のＳｅｑ－４０一塩基多型をＳ９と設計し、配列番号１の位置２７９６のＳｅｑ－４０一塩基多型をＳ１０と設計する。

【００５７】

問題の多型が既に特徴付けられているかによって２つの明確な解析タイプがある。第一の解析タイプは、デノボ同定と言われることがある。第二の解析タイプは、識別された多型が試験中に個体に存在することを測定することである。第一の解析タイプは、変異点、すなわち多型部位を同定するために異なった個体のターゲット領域を比較する。人類間の最大の民族多様性及び動物や植物での最大の血や種の多様性を代表する個体群を解析することによって、最も一般的なアレル／ハプロタイプ座位の特徴的なパターンが同定され、集団中の当該集団の頻度が決定される。更に、アレル頻度は、地形、人種、性別等の基準を特徴とする小集団について決定される。本発明の多型のデノボ同定を説明する例を以下に述べる。

【実施例】

【００５８】

実施例１－本発明の多型のデノボ同定

[材料及び方法]

ＤＮＡ試料

ＤＮＡ試料は匿名の血液試料から得た。ＤＮＡは、QiaAmp ＤＮＡ血液ミニキット（Qiagen）を使って調製した。当該試料は、Population Control Western Michigan試料と言い、ＣＯＮ０１とラベルした。

【００５９】

Ｓｅｑ－４０のＰＣＲ増幅

Ｓｅｑ－４０ゲノム配列は、以前Ｓｅｑ－４０配列の開示に使用したCeleraヒトゲノムデータベースを使って、ＢＬＡＳＴ解析によって同定した。１エントリー、ＧＡ＿４６７

４７２８５は、Ｓｅｑ－４０のコード情報を含む約９．８ｋｂのヒトゲノム配列を含む検索によって同定した。プライマーは、Ｓｅｑ－４０コード領域及びＧＡ＿４６７４７２８５のヌクレオチド２９４６～６０２４に対応する約１ｋｂの上流と０．５ｋｂの下流を含む、約３ｋのゲノム配列を増幅するように設計した。当該配列、すなわち設計したＳｅｑ－４０ＳＮＰ配列は、プライマーＰＳＫ１００及びＰＳＫ１０５（各々、配列番号３及び４）を使ってヒトゲノムＤＮＡから増幅した。

【００６０】

ＰＳＫ１００　５’ＡＧＴＡＧＧＡＡＴＣＡＧＡＴＡＧＣＧＡＧＡＴＴＧ（ＧＡ＿４６７４７２８５のアクセッション番号２９４６～６０２４）。

ＰＳＫ１０５　５’ＡＣＴＧＡＡＴＡＡＴＧＴＡＡＣＡＣＡＧＧＧＣＴＣ（ＧＡ＿４６７４７２８５のアクセッション番号６００２～６０２５の逆相補鎖）。

【００６１】

ＰＣＲは、製造者の指示に従い、ストラテジーン・ロボサイクラー（Stratagene Robocycler）を用い、５０μｌ反応中でＡｍｐｌｉＴａｑ　Ｇｏｌｄ（Perkin Elmer）を使って行った。反復サイクルは以下のとおりであった。９４℃で１０分間を１サイクル、次いで９５℃で３０秒間を５０サイクル、次いで５５℃で１分間、６８℃で５分間、次いで６８℃で１０分間を１サイクル。

【００６２】

ＰＣＲ産物はMultiScreen－ＰＣＲフィルタープレート（Millpore）を使って精製した。ＰＣＲ反応はプレート上で行い、当該プレートをMultiScreen manifield（Millpore）の上面に置き、５～１０分間、２４インチＨｇの真空圧を加えた。当該プレートをプレートミキサーに載せ、５分間激しく振動させた。精製ＰＣ産物を各ウェルから回収し、新しい９６ウェル反応プレートに加えた。

【００６３】

ＤＮＡ塩基配列決定

ＰＣＲ断片をABI377蛍光型シークエンサー（Perkin Elmer/Applied Bioystems Division, PE/ABD, Foster City, CA）、及びＴａｑ　ＦＳＴＭポリメラーゼを用いるABI BigDye（登録商標）Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction kitを使って直接、塩基配列決定を行った。各サイクル塩基配列決定は、９．６μｌのH_2O、８．４μｌのBigDye Terminatorミックス（８μｌのBigDye Terminator及び０．４μｌのＤＭＳＯ）、１μｌのＤＮＡ（約０．５μｇ）及び１μｌのプライマー（２５ｎｇ/μｌ）を含み、Perkin Elmer 9600で行った。サイクル塩基配列決定は、９８℃で１分間初期変性、９６℃で３０秒間を５０サイクル、５０℃で３０秒間アニーリング、６０℃で４分間伸張することにより行った。伸張産物は、ＡＧＴＣ（登録商標）ゲルろ過ブロック（Edge Biosystems, Gaithersburg, MD）を使って精製した。各反応産物をカラムにピペットによって装填し、回転バケット遠心（Sorvall model RT6000B tabletop centrifuge）で、７５０ｘｇで室温で２分間遠心した。

【００６４】

カラム精製した試料は、真空下で約６０分間乾燥し、次いで２μｌのＤＮＡ装填溶液（８３％脱イオンしたホルムアミド、８．３ｍＭ　ＥＤＴＡ及び１．６ｍｇ/ｍｌブルーデキストラン）に溶解した。ABI377シークエンサーによる配列分析のため、試料を９０℃で２．３分間加熱し、各試料の０．７５μｇｌをゲル試料ウェルに装填した。配列クロマトグラムを、コンピュータープログラムPOLYPHREDを使って分析した。Nickerson, D.A. (1997)Nucleic Acids Research, 25(14), pp. 2745-2751。

【００６５】

[結果]

Population Control Western Michigan試料（ＣＯＮ０１とラベルした）と名付けた７２個体から得られたＤＮＡ含有プレートを、上述のプライマーを使って増幅した。ＰＣＲ産物を精製し、以下のプライマー（配列番号３～８）を使って塩基配列決定を行った。

【００６６】

【表５】

PSK100	AGTAGGAATCAGATAGCGAGATTG
PSK105	ACTGAATAATGTAACACAGGGCTC
1783	TGCGTAGTCAGAGAGAGAGG
KAS438	AGCCAGCACAGCCCCAAAGCC
KAS439	TCTATGACGATGGGCTGGAGG
KAS441	ATAGACGAAGTTCAGGATACC

【００６７】
７２個体の配列を比較してその配列の相違を示すコンピュータープログラムPOLYPHREDを使って、クロマトグラムを分析した。全部で１０種のＳＮＰを同定した。結果の概略を下記表２に示す。
【００６８】
【表６】

表２

SNP	検出された SNP塩基*	検出されたDNA領域	SNPの効果	検出された一般的なホモ接合体	検出されたヘテロ接合体	検出されたレア ホモ接合体	レアアレルの割合
S1	194	5' 近傍		29 G/G	29 G/A	13 A/A	38
S2	601	5' 近傍		26 A/A	30 G/A	16 G/G	43
S3	1029	5' 近傍		59 G/G	8 G/A	1 A/A	7.5
S4	1038	5' 近傍		46 C/C	19 C/G	4 G/G	20
S5	1074	5' 近傍		57 A/A	8 C/A	2 C/C	8.9
S6	2106	TM6	I265V	53 G/G	9 G/A	0 A/A	5.6
S7	2185	TM7	C291Y	64 G/G	7 G/A	0 A/A	4.9
S8	2359	3' 近傍		39 T/T	20 T/G	2 G/G	19
S9	2663	3' 近傍		42 C/C	25 C/G	0 G/G	18
S10	2796	3' 近傍		21 A/A	39 A/G	6 G/G	39

【００６９】
５種のＳＮＰは、５’近傍領域にあり、２種はコード領域にあり、３種は３’近傍領域にある。ＳＮＰｓの位置は、配列番号１の配列に関し、ヌクレオチド１９４、６０１、１０２９、１０３８、１０７４、２１０６、２１８５、２３５９、２６６３及び２７９６にある。各ＳＮＰのレア（rare）アレル頻度は、それぞれ３８、４３、７．５、２０、８．９、５．６、４．９、１９、１８、３９％である。差すなわち集団が大きくなれば、当該頻度が変化することは注目に値する。
【００７０】
我々は、コード領域ではいずれのＳＮＰｓもアミノ酸を変化させ、抗体系診断薬に敏感に反応するだろうことにも注目している。
【００７１】
変異体遺伝子産物に特異的に結合するが、対応する表現型遺伝子産物には結合しないポリクローナル及び／又はモノクローナル抗体が検討されている。抗体は、マウス又は他の動物に変異体遺伝子産物又はその合成ペプチド断片を注射することによって作製できる。モノクローナル抗体は、例えばHarlow & Lane, Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press, New York (1988)；Godsing, Monoclonal antibodies, Principles and Practice (2d ed.) Academic Press, New York (1986)に記載の方法でスクリーニングされる。モノクローナル抗体は、変異体遺伝子産物を使って特異的免疫反応性を試験

し、対応する表現型遺伝子産物に対する免疫反応性の欠如を試験する。当該抗体は、異型の検出のための診断アッセイ又は医薬組成物中の活性成分として有用である。当該抗体を使用する診断薬は、当該分野でよく知られており、ウェスタンブロット分析、ＥＬＩＳＡ分析及び放射免疫測定を含むがこれらに限定されない。

【００７２】

[相関解析]

多型が一旦同定されたら、上述のように、同定した多型のどの型が解析中の個体中に存在するかを決定することが好ましい。このことは、多型を更に可能性のある病状と関連させる点で重要となる。当該関連性が一旦決定されると、同じ方法が、当然のことながら、診断的及び予知的目的のため使用できる。特定のヌクレオチド位置の同定に際し、順々に説明する種々の好適な手段がある。

【００７３】

多型解析

Ａ．試料調製

多型は、解析される個体から得られたターゲット核酸を用いて検出した。ゲノムＤＮＡアッセイに関しては、事実上いずれの生物試料も好適である（純粋な赤血球細胞以外）。例えば、簡便な組織試料は、全血、精液、唾液、涙、尿、糞便、汗、口内、皮膚及び毛髪を含む。ｃＤＮＡ又はｍＲＮＡのアッセイに関しては、組織試料は、ターゲット核酸が発現している器官から得られる。

【００７４】

以下に述べる方法の多くは、ターゲット試料からＤＮＡの増幅を必要とする。増幅はＰＣＲによって行うことができる。一般的なＰＣＲ技術を参照。例えば、「ＤＮＡ増幅の原理及び応用」（ed. H. A. Relich, Freeman Press, N. Y., N. Y., 1992）；「ＰＣＲプロトコール：方法及び応用のガイド」（eds. Innis, et al., Academic Press, San Diego , Calif., 1990）；Mattila et al., Nucleic Acid Res. 19, 4967 (1991)；Eckert er al., 「ＰＣＲ方法及び応用」1, 17 (1991) ；「ＰＣＲ」(eds. McPherson et al., IRL Press, Oxford)；及び米国特許第４，６８３，２０２号（各々は、あらゆる目的のため、参考として示した）。

【００７５】

他の好適な増幅方法は、リガーゼチェーン反応（ＬＣＲ）（Wu and Wallace, Genomics 4, 560 (1989), Landegren et al., Science 241, 1077 (1988)参照）、転写増幅（Kwoh et al., Proc . Natl. Acad. Sci. USA, 86, 1173 (1989)）、自己持続型配列複製（Guatelli et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87, 1874 (1990)）及び核酸系配列増幅（ＮＡＳＢＡ）を含む。後の２つの増幅方法は、等温転写に基く等温反応を含み、一本鎖ＲＮＡ（ｓｓＲＮＡ）及び二本鎖ＤＮＡ（ｄｓＤＮＡ）を各々約３０対１又は約１００対１の割合で増幅産物として生産する。

【００７６】

Ｂ．ターゲットＤＮＡの多型検出

１．アレル特異的プローブ

多型解析のためのアレル特異的プローブの設計及び使用は、例えば、Saiki et al., Nature 324, 163-166 81986)；Dattagupta, 欧州特許第２３５，７２６号, Saiki, 国際公開第８９／１１５４８号パンフレットに記載されている。２つの個体から各々得られる断片中には異なった多型が存在するため、アレル特異的プローブは、１個体由来のターゲットＤＮＡ断片とハイブリダイズし、もう一つの個体由来の対応する断片とはハイブリダイズしないように設計され得る。ハイブリダイゼーションの条件は、アレル間のハイブリダイゼーション強度に著しい差が存在し、好ましくはプローブがアレルの一つのみとハイブリダイズするような本質的に二つの反応が存在するように十分にストリンジェントである必要がある。プローブの中には、ターゲットＤＮＡ断片とハイブリダイズさせて、多型部位がプローブの中心位置（例えば、位置７で１５マー；位置８又は９で１６マー）と合うように設計したプローブもある。このようなプローブの設計により、種々の対立形質のハ

イブリダイゼーションを良好に識別できる。

【００７７】

当該プローブは、好ましくは５～５０ヌクレオチドを含むことを特徴とし、また当該プローブにハイブリダイズする本発明の多型マーカーを含む配列に十分に相補的であり、好ましくはターゲット配列をたった一つのヌクレオチド変異体で識別することができる程に十分に特異的であることを特徴とする。本発明の当該プローブ中のＧＣの量は、通常１０～７５％、好ましくは３５～６０％、より好ましくは４０～５５％の範囲である。当該プローブの長さは、１０、１５、２０又は３０から少なくとも１００ヌクレオチド、好ましくは１０～５０ヌクレオチド、より好ましくは１８～３５ヌクレオチドの範囲である。特に好ましいプローブは、２５ヌクレオチド長である。好ましくは、多型マーカーは、ポリヌクレオチドプローブの中心から４ヌクレオチド以内である。特に好ましいプローブでは、多型マーカーは、上記ポリヌクレオチドの中心にある。短プローブは、ターゲット核酸配列に対する特異性が欠けていてもよく、一般的に鋳型と十分に安定なハイブリッド複合体を形成するためにはより低温を必要とする。長プローブは、作製するには高価であり、自己ハイブリダイズしてヘアピン構造を形成することがある。オリゴヌクレオチドプローブの合成方法は上述したとおりであり、本発明のプローブに適用し得る。

【００７８】

好ましくは、本発明のプローブは、標識されるかあるいは固体支持体上に固定化されている。標識及び固体支持体は当該分野でよく知られている。検出プローブは、一般的に、核酸配列、又は国際出願の国際公開第９２／２０７０２号パンフレットに開示のペプチド核酸、米国特許第５，１８５，４４４号、５，０３４，５０６号及び５，１４２，０４７号に記載のモルホリノアナローグ等の不電荷核酸アナローグである。当該プローブは、更にｄＮＴＰｓがプローブ追加できないような「非伸張可能型」と表現してもよい。アナローグはその末端では、通常、非伸張可能であり、水酸基が伸張にもはや関与できないように、核酸プローブは、プローブの３’末端を修飾することによって非伸張可能になることができる。例えば、プローブの３’末端は、捕獲又は標識の検出によって官能基化して水酸基を消滅させるか、あるいはブロックすることができる。あるいは、３’水酸基を単に切断、置換又は修飾することもできる。

【００７９】

本発明のプローブは多数の目的に有用である。プローブは、ゲノムＤＮＡとのサザンハイブリダイゼーション又はｍＲＮＡとのノーザンハイブリダイゼーションに使用できる。プローブは、ＰＣＲ増幅産物の検出にも使用できる。アレルとのハイブリダイゼーションのアッセイにも使用できる。特定のプローブにより、特定の試料中の２アレルマーカーアレルの存在や不存在を検出することもできる。

【００８０】

アレイ方式でのハイスループット・パラレル・ハイブリダイゼーションは、特に「ハイブリダイゼーションアッセイ」に包含されており、以下に説明される。

【００８１】

アレル特異的プローブは、通常、対で使用され、対の一方はターゲット配列の対照型と完全にマッチし、他方は対立形質にマッチする。種々のプローブ対は、同じターゲット配列内の多数の多型の同時解析のため、同じ支持体に固定することができる。

【００８２】

２．アレル特異的プライマー

アレル特異的プライマーは、多型を重複しているターゲットＤＮＡ上の部位にハイブリダイズし、プライマーが完全な相補性を示す対立形質の増幅を開始するに過ぎない。Gibbs, Nucleic Acid Res. 17, 2427-2448 (1989)を参照。当該プライマーは、末端部位でハイブリダイズする第二のプライマーとの結合に使用される。増幅は、２つのプライマーから始まり、特定の対立形質が存在することを示す検出可能な産物をもたらす。コントロールは、一般的にプライマーの第二の対を使って進行し、プライマーの一つは多型部位では一塩基のミスマッチを示し、他の一つは末端部位で完全な相補性を示す。この一塩基のミ

スマッチは、増幅を阻止し、検出可能な産物は形成されない。ミスマッチが多型と符合しているオリゴヌクレオチドの３’－位にほとんど近い値に含まれる場合には、当該位置がプライマーからの伸張には最も不安定であることから、当該方法は功を奏する。国際公開第９３／２２４５６号パンフレットを参照。本発明は、当然のことながら、末端にミスマッチを有するプライマー、及び選択した条件によって不安定な塩基対を形成し、そのため非効率的に開始するプライマーを検討している。

【００８３】

３．直接的塩基配列決定

本発明の多型配列の直接的な分析は、ジデオキシチェーン停止法又はマキサム・ギルバート方（Sambrook et al., Molecular Cloning, A Laboratory Manual (2ndEd., CSHP, New York 1989を参照）；Zyskind et al., Recombinant DNA Laboratory Manual, (Acad. Press, 1988）を使って実施することができる。ＤＮＡ塩基配列決定の分野がここ数年著しく進歩し、本発明が当該利点を意図したものであることは理解できよう。ここ１０年の間に、自動化ＤＮＡ配列分析の信頼性が向上してきたことは特に明白である。

【００８４】

４．変性グラジュエントゲル電気泳動

ポリメラーゼチェーン反応を用いて生産される増幅産物は、変性グラジュエントゲル電気泳動を用いて解析できる。種々のアレルは、配列依存的な様々な融解性や溶液中のＤＮＡの電気泳動に基いて同定できる。Erlich, ed.,「ＰＣＲ技術、ＤＮＡ増幅の原理及び応用」（W. H. Freeman and Co, New York, 1992）, Chapter 7。

【００８５】

５．一本鎖コンフォメーション多型解析

ターゲット配列のアレルは、Orita et al., Proc. Nat. Acad. Sci. 86, 2766-2770 (1989)に記載の、一本鎖ＰＣＲ産物の電気泳動での変化によって塩基の相違を区別する一本鎖コンホメーション多型解析を使って識別できる。増幅ＰＣＲ産物は、上述のようにして生産でき、次いで加熱又は変性して一本鎖増幅産物を形成できる。一本鎖核酸が再び折り重なってもよく、あるいは部分的に塩基配列に依存する第二の構造を形成してもよい。一本鎖増幅産物の電気泳動の異なった挙動は、ターゲット配列のアレルの塩基配列の相違と関連してもよい。

【００８６】

上記方法以外の他の修飾方法も存在し、例えば、フィルター上でのアレル特異的ハイブリダイゼーション、アレル特異的ＰＣＲ、ＰＣＲプラス制限酵素消化（ＲＦＬＰ－ＰＣＲ）、変性キャピラリー電気泳動、プライマー伸張、飛行時間型（ＴＯＦ：タイム・オブ・フライト）質量分析及び５’ヌクレアーゼ（Ｔａｑ－Ｍａｎ（登録商標））アッセイを含む。

【００８７】

Ｔａｑ－Ｍａｎアッセイは、蓄積している増幅産物に特異的にアニールするＤＮＡプローブを消化するＴａｑＤＮＡポリメラーゼの５’ヌクレアーゼ活性を利用している。Ｔａｑ－Ｍａｎプローブは、蛍光エネルギー転移によって相互作用する供与体－受容体の色素ペアで標識する。先発のポリメラーゼによるＴａｑＤＮＡポリメラーゼの増幅中の切断は、停止受容体色素から供与体色素を解離させ、供与体の蛍光を大いに増加させる。２つのアレル変異体の検出に必要な試薬はすべて、反応の開始時に集め、結果はリアルタイムアッセイ又はエンドポイントアッセイでモニタすることができる（Livak et al., Nature Genetics, 9: 341-342, 1995）。他の同質のハイブリダイゼーション系手段では、分子標識がアレルの識別に使用される。分子標識は、均一溶液中の特定の核酸の存在を伝えるヘアピン型オリゴヌクレオチドプローブである。当該プローブがそのターゲットに結合する場合には、当該プローブは、内部停止発蛍光団の蛍光を取り戻すようなコンホメーション的な再構築を受ける（Tyagi et al., Nature Biotechnology, 16: 49-531 1988）。

【００８８】

ＳＮＰの遺伝子型を特定する好ましい技術は、分析される各ＳＮＰについて広範囲にわ

たる最適化を必要としない大規模で自動化された分析である。自動化分析の例としては、マイクロタイタープレート（Hybaid）型及び「シングル・ストリンジェント」ＤＮＡチップハイブリダイゼーション（Affymetrix）に従う、ＤＡＳＨ（動的アレル特異的ハイブリダイゼーション）である。例がこれに限定されないことは理解できよう。

【００８９】

アレイ型でのハイスループットパラレルハイブリダイゼーションは、特に本発明に包含され、以下に記載する。

【００９０】

オリゴヌクレオチドアレイに基くハイブリダイゼーションアッセイは、完全にマッチしたターゲット配列変異体及びミスマッチしたターゲット配列変異体に対する短オリゴヌクレオチドのハイブリダイゼーションの安定性の差に基く。多型情報への効率的な手段は、固体支持体（チップ）に決められた位置で結合しているオリゴヌクレオチドプローブの高密度アレイを含む基本構造により得られる。各ＤＮＡチップは、格子形式に配列され、ダイムの大きさに縮小化された数千～数百万の合成ＤＮＡプローブを含む。

【００９１】

チップは、既に多数のケースで首尾よく利用されてきた。例えば、突然変異のスクリーニングは、ストレプトマイセス・セレヴィシアエ変異株のＢＲＣＡ　Ｉ遺伝子及びＨＩＶ－Ｉウィルスのプロテアーゼ遺伝子について実施されている（Hacia et al., Nature Genetics, 14(4): 441-447, 1996； Shoemaker et al., Nature Genetics, 14(4): 450-456, 1996； Kozal et al., Nature Medicine, 2: 753-759, 1996）。２アレル多型を検出する際に使用するための種々の型のチップは、Affymetrix（GeneChip（登録商標））、Hyseq（HyChip and HyGnostics）及びProtogene Laboratoriesによって特製の基材に基いて製造できる。

【００９２】

一般的に当該方法は、個体由来のターゲット核酸配列断片に相補的なオリゴヌクレオチドプローブのアレイを使用する。当該ターゲット配列は多型マーカーを含む。欧州特許第７８５２８０号は、一塩基多型の検出のためのタイル張り（tiling）方法を記載している。すなわち、アレイは、通常、多数の特異的多型のために「タイル張り」されている。「タイル張り」とは、通常、対象とするターゲット配列に相補的な配列からなる定義されたオリゴヌクレオチドプローブセットの合成、及び例えば１以上の特定の位置を１以上のモノマー、すなわちヌクレオチドの塩基セットで置換した配列について前もって選んでおいたバリエーションを意味する。

【００９３】

タイル張り方法は、更にＰＣＴ出願の国際公開第９５／１１９９５号パンフレットにも記載されている。特に、アレイは、多数の特異的な、定義された２アレルマーカー配列についてタイル張りされている。特に、アレイは、多数の検出ブロックであって、各検出ブロックが特定の２アレルマーカー又は一組の２アレルマーカーに特異的なあるブロックを含むようにタイル張りされている。具体的には、検出ブロックは、特定の多型を含む配列断片を含む多数のプローブを含むように、タイル張りされていてもよい。各アレルに相補的なプローブを確認するために、プローブは、２アレルマーカーが相違するペアとして合成される。多型塩基が相違するプローブに加えて、一置換プローブは、残っているヌクレオチド（Ａ、Ｔ、Ｇ、Ｃ及びＵから選ばれる）で置換した多型からいずれかの方向に一定の数の塩基を、あるいは当該塩基までの塩基を有する。通常、タイル張りされた検出ブロック中のプローブは、２アレルマーカーから５塩基離れた塩基までの配列及び当該位置を含む配列の置換を含む。一置換プローブは、タイル張りアレイを内部から制御し、実際のハイブリダイゼーションと人為的な交差ハイブリダイゼーションとを区別する。

【００９４】

ターゲット配列とのハイブリダイゼーションの完了及びアレイの洗浄後、ターゲット配列がハイブリダイズするアレイ上の位置を測定するためにアレイをスキャンする。スキャンしたアレイから得られたハイブリダイゼーションのデータは、その後、どのアレル又は

どの２アレルマーカーが試料中に存在するかを同定するために解析される。ハイブリダイゼーション及びスキャニングは、ＰＣＴ出願の国際公開第９２／１００９２号パンフレット、第９５／１１９９５号パンフレット及び米国特許第５，４２４，１８６号に記載のようにして実施される。

【００９５】

従って、具体例を挙げれば、チップは、約１５ヌクレオチド長の断片の核酸配列からなるアレイを含む。更に具体的には、チップは、配列番号１の６～８００連続ヌクレオチドを含む単離ポリヌクレオチドからなる群より選ばれる少なくとも一つの配列、及び少なくとも一つの多型部位を含み、少なくとも８連続ヌクレオチド、好ましくは１０、１５、２０連続ヌクレオチド、より好ましくは２５、３０、４０、４７又は５０の連続ヌクレオチドの当該配列に相補的な配列あるいはその断片を含むアレイを含有してもよい。

【００９６】

別の具体例では、チップは、少なくとも２、３、４、５、６、７、８又はそれ以上の本発明のポリヌクレオチドからなるアレイを含む。固体支持体及び固体支持体に結合した本発明のオリゴヌクレオチドは、更に１に記載する。

【００９７】

蛍光アレル特異的ＰＣＲ（ＦＡＳ－ＰＣＲ）は、検出するアレルに厳密に一致する一本鎖の３’ヌクレオチドが相違しているアレル特異的プライマーを使用する（Howard et al., 1999）。従って、２アレルＳＮＰの各アレルに厳密に一致するように設計された２つのプライマーは、アレル特異的プライマーのそれぞれを検出するために、一本鎖の、一般的なリバースプライマーを使用する。このことによって、ＰＣＲ増幅プライマーの３’ヌクレオチドが厳密に一致しないならば、増幅は成功しないであろうという観測ができる。通常、各アレル特異的プライマーには、種々の蛍光プライマーが付加されており、PE Biosystems Models 310/373/377又は3700等の自動ＤＮＡ分析システムを用いるゲル又はキャピラリー電気泳動によって分析する場合に、それらの識別が可能となる。

【００９８】

ＳＮＰｓはまた、ＤＮＡ塩基組成の相違による熱変性の差を利用する技術を迅速かつ効果的に用い遺伝子型が特定できる。当該試験の一つの具体例では、アレル特異的プライマーは、１プライマーを２６塩基の５’末端に加えることを除いて、２アレルＳＮＰを検出するために上述のようにして設計される（Germer and Higuchi, 1999）。一本鎖で一般的なリバースプライマーを用いてＰＣＲ増幅した後、ｄｓＤＮＡに優先的に結合する蛍光色素（例えばＳＹＢＲ Ｇｒｅｅｎ１）を試験管に添加し、次いでＰＣＲ増幅のｄｓＤＮＡ産物の熱変性プロファイルが測定される。ＧＣ付加プライマーによって増幅されるＳＮＰに同質な試料は、温度スケールの高温端部で変性され、一方、非ＧＣ付加プライマーによって増幅されるＳＮＰに同質な試料は、温度スケールの低温端部で変性される。同質な試料は、熱変性プロファイルで２つのピークを示す。

【００９９】

先行技術の変異体では、動的アレル特異的ハイブリダイゼーション（ＤＡＳＨ）は、熱変性カーブによって検出される（Howell et al., 1999）。当該試験の一つの具体例では、一対のＰＣＲプライマーは、ＳＮＰを含むＤＮＡ試料のゲノム領を増幅するために使用される。当該プライマーの一つは、ビオチン化され、これによりストレパヴィジン（streptavidin）で被覆したマイクロタイタープレートにビオチン化産物鎖を連続的に結合させることができる。一方、非ビオチン化鎖はアルカリで洗浄して除去される。一つのアレルに厳密に一致するオリゴヌクレオチドプローブは、低温で固定化ＰＣＲ産物にハイブリダイズする。これは、ｄｓＤＮＡ挿入色素（例えばＳＹＢＲ Ｇｒｅｅｎ１）と相互作用するｄｓＤＮＡ領域を形成する。当該試験では、熱変性プロファイルにより、融解温度の差による２アレルＳＮＰの一塩基ミスマッチを識別することができる。ＳＮＰ遺伝子型の特定方法及びＳｅｑ－４０中のＳＮＰ検出へのその応用は、当業者により予想できる。

【０１００】

[遺伝的診断方法における本発明の多型]

本発明の多型はまた、精神分裂症を発症する危険が増している又は精神分裂症に苦しんでいる個体を識別することができる診断試験を開発するために使用できる。本発明の診断技術は、被験者が精神分裂症を発症する危険が増していることに関連する多型マーカーパターンを有しているか、あるいは個体が特定の突然変異と同時に起こる精神分裂症に苦しんでいるかを決定するための、家族調査、一本鎖の精子ＤＮＡ分析又は体細胞雑種等のハプロ型を特定するための個体の染色体の解析を可能にする方法を含み、種々の手段を使用してもよい。

【０１０１】

[個体のハプロタイプの決定]

個体の同一染色体断片上の特定の多型部位を占めるヌクレオチド（ハプロタイプ）を同定することは特に利点がありそうである。本発明は、患者のＳｅｑ－４０ハプロタイプの存在又は不存在により、配列番号１の位置１９４、６０１、１０２９、１０３８、１０７４、２１０６、２１８５、２３５９、２６６３及び２７９６に多型部位を含む核酸を含む試料を患者から取得することによって、精神分裂症の診断法又は精神分裂症を発症する傾向を決定する方法を更に提供する。すなわち、配列番号１の位置１９４、６０１、１０２９、１０３８、１０７４、２１０６、２１８５、２３５９、２６６３及び２７９６の多型部位のいずれかの近傍のヌクレオチド配列に相補的なオリゴヌクレオチドプライマー対を使用して、核酸を酵素的に増幅させることによって、多型部位のいずれか又は他のＳｅｑ－４０多型部位を含む増幅産物を取得し、次いでＳｅｑ－４０のハプロタイプを決定することにより、上記方法を提供する。

【０１０２】

ハプロタイプを決定するために、当業者は、増幅産物を直接、塩基配列決定し、あるいは配列分析の前にベクターにサブクローニングすることができることを理解している。Amersham Life Science (Arlinton Heights, III)からの配列ＴＭキットを含む市販の塩基配列決定キットは、本発明の方法で増幅産物の塩基配列を決定するために使用できる。自動塩基配列決定分析も有用であり、Prism 377 DNA Sequencer又は373 DNA Sequence等の自動塩基配列決定装置は、例えばApplied Biosystems (Foster City, Calif；また、ここに参考として示した、Frazier et al., Electrophoresis 17:1550-1552 (1996)を参照)から市販されている。二倍体ゲノムのコピーは、いずれも、個体のハプロタイプ組成が直接配列分析から予測され得る配列を生成する。

【０１０３】

一つの染色体は、例えば、非対称ＰＣＲ増幅（Newton et al., Nucleic Acids Res., 17:

2503-2516, 1989；Wu et al., Proc. Natl. Acad Sci. USA, 86: 2757, 1989を参照）、あるいは限界希釈によって一つの染色体を単離した後ＰＣＲ増幅を行う（Ruano et al., Proc. Natl. Acad Sci. USA, 86: 6296-6300, 1990を参照）ことによって、別々に研究できる可能性がある。更に、試料を、特定のアレルのダブルＰＣＲ増幅によって、多型マーカーに十分に近いハプロタイプを特定してもよい（Sarkar, G. and Sommer S. S., Biotechniques, 1991を参照）。

【０１０４】

本発明は、個体が精神分裂症を発症する危険性があるか、あるいは本発明の突然変異又は多型と同時に起こる精神分裂症に苦しんでいるかを決定する診断方法を提供する。本発明はまた、個体が精神分裂症疾患に作用する薬剤に明確に効き目を示す可能性があるか、あるいは個体が精神分裂症疾患に作用する薬剤に反対の副作用を示す危険にあるかを決定する方法を提供する。

【０１０５】

当該方法は、個体から核酸試料を取得し、次いで核酸試料が、当該形質を発現する危険を示唆し、あるいは個体がアレルの原因となる形質を有している結果として、当該形質を発現することを示唆する、少なくとも一つのアレル又は少なくとも一つの多型ハプロタイプを含むかどうか決定することを含む。

【０１０６】
当該診断方法において、好ましくは、核酸試料は個体から得られ、当該試料は上述の方法を用いて遺伝子型が特定される。診断は、一塩基多型又は多型の群に基く。当該方法のそれぞれでは、核酸試料は被験者から得られ、表１及び２に示した１以上の多型マーカーの多型パターンが決定される。
【０１０７】
一つの具体例では、ＰＣＲ増幅は核酸試料で行われ、検出可能な表現型に関連する多型が同定される領域が増幅される。増幅産物は、個体が検出可能な表現型に関連する１以上の多型を有しているかを決定するために塩基配列決定される。増幅産物を生成するために使用されるプライマーは、表４に記載のプライマーを含んでもよい。あるいは、個体が、突然変異や多型から得られる検出可能な表現型に関連する１以上の多型を候補遺伝子の中に有しているかを決定するために、核酸試料を、上述のマイクロ塩基配列決定反応に供される。マイクロ塩基配列決定反応で使用したプライマーは、表４に記載のプライマーを含んでもよい。他の具体例では、核酸試料は、検出可能な表現型に関連する１以上の候補遺伝子アレルと特異的にハイブリダイズする、１以上のアレル特異的オリゴヌクレオチドプライマーと接触させる。ハイブリダイゼーションアッセイに使用したプローブは、表４に記載のプローブを含んでもよい。
【０１０８】
好ましい具体例では、配列番号１の位置１９４、６０１、１０２９、１０３８、１０７４、２１０６、２１８５、２３５９、２６６３及び２７９６に多型部位を含む群より選ばれる２アレルマーカーの少なくとも一つに存在するヌクレオチドの同一性を決定し、また検出可能な形質は精神分裂症である。
【０１０９】
当該診断方法は、ある条件下では、予防的治療を開始し、あるいは軽微な症状等の警告サインを予知する重要なハプロタイプを個体にもたらすために使用できるので、非常に有用である。症状が非常に急激に起こり、遅れずに治療しないと死に至ることがある、例えば喘息等の疾患では、潜在的な素因に関する知識は、当該素因が絶対でないにしても、治療効果に非常に重要な方法で役立つ。同様に、副作用の可能のある素因との診断は、診断された素因は、直ちに、このような副作用が臨床試験中に観察されない治療へと医師を導くことができる。
【０１１０】
診断学は、薬物に対する反応又は薬物に対する副作用を分析及び予知するものであるが、個体が特定の薬物で治療される必要があるかを決定するために使用される。例えば、個体が特定の薬物の治療に積極的に反応しそうであるとの診断であれば、当該薬物は当該個体に投与される。逆に、個体が特定の薬物の治療にあまり反応しなさそうであるとの診断であれば、別の治療コースが指示される。消極的な反応とは、効果的な反応の欠如又は有毒な副作用の存在として定義される。
【０１１１】
臨床薬試験は、本発明のマーカーに関しては別の利用を意味する。精神分裂症に作用する薬物に反応する１以上のマーカー又は精神分裂症に作用する薬物の副作用を示す１以上のマーカーは、上述の方法を使って同定される。従って、当該薬物の臨床試験の被験者は、薬物に好ましく最も反応しそうで、副作用を経験しそうにない個体を識別するためにスクリーニングされる。すなわち、薬物治療の効果は、試験中に積極的に反応しそうにない個体を包含した結果、測定値を低減させることなく、あえて望ましくない安全性を問題にすることなく、薬物に積極的に反応する個体で測定される。本発明のポリヌクレオチドを含む診断キットは、更に以下に述べる。
【０１１２】
[診断キット]
本発明は更に、上述の少なくとも一つのアレル特異的オリゴヌクレオチドを含むキットを提供する。結果的にアミノ酸の置換であるアレルの場合には、キットは、関連のあるエ

ピトープに対する抗体を含んでもよい。キットは、種々の形の多型にハイブリダイズする１対以上のアレル特異的オリゴヌクレオチドを含むことがある。キットに中には、アレル特異的オリゴヌクレオチドは、基質に固定されて提供される。例えば、同じ基質は、記載した多型の両方を検出するためのアレル特異的オリゴヌクレオチドプローブを含むことができる。目に見える追加のキット成分は、例えば制限酵素、逆転写酵素又はポリメラーゼ、基質ヌクレオチド三リン酸、標識に用いられる手段（例えば、標識がビオチンならば、アビジン酵素複合体、酵素基質及び色原体）、逆転写、ＰＣＲ又はハイブリダイゼーション反応のための好適な緩衝液を含む。一般的に、キットは、当該方法を実施するための指示も含む。

【０１１３】

本発明は、個体が、精神分裂症と関連するＳｅｑ－４０多型を有するか否かを決定するために用いられる。当該Ｓｅｑ－４０多型は、一般的集団の上記多型頻度と精神分裂症のヒトの多型頻度とを比較する集団解析において、遺伝的危険因子であることが判明している。もし例えば上記多型が一般的集団では３％の頻度で起こるが、精神分裂症のヒトでは３０％の頻度で生じるならば、上記多型の試験は、精神分裂症を発症する高い危険性を有する個体であると判かるだろう。当該情報は、精神分裂症を発症する危険性が増大している個体を将来、時を違えずに予知的に同定するか、あるいは臨床試験で精神分裂症を発症している個体であって、そのため、統合失調症、あるいは分裂情動性障害－二極性、分裂情動性障害－憂鬱、分裂病性人格障害、非感情的心因性鬱病（分裂病様障害、妄想性障害、心因性鬱病ＮＯＳ）、感情不調和的心因性鬱病、誇大妄想的障害又は分裂性人格障害などの他の関連疾患にかかりそうであると診断されてもよい個体を診断的に同定するために使用される。

【０１１４】

予知又は診断の目的のための前記Ｓｅｑ－４０多型分析は、ＳＮＰを正確に検出することができるいずれかの技術、すなわちフィルター上でのアレル特異的ハイブリダイゼーション、アレル特異的ＰＣＲ、ＰＣＲプラス制限酵素消化（ＲＦＬＰ－ＰＣＲ、変性キャピラリー電気泳動、プライマー伸張、飛行時間型質量分析及び５’ヌクレアーゼ（Ｔａｑ－Ｍａｎ）アッセイを含むがこれらに限定されない、の一つによって実施される。

【０１１５】

ＳＮＰ遺伝子型を特定する好ましい方法は、分析される各ＳＮＰの広範囲にわたる最適化を必要としない、大規模で、自動化された分析である必要がある。当該例は、マイクロタイタープレート（Hybaid）型及び「シングル・ストリンジェント」ＤＮＡチップハイブリダイゼーション（Affymetrix）に従う、ＤＡＳＨ（動的アレル特異的ハイブリダイゼーション）である。

【０１１６】

[本発明の多型マーカーを使用する遺伝的分析方法]

多型の分類が一旦確立した場合には、特定の形の多型を表現型の存在又は不存在と関連付けようとすることは望ましい。我々は、本発明の一定の多型と精神分裂症の表現型との関連を確立してきたが、本発明は、他の病状又は精神分裂症もしくは他の疾患の薬物治療への感受性の解析のためのマーカーとして、本発明の多型部位の利用を検討するものであり、あるいは本発明が、ヒトゲノムの部分的又は完全ないずれかの遺伝子マップに含まれていてもよいことは明らかである。

【０１１７】

本発明の多型マーカーは、遺伝子型と表現型との統計的に意義のある関係を証明するために当該分野で知られた方法で使用できる。種々の方法が複合形質の遺伝子解析に利用できる（Lander and Schork, Science, 265, 2037-2048, 1994参照）。多型が表現型形質と関連があるかを決定するためには、３種の方法が使用できる。すなわち、証拠を、座位と家族調査を利用する推定形質座位の共分離に求める連鎖解析；証拠を、アレルと形質もしくはアレルの原因となる形質との統計的に意義のある関連に求める相関解析；及び連鎖及び相関の両方を試験する伝達不平衡テストである。

【０１１８】
多型マーカーは、パラメーター連鎖解析又は非パラメーター連鎖解析で使用してもよい。好ましくは、本発明の多型マーカーは、ケースコントロール法、あるいは患者群を利用する必要がなく、複雑で散発性の形質に関連する遺伝子を同定する解析法などの相関解析を用いて、精神分裂症又は他の疾患と関連する遺伝子を同定するために使用される。
【０１１９】
本発明の多型マーカーを用いる遺伝子解析は、どのようなスケールでも実施できる。本発明の多型マーカーの全セット又は本発明の多型マーカーのいずれかのサブセットを使用してもよい。更に、本発明の多型マーカーを含む遺伝子マーカーのセットならいずれのセットを使用してもよい。本発明の多型マーカーと組み合わせて遺伝子マーカーとして使用される２アレル多型セットは、国際公開第９８／２０１６５号パンフレットに記載されている。上述のように、本発明の多形マーカーは、ヒトゲノムの完全な又は部分的ないずれかの遺伝子マップに含まれていてもよい。
【０１２０】
このような相違の利用については、本発明及び特許請求の範囲で特に検討されている。
【０１２１】
［Ａ．連鎖解析］
連鎖解析は、遺伝子マーカーの伝達と、家族内の世代を通した特定の形質の伝達との関係の確立に基いている。従って、連鎖解析の目的は、家系の中の対象とする形質との共分離を示すマーカー座位を検出することである。
【０１２２】
パラメーター法
データが連続世代から得られる場合には、一対の座位の連鎖程度を解析する機会がある。組換え画分の評価により、座位が指図され、遺伝子マップ上に置かれる。遺伝子マーカーである座位と共に、遺伝子マップが作られる。マーカーと形質と連鎖の強度が計測され、マーカーと形質に影響を与える遺伝子との相対的位置を示すために使用される。連鎖解析の従来の方法は、ロッドスコア対数法である（Moton N. E., Am. J Hum. Genet., 7: 277-318, 1955;Ott J., Analysis of Human Genetic Linkage, John Hopkins University Press, Baltimore, 1991参照）。ロッドスコアの計算は、疾患の遺伝様式の特定を必要とする（パラメーター法）。一般的に、連鎖解析を使って同定される候補領域の長さは、２～２０Ｍｂである。上述のように、候補領域が一旦同定されると、追加のマーカーを用いる組換え体の解析により更に、候補領域が分離される。連鎖解析研究は、一般的に、理論的に最も達成できる連鎖解析の分離能を平均で約６００ｋｂまでに限定する、最高５０００のマイクロサテライトマーカーの使用に頼ってきた。
【０１２３】
連鎖解析は、メンデルの遺伝パターンを明確にし、高い浸透率（例えば、アレルのポジティブ形質キャリア数と集団中のキャリアの総数との割合）を有する簡易な遺伝的形質をマッピングするために首尾よく利用されてきた。しかしながら、パラメーター連鎖解析には、種々の欠点があることが問題である。第一に、解析される個々の形質に好適な遺伝子モデルの選択に依存せざるをえない。更に、既述のように、連鎖解析を用いて達成できる分離能には制限があり、連鎖解析によって最初に同定される典型的な２Ｍｂ～２０Ｍｂ領域の解析を高めるには補足的な解析が必要とされる。更に、パラメーター連鎖解析は、多数遺伝子及び／又は環境因子を組み合わせた作用などの複雑な遺伝的形質に利用される場合には、困難であることが判明した。ロッドスコア解析において、当該因子を十分にモデル化することは非常に困難である。このようなケースでは、最近、Risch, N. and Merikangas, K.によって論じられたように、多大な努力とコストが必要とされるため、当該状況に連鎖解析を利用するために必要とされる十分な数の患者群を集めることができない（Science, 273: 1516-1517, 1996）。
【０１２４】
非パラメーター法

連鎖解析のためのいわゆる非パラメーター法の利点は、非パラメーター法が疾患の遺伝様式の特定を必要とないことであり、一般的に、複合形質の解析に有用であることである。非パラメーター法では、患者の身内が、染色体領域と同一の複製物を思いがけなく予想以上に頻繁に受け継ぐことを示すことにより、染色体領域の遺伝的パターンが、ランダムなメンデル性分離とは一致しないことを明らかにしようとする。患者の身内は、浸透率が不完全でかつポリジーン遺伝が存在する場合でさえも、過度な「アレル共有」を示す必要がある。非パラメーター連鎖解析では、２個体中のマーカー座位の一致程度は、症状が同一のアレル数（ＩＢＳ）又は家系が同一のアレル数（ＩＢＤ）によって測定することができる。患者の兄弟姉妹の解析は、よく知られた特別のケースであり、当該方法の最も簡単な形態である。

【０１２５】

本発明の多型マーカーは、パラメーター連鎖解析及び非パラメーター連鎖解析の両方で使用される。好ましくは、多型マーカーは、複合形質に含まれる遺伝子マッピングを可能にする非パラメーター法で使用される。本発明の多型マーカーは、複合形質を左右する遺伝子をマッピングするために、ＩＢＤ法及びＩＢＳ法の両方で使用される。当該解析では、高密度多型マーカーを利用して、種々の隣接多型マーカー座位が集められ、マルチアレルマーカーによって得られる効率を達成できる（Zhao et al., Am. J Hum. Genet., 63: 225-240, 1998）。

【０１２６】

しかしながら、パラメーター連鎖解析法及び非パラメーター連鎖解析法はいずれも、患者の身内との面会を必要とし、薬物反応の遺伝的解析又は治療に対する副作用の解析では、有用性が限られてしまう傾向にある。このタイプの解析は、家族的ケースの有用性に欠けるため、当該ケースでは実用的でない。

【０１２７】

［Ｂ．集団相関解析］

本発明は、本発明の多型マーカーを用いる検出可能な形質と関連する多型マーカーを同定するための方法を含む。一つの具体例では、本発明は、多型マーカーアレル又は多型マーカーハプロタイプと、形質との関連を検出するための方法を含む。更に、本発明は、本発明の多型マーカーアレルと連鎖不平衡にあるアレルの原因となる形質を同定する方法を含む。

【０１２８】

上述のように、相関解析は、一般群内で実施され、患者群の身内で行われる解析に限定されない。相関解析は、散発性形質又は多因子形質の解析ができるので、非常に有用である。更に、相関解析は、連鎖解析よりもアレルの原因となる形質をより正確にマッピングできるファイン・スケール・マッピングのための有力な方法を提示する。家系に基く解析は、アレルの原因となる形質の位置を狭くしてしまうことがある。従って、本発明の多型マーカーを用いる相関解析は、連鎖解析法によって同定される候補領域にアレルの原因となる形質の位置の精度を高めるために用いることができる。本発明の多型マーカーは、特定の遺伝子が形質と関連していることを証明するために使用できる。このような使用は、本発明及び特許請求の範囲で特に検討されている。

【０１２９】

多型マーカーを用いて相関解析を実施する一般的な手段は、本発明の多型マーカーの両群中のアレル頻度を測定し、統計的に比較するために、２群の個体（ケースコントロール群）をスキャンすることである。

【０１３０】

形質と統計的に重要な相関が、少なくとも１以上の解析された多型マーカーについて同定されるならば、関連アレルが形質を直接引き起こすのか（関連アレルは、アレルの原因となる形質）、あるいは、おそらく、関連アレルがアレルの原因となる形質と連鎖不平衡にあるかを推定することができる。候補遺伝子機能に関する関連アレルの特徴は、一般的に、関連アレルと形質（原因又は連鎖不平衡）との関係に更に見識を提供する。候補遺伝

子内の関連アレルが、おそらくアレルの原因となる形質ではなく、アレルの原因となる真の形質と連鎖不平衡であるという証拠が示されれば、アレルの原因となる形質は、関連マーカーの近傍を塩基配列決定することによって発見できる。

【０１３１】

相関解析は、通常、２つの連続したステップで行われる。第一相では、種々の多型マーカーの頻度は、ポジティブ形質集団及びネガティブ形質集団において測定される。解析の第二相では、候補遺伝子及び特定の形質の原因である遺伝子座の位置の同定は、関連領域由来の高密度マーカーを用いて精度が高められる。

【０１３２】

ハプロタイプ解析

上述のように、疾患アレルを有する染色体が、突然変異又は転移の結果として群中に最初に現れる場合には、突然変異アレルは、一組の連鎖マーカーを有する染色体上に必ず存在する。すなわち、親譲りのハプロタイプである。当該ハプロタイプは、集団を通して続き、特定の形質との統計的相関が解析できる。単点（アレル）相関解析を、ハプロタイプ相関解析とも言われる多点相関解析で補足すると、相関解析の統計的解析力を向上させる。従って、ハプロタイプ相関解析により、頻度や親譲りのキャリアハプロタイプの精度を高めることができる。ハプロタイプ解析は、個体マーカーを含む統計的解析力を向上させる点で重要である。

【０１３３】

ハプロタイプ頻度解析の第一段階では、本発明の同定された多型マーカーの様々な組み合わせに基く可能なハプロタイプ頻度が決定される。ハプロタイプ頻度は、明確なポジティブ形質集団及びコントロール群と比較される。ポジティブ形質は、当該解析に供され、、通常３０～３００の範囲、好ましくは５０～１５０の範囲の統計的に重要な結果が得られる。同じ検討事項は、解析に使用される健常群数（又はランダムコントロール）に適用される。当該第一の解析結果より、各々についてハプロタイプ頻度をｐ値で評価する、ケースコントロール群のハプロタイプ頻度が決定され、奇数比が計算される。統計的に重要な相関が見出されるならば、形質の影響を受ける特定のハプロタイプを有する個体についての相対危険率が解析中に見積もられる。

【０１３４】

相互作用解析

本発明の多型マーカーは、ポリジーン相互作用から得られる、検出可能な形質と関連する多型マーカーのパターンを同定するために使用してもよい。非連鎖の座位のアレル間の遺伝的相互作用の解析では、ここで記述した技術を用いる個体の遺伝子型特定が必要である。好適なレベルの統計的有意性と選ばれた多型マーカーセットの間とのアレル相互作用の解析は、ハプロタイプ解析として考えられる。相互作用の解析は、第一の座位に対する特定のハプロタイプに関してケースコントロール群を階層化し、次いで第二の座位で各小群についてハプロタイプ解析を実施することからなる。

【０１３５】

相関解析に用いる統計的方法を以下に更に記載する。

【０１３６】

１．集団の多型マーカーアレル又は多型マーカーハプロタイプの頻度の決定

集団のアレル頻度の決定

集団の多型マーカーのアレル頻度は、上述の方法の一つ又は意図した目的に相応しいいずれかの遺伝子型特定方法を使って決定される。遺伝子型特定集団試料又は遺伝子型特定個体試料により、集団中の多型マーカーアレルの頻度を決定することができる。要求されている、遺伝子型特定の数を減ずる一つの方法は、集団試料を使用することである。集団試料を使用する主な問題点は、正確性と、プール構築での正確なＤＮＡ濃度測定の再現性である。遺伝子型特定個体試料は、高い感受性、再現性及び精度を付与し、本発明で用いられる好ましい方法である。好ましくは、各個体は別々に遺伝子型が特定され、単一の遺伝子の集計は、多型マーカーのアレル頻度又は特定の集団中の遺伝子型の頻度を決定する

ために使用される。

【０１３７】

集団のハプロタイプ頻度の決定

ハプロタイプの配偶子相は、二倍体が１以上の座位でヘテロ接合体である場合には知られていない。家族の系図情報を用いて、配偶子相が推定されることがある（Perlin et al., Am. J Hum. Genet., 55: 777-787, 1994）。系図情報が得られない場合には、種々の方法が使用できる。一つの可能性は、ホモ接合体及び単一部位ヘテロ接合体を維持しながら、多部位ヘテロ接合二媒体を解析から消去する方法であるが、当該方法は試料組成に偏りを招き、低頻度ハプロタイプを過小評価してしまうことがある。先述のように、他の可能性としては、例えば対称ＰＣＲ増幅によって解析する（Newton et al., Nucleic Acids Res., 17: 2503-2526, 1989; Wu et al., Proc. Natl Acad Sci. USA, 86: 2757, 1989参照）、又は限界希釈によって単一の染色体を単離した後、ＰＣＲ増幅する（Ruano et al., Proc. Natl Acad Sci. USA, 87: 6296-6300, 1990参照）ことによって、単一の染色体を別々に解析することができる。

【０１３８】

更に、試料は、特異的アレルの二重ＰＣＲ増幅によって、十分に近い多型マーカーにハプロ型の特定をすることができる（Sarkar, G. and Sommer S. S., Biotechniques, 1991）。当該方法は、その技術的複雑さのため追加の費用が必要とされたり、大規模に世代が欠けていたり、あるいは当該方法の偏りのため、全体的に満足できるものではない。このような欠点を克服するため、Clark A. G.（Mol Biol Evol, 7: 111-122, 1990）によって導入されたＰＣＲ増幅ＤＮＡ遺伝子型相を推定するアルゴリズムを用いてもよい。すなわち、その原理は、明確な個体を試験することによって、試料中に存在するハプロタイプ、つまり完全なホモ接合体及び単一部位ヘテロ接合体の一次リストを満足することから始まる。同一試料中の他の個体については、既知のハプロタイプの可能な存在をスクリーニングする。各ポジティブ同定に関し、全個体の相情報が解析されるかあるいは解析されずに同定されるまで、相補的ハプロタイプを既知のハプロタイプのリストに加える。当該方法により、単一のハプロタイプは、各々の複数ヘテロ接合体に帰属される。これは、種々のハプロタイプが１以上のヘテロ接合部位である場合に可能となる。

【０１３９】

あるいは、ハプロタイプを各個体に帰属することなく、集団のハプロタイプ頻度を推定する方法を使用することができる。好ましくは、Hardey-Weinberg平衡（任意交配）の条件下で、ハプロタイプ頻度の最尤度を導く期待最適化（ＥＭ）アルゴリズム（Dempster et al., J R. Stat. Soc., 39B: 1-38, 1977）に基く方法を用いる（Excoffier L. and Slatkin M., Mol Biol Evol, 12(5): 921927, 1995参照）。ＥＭアルゴリズムは、反復最尤度法から生まれたものであり、データが不明確及び／又は不完全である場合に有用な推定ができる。ハプロタイプ推定は更に、「統計的方法」との表題の下、以下に説明される。集団のハプロタイプを決定又は推定するための当該分野で知られた他のいずれかの方法を使用してもよい。

【０１４０】

２．連鎖不平衡解析

連鎖不平衡は、２以上の座位でのアレルの非ランダム相関であり、疾患形質に含まれる遺伝子をマッピングするための強力な手段を提供する（Ajioka R. S. et al., Am. J Hum. Genet., 60: 1439-1447, 1997）。多型マーカーは、ヒトゲノムに高密度に挿入され、他のタイプの遺伝子マーカー（例えばＲＦＬＰ又はＶＮＴＲマーカー）よりも多数について遺伝子型の特定がなされているため、連鎖不平衡に基く遺伝的解析に特に有用である。本発明の多型マーカーは、当該分野で知られるいずれかの連鎖不平衡解析法に使用してもよい。

【０１４１】

すなわち、疾患突然変異が最初に集団に導入された場合（突然変異キャリアの新規突然変異又は転移）、それは必ず、単一染色体上、及び連鎖マーカーの単一「生い立ち」又は

「親譲り」ハプロタイプ上に存在する。従って、当該マーカーと疾患突然変異との間には完全な不平衡がある。すなわち、特定のセットのアレルマーカーの存在下でのみ、疾患変異を見出される。世代を通して、組換えは、疾患突然変異と当該マーカー多型との間に起こり、不平衡は徐々に分散する。この分散速度は、組換え頻度の一機能であり、そのため、疾患遺伝子に最も近いマーカーは、分散していくものよりも高い不平衡レベルを呈する。組換えによって分散しない場合には、「親譲り」のハプロタイプ及び種々の座位のマーカーアレル間の連鎖不平衡は、家系ではなく集団を通して続く。連鎖不平衡は、通常、一座位の一つの特定のアレルと、第二座位の別のアレルとの相関として見られる。

【０１４２】

疾患とマーカー座位間の不平衡のパターン又はカーブは、最高値を示し、疾患座位で起こると予測される。従って、疾患アレルと近接連鎖遺伝子マーカー間の連鎖不平衡の程度は、疾患遺伝子の位置に関する有益な情報を提供する。疾患座位のファイン・スケール・マッピングに関し、解析領域のマーカー間に存在する連鎖不平衡のパターンについて知識を有することは有用である。上述のように、連鎖不平衡解析を通して得たマッピング分解は、連鎖解析の分解よりも極めて高い。連鎖不平衡解析と組み合わせた高密度多型マーカーは、ファイン・スケール・マッピングのための強力な手段を提供する。

【０１４３】

最初の多型が対象とするゲノム領域で一旦同定されると、当業者は、本発明の技術を用いて、連鎖不平衡にある他の多型マーカーを最初のマーカーと容易に識別することができる。先述のように、ある形質と関連する最初のマーカーと連鎖不平衡にあるマーカーならいずれも当該形質と相関する。従って、一旦、相関が特定の多型マーカーと形質間で証明されると、当該形質と関連する他の多型マーカーの発見は、特定の領域の多型マーカーの密度を高めることから、非常に興味深いことである。原因遺伝子又は突然変異は、形質と高い相関関係を示すマーカー又はマーカーセットの近傍で見られる。

【０１４４】

特定のマーカーと連鎖不平衡にある別のマーカーの同定は、（ａ）多数の個体から第一の多型マーカーを含むゲノム断片を増幅すること、（ｂ）上記第一の多型マーカーに隣接するゲノム領域の第二の多型マーカーを同定すること、（ｃ）上記第一の多型マーカーと上記第二の多型マーカー間の連鎖不平衡解析を実施すること、次いで（ｄ）上記第二の多型マーカーを上記第一の多型マーカーと連鎖不平衡にあるものとして選択すること、を含む。ステップ（ｂ）及び（ｃ）を含むサブコンビネーションも考えられる。

【０１４５】

多型マーカーを同定し、連鎖不平衡解析を実施する方法は、ここに記載され、必要以上の経験がない当業者によって実施することができる。本発明はまた、図１に示される特定の多型マーカーと連鎖不平衡にあり、かつ特定の形質との相関の点から類似した特徴を示すと期待されている多型マーカーに関する。

【０１４６】

連鎖不平衡を計算する種々の方法は「統計的方法」という題目で以下に記載されている。

【０１４７】

３．形質マーカー関連の個体系ケースコントロール解析

上述のように、同一の染色体上の異なった座位の特体のアレル対の存在は、ランダムではなく、ランダムからの偏りは連鎖不平衡と言われる。相関解析は集団頻度に焦点を合わせ、連鎖不平衡の現象によるものである。特定の遺伝子中の特定のアレルが、直接、特定の形質を引き起こしているならば、その頻度は、ネガティブ形質群又はランダムコントロール群の頻度に比べると、患者（ポジティブ形質）群で統計的に増加する。連鎖不平衡の存在の結果として、アレルの原因となる形質を有するハプロタイプ中に存在する他の全てのアレル頻度もまた、ネガティブ形質群又はランダムコントロール群の頻度に比べてポジティブ形質群では増加する。従って、形質と、アレルの原因となる形質との連鎖不平衡にあるいずれかのアレル（特に多型マーカーアレル）との相関は、特定領域中の形質相関遺

伝子の存在を十分に示唆するものである。ケースコントロール群では、多型マーカーの遺伝子型を特定し、アレルの原因となる形質の位置を狭く特定する相関を同定することができる。形質と関連する一つの特定のマーカーと連鎖不平衡にあるいずれかのマーカーは、当該形質と相関関係を有する。連鎖不平衡は、アレルの原因となる形質を見つけるために、可能性のある機能性多型の全てをスクリーニングする他の方法として、少数の遺伝的多型（特に多型マーカー）のケースコントロール群の相対的頻度の解析を可能にする。相関解析は、非相関ケースコントロール群のマーカーアレルの頻度を比較し、複合形質の解析のための強力な手段を提供する。

【０１４８】

ケースコントロール群（基準を含む）

集団系相関解析は、家族性遺伝とは関連しないが、ケースコントロール群中の特定の遺伝子マーカー又は一組のマーカーの罹患率を比較する。これは、非相関ケース（患者又はポジティブ形質）群と非相関コントロール（健常、又はランダム）群との比較に基いている。好ましくは、コントロール群は、健常又はネガティブ形質群からなる。更に、コントロール群は、ケース群と民族的に一致している。更に、コントロール群は、好ましくは、解析中の形質（例えば年齢依存的形質に一致する年齢）についての主な既知の混同因子に関し、ケース群と一致している。理想的には、２試料中の個体を、当該試料が病状の点でのみ相違すると予想される方法で一組とする。次いで、「ポジティブ形質群」、「ケース群」及び「患者群」を交互に使用する。

【０１４９】

相関解析を使用する複合形質の分析の重要なステップは、ケースコントロール群の選択である（Lander and Schork, Science, 265, 2037-2048, 1994参照）。ケースコントロール群の選択の重要なステップは、特定の形質又は表現型の臨床的な同定である。遺伝的形質は、ここで提案した相関法によって、ポジティブ形質及びネガティブ形質表現型群に含まれるように個体を注意深く選択することにより解析される。４つの基準、すなわち臨床的表現型、初期年齢、家族歴及び深刻さは、場合によっては有用である。連続的又は定量的な形質（例えば血圧）の選択手段としては、重複しない表現型を有するポジティブ形質群及びネガティブ形質群に含むようにするため、解析中の形質の表現型分布の反対方向端部にある個体の選択を含む。好ましくは、ケースコントロール群は表現型的には同質の集団である。

【０１５０】

ポジティブ形質群及びネガティブ形質群は、解析中の総集団の１～９８％。好ましくは１～８０％、より好ましくは１～５０％、更により好ましくは１～３０％、最も好ましくは１～２０％を表す、表現型的に同一の集団からなり、重複しない表現型を示す集団より選ばれる。２つの形質表現型間の差が明確になればなる程、多型マーカーとの相関を検出する確率が大きくなる。劇的に相違するが比較的同質の表現型の選択は、解析中の群の試料サイズが著しく十分であるならば、相関解析の効率的な比較を可能にし、遺伝子レベルでの顕著な相違を検出することができる。

【０１５１】

好ましい具体例では、５０～３００のポジティブ形質群、好ましくは約１００のポジティブ形質群の第一グループは、その表現型に従って集められる。同数のネガティブ形質群は当該解析に含まれる。

【０１５２】

本発明では、包含される基準の一般的な例は、ＣＮＳ障害又はＣＮＳ障害に作用する薬物反応の評価又はＣＮＳ障害に作用する薬物による治療に対する副作用である。

【０１５３】

本発明の多型マーカーを含む多型マーカーを用いる相関解析の好適な例は、次の群を含む解析である。

１．精神分裂症に作用する薬剤で治療し、治療によって副作用に苦しんでいるケース群、及び同じ薬剤で処理して副作用を示さないコントロール群、あるいは

２．精神分裂症に作用する薬剤で治療し、有効な反応を示したケース群、及び同じ薬剤で処理して有効な反応を示さなかったコントロール群。
３．他のＣＮＳ障害に苦しんでいるケース群、及び健常なコントロール群。
【０１５４】
実施例２－ケースコントロール解析
我々は、承認された精神分裂症のＤＳＭ－ＩＶ診断薬により、患者から得られた３０９の精神分裂症の試料全てについて解析を行った。患者から得られた２６４の精神分裂症のＤＮＡ試料を、PrecisionMed（132 North Acacia Avenue, Solana Beach, California 92075)によって回収した試料から取得し、McGill University Genbankに寄託し、４５のＤＮＡ試料を精神衛生精神分裂症遺伝学的イニシアティブ国立研究所（National Institute of Mental health Schizophrenia Genetics Initiative）から取得した。ＳＣＩＤ試験（American Psychiatric Press）を使ってスクリーニングした１９０のＣＮＳコントロール試料のＤＮＡを、コントロールとして使用した。各ＤＮＡ試料から２５ｎｇを、３０９の精神分裂症試料及び１９０のＣＮＳ試料用の３８４ウェルプレートに入れ、乾燥し、－２０℃で保存した。２群の特徴を以下の表３に示す。
【０１５５】
【表７】

表３

表現型データ	プレシジョン・メド1002 精神分裂症	CNS対照白人種
	非同定	匿名
年齢	マッチ	マッチ
性別	マッチ	マッチ
民族性	親起源白人種	祖父母起源白人種
DSM-IV診断	x	
Ht/Wt	ランダム	ランダム
前抗精神メッズ（Previous anti-psych meds）	x	
コンコム・メッズ（Concom meds）	x	
家族Hx精神分裂症	x	x
SCID		x
SCID追跡１年		x
ミニ・メンタル		x
ラブズ（Labs）		x
ニューロ試験		x

【０１５６】
ＴａｑＭａｎ（登録商標）ＭＧＢプローブのアレル識別
試料のアレル識別のために、我々は、ＴａｑＭａｎ（登録商標）アッセイ法を用いた。当該方法は、設計された２プローブを含み、そのうちの一つはより一般的なアレル（アレル１）であり、もう一つは少なくても一般的なアレル（アレル２）を含む。当該２つのプローブは、２つのアレルの識別に用いる異なった蛍光レポーター色素（FAM and VIC）及び非蛍光停止色素を含む。フォワード及びリバースプライマーは、プローブを隣接させて設計され、７５～１５０ｂｐのＰＣＲ産物を与える。当該２つのプローブ及びプライマーは、ＰＣＲアッセイでＤＮＡに添加される。ＤＮＡ試料がアレル１についてホモ接合体であるならば、アレル１に対するプローブはＰＣＲ産物にハイブリダイズし、レポーター色素は、ＴａｑＤＮＡポリメラーゼの５’ヌクレアーゼ活性によって切断され、レポーター

色素の蛍光は増加する。ＤＮＡ試料がアレル２についてホモ接合体であるならば、アレル２プローブに結合したレポーター色素の蛍光が増加する。試料がアレル１及び２についてヘテロ接合体であるならば、双方のレポーター色素において蛍光が増加する。

【０１５７】

ＰＣＲ反応後、蛍光をABI PRISM 7700配列検出器で読む。各ＳＮＰのプライマー及びＴａｑＭａｎ　ＭＧＢプローブ（登録商標）(Applied Biosystems)を、Primer Express version 1.5 （Applied Biosystems）を使って設計した。表４に、全てのプライマー及び各ＳＮＰに対するプローブを示す。表は、プローブがアレル１　ＳＮＰ又はアレル２　ＳＮＰを含むことを示している。ＳＮＰｓ１、２及び７については、プローブはセンス鎖用に設計され、ＳＮＰｓ３及び４については、プローブはアンチセンス（相補）鎖用に設計される。表４では、ＳＮＰヌクレオチドは太字で表し、下線を引いてある。Ａｌ１（アレル１）は、プローブがより一般的なアレル用のＳＮＰを含むことを示し、Ａｌ２（アレル２）は、プローブがよりレアアレル用のＳＮＰを含むことを示す。Ｆはフォワードプライマー、Ｐはリバースプライマーである。

【０１５８】

【表８】

表４　プライマー及びSeq-40に対するTagMan（登録商標）MGBプローブ

SNP	TaqMan MGBプローブ（すべて100μM） 配列番号：９～20	プライマー 配列番号:21～32
1	Al1:FAM-CAGGGTTGGGAACAT	F:AATATTTTCTTCACTCTGCAGTGTCTTTAC
	Al2:VIC-AGGGTTGGAAACATTA	R:AGGAAACTGGAAAATGGGAAGAG
2	Al1:FAM-ATGCTTACTATTTACACCCT	F:GTTGGTAACCAATGCAGATGGAA
	Al2:VIC-ATGCTTACTGTTTACACC	R:GAACCATTCCCTTGTTCCCAAT
4	Al1:FAM-TGCTCTTAATTTGATAAAA	F:GCGACTGTTGCACAGAGAAACT
	Al2:VIC-TGCTCTTAATTTCATAAAA	R:TATTGGAGATTGTTTCAACTGATAAATGT
6	Al1:FAM-TCATAAATGCTACCACTGTG	F:GACAGAATCATCCTCAGAGAGTTACAA
	Al2:VIC-AATCATAAATGCTATCACTGTG	R:TAAAGCCCATAAAGGCATCAATTAA
7	Al1:FAM-CCCTGCCTGTATTTA	F:GTTACCATATAGCATTGATTCATTAATTGA
	Al2:VIC-CCCTGCCTATATTTA	R:TGGCTGAGTTATAATAAGCACACCAA
8	Al1:FAM-TAAGCAGTTGTATAGACGAA	F:AAAGAACAGTTCAGCAACCATGAAT
	Al2:VIC-ATATAAGCAGTTGGATAGAC	R:ATTTATTTGCTATTCATTCATAGTCTTACTTGA

【０１５９】

プライマーは、最終濃度１００μＭになるように、H_2Oに再懸濁した。ＰＣＲ反応は、次、すなわち、５μｌの２ＸＴａｑＭａｎ（登録商標）Universal PCR Master Mix、２００ｎＭの各プローブ、９００ｎＭのフォワード及びリバースプライマー、及び１０μｌまでのH_2Oからなる１０μｌで行った。この１０μｌを乾燥ＤＮＡ試料に加えた。次のコントロール、８の非鋳型コントロール、８のアレル１コントロール及び８のアレル２コントロールを各プレートで行った。アレル１及２アレル２コントロールは、実施例１で記載したＣｏｎ０１由来の２５μｇのＤＮＡを含んだ。プレートをTiter Plate Shakerに置き、５分間激しく振動させた後、１０００ｒｐｍで短時間遠心した。サーマルサイクリングは、次のサーマルサイクリング条件、５０℃で２分間、９５℃で１０分間、９２℃で５分間を３５サイクル、６０℃で１分間、９６００cycler（Applied Biosystems）で行った。蛍光シグナルは、ABI PRISM 7700配列検出器(Applied Biosystems)を使って検出し、エンドポイントプレート用の製造者の指示に従った。データをSDS software version 1.7（Applied Biosystems）で解析した。

【０１６０】

[結果]

選択したＳＮＰｓの全ての組換え体について、マッチ型のコントロール群とは反対の患者群で予想されるよりも高いレベル又は低いレベルで、それらの存在を試験した。ハプロタイプ頻度は、Expectation-Maximization（EM）algorithm Excoffier L. and Slatkin M

., Mol. Biol. Evol., 12 (5) :921-927, 1995）を使って計算した。

【０１６１】

Ｓ４を示した単一座位解析は、ｐ値０．０４６で精神分裂症に少し関連していた。我々は、Ｓｅｑ－４０で試験した６種のＳＮＰｓの可能な組み合わせ（全５０組み合わせ）の全てについて、２座位、３座位及び４座位のハプロタイプ解析を行った。２座位ハプロタイプ解析は、Ｓ２－Ｓ４及びＳ１－Ｓ４が０．０００４２及び０．０００６５に匹敵するｐ値（オムニバス検査）で、精神分裂症に関連することを示す。いずれのｐ値もBonferroni調整で有意である。３座位ハプロタイプ解析は、Ｓ１－Ｓ２－Ｓ３が、ｐ値が０．０００４５に匹敵する精神分裂症に（Bonferroni調整で）顕著に関連していることを示す。Ｓ２－Ｓ４－Ｓ６、Ｓ２－Ｓ４－Ｓ８、Ｓ１－Ｓ２－Ｓ４－Ｓ８及びＳ１－Ｓ２－Ｓ４－Ｓ６は、閾値０．００１で、若干Bonferroni調整した、０．００１４、０．００１８、０．００１２及び０．００１６に匹敵するｐ値を有する。個体のハプロタイプ有意の結果を、以下の表５に示す。

【０１６２】

【表９】

表５

座位	ﾊﾌﾟﾛﾀｲﾌﾟ	SCHIZO	CNSKID	全体	奇数比	P過剰	値	有意ﾚﾍﾞﾙ	座位-ﾊﾌﾟﾛﾀｲﾌﾟ	-log(p)
s2-s4	GC	0.19741	0.10428	0.1623	2.1128	10.39753	14.86454	0.00021	s2-s4:GC	3.677781
s1-s4	AC	0.17152	0.10089	0.14481	1.84509	7.856	9.49009	0.00213	s1-s4:AC	2.67162
s2-s6	GG	0.31839	0.23826	0.28882	1.49338	10.5188	7.29219	0.0112	s2-s6:GG	1.950782
s1-s6	AA	0.04619	0.08775	0.06107	0.5035	-4.55499	6.95004	0.02233	s1-s6:AA	1.651111
s1-s2	GG	0.02589	0.00267	0.01714	9.91362	2.32784	7.45589	0.02546	s1-s2:GG	1.594142
s4-s6	GA	0.04953	0.08572	0.0631	0.55587	-3.95769	5.16803	0.03099	s4-s6:GA	1.508778
s1-s6	AG	0.30009	0.23406	0.27595	1.40301	8.61989	5.10975	0.03211	s1-s6:AG	1.49336
s2-s4-s6	GCG	0.19256	0.10343	0.15871	2.06743	9.94226	13.84815	0.00046	s2-s4-s6:GCG	3.337242
s2-s4-s7	GCG	0.17478	0.09228	0.14398	2.08331	9.08833	12.88845	0.00103	s2-s4-s7:GCG	2.987163
s1-s4-s6	ACG	0.17152	0.10024	0.14504	1.85833	7.92224	9.60524	0.00176	s1-s4-s6:ACG	2.754487
s1-s2-s4	AGC	0.17152	0.1016	0.14516	1.83059	7.7824	9.17859	0.00223	s1-s2-s4:AGC	2.651695
s1-s4-s7	ACG	0.15887	0.08877	0.13234	1.93882	7.69281	10.08037	0.00261	s1-s4-s7:ACG	2.583359
s2-s4-s8	GCG	0.04481	0.00589	0.0296	7.91369	3.9151	12.01458	0.01527	s2-s4-s8:GCG	1.816161
s1-s2-s6	AGA	0.047	0.08807	0.06185	0.51064	-4.50409	6.71015	0.02358	s1-s2-s6:AGA	1.627456
s1-s2-s4	GGC	0.02589	0.00267	0.01714	9.91362	2.32784	7.45589	0.03015	s1-s2-s4:GGC	1.520713
s2-s6-s8	GGG	0.05388	0.01774	0.03937	3.15355	3.67931	7.8427	0.03034	s2-s6-s8:GGG	1.517984
s2-s6-s7	GGG	0.30163	0.23109	0.27516	1.43712	9.17466	5.81533	0.03077	s2-s6-s7:GGG	1.511873
s2-s4-s6	GGA	0.0495	0.08593	0.06303	0.55395	-3.98574	5.22077	0.03113	s2-s4-s6:GGA	1.506821
s1-s4-s6	AGA	0.04947	0.08555	0.06279	0.55634	-3.94527	5.14531	0.033	s1-s4-s6:AGA	1.481486
s2-s4-s8	GCT	0.1526	0.09895	0.13303	1.63988	5.95436	5.81779	0.03317	s2-s4-s8:GCT	1.479255
s1-s2-s6	AGG	0.29928	0.23546	0.27585	1.38683	8.34784	4.75793	0.03812	s1-s2-s6:AGG	1.418847
s2-s4-s6-s7	GCGG	0.17684	0.09254	0.14566	2.10670	9.29005	13.35222	0.00076	s2-s4-s6-s7:GCGG	3.119186
s1-s2-s4-s6	AGCG	0.17152	0.10057	0.14516	1.85156	7.88852	9.47351	0.00237	s1-s2-s4-s6:AGCG	2.625252
s1-s4-s6-s7	ACGG	0.16045	0.08954	0.13433	1.94318	7.78781	10.15173	0.00253	s1-s4-s6-s7:ACGG	2.596879
s1-s2-s4-s7	AGCG	0.15655	0.08951	0.13155	1.88803	7.36333	9.18304	0.00401	s1-s2-s4-s7:AGCG	2.396856
s2-s4-s7-s8	GCGT	0.14558	0.08391	0.12338	1.86030	6.73250	8.22294	0.01333	s2-s4-s7-s8:GCGT	1.87517
s2-s4-s6-s8	GCGT	0.15555	0.09693	0.13451	1.71618	6.49113	6.89724	0.01911	s2-s4-s6-s8:GCGT	1.718739
s2-s4-s6-s8	GCGG	0.0366	0.00679	0.02514	5.56157	3.00218	8.34094	0.02861	s2-s4-s6-s8:GCGG	1.543482
s1-s2-s4-s6	AGGA	0.04953	0.08595	0.06306	0.55424	-3.98384	5.21359	0.03061	s1-s2-s4-s6:AGGA	1.514137
s1-s4-s7-s8	ACGT	0.13986	0.08587	0.1198	1.73087	5.90548	6.45308	0.03114	s1-s4-s7-s8:ACGT	1.506681
s1-s2-s4-s8	AGCG	0.02711	0	0.01616	0	2.71111	10.25896	0.0348	s1-s2-s4-s8:AGCG	1.458421

【０１６３】

疾患と重要な関連を示すＳＮＰｓの種々のハプロタイプがある。

遺伝子Ｓｅｑ－４０のＳＮＰ　Ｓ２及びＳ４の組み合わせについては、４種のハプロタイプの可能性がある。我々は、ハプロタイプＧ－Ｃがコントロール群よりも患者群に有意に多く存在することを観察した。Ｇ－Ｃハプロタイプ観察の個体有意水準は、０．０００２１である。

【０１６４】

遺伝子Ｓｅｑ－４０のＳＮＰ　Ｓ１及びＳ４の組み合わせについては、４種のハプロタイプの可能性がある。我々は、ハプロタイプＡ－Ｃがコントロール群よりも患者群に有意に多く存在することを観察した。Ａ－Ｃハプロタイプ観察の個体有意水準は、０．００２１３である。

【０１６５】

遺伝子Ｓｅｑ－４０のＳＮＰ　Ｓ２及びＳ６の組み合わせについては、４種のハプロタ

イプの可能性がある。我々は、ハプロタイプＧ－Ｇがコントロール群よりも患者群に有意に多く存在することを観察した。Ｇ－Ｇハプロタイプ観察の個体有意水準は、０．０１１２である。

【０１６６】

遺伝子Ｓｅｑ－４０のＳＮＰ　Ｓ１及びＳ６の組み合わせについては、４種のハプロタイプの可能性がある。我々は、ハプロタイプＡ－Ｇがコントロール群よりも患者群に有意に多く存在し、ハプロタイプＡ－Ａ－がコントロール群よりも患者群に有意に少なく存在することを観察した。Ａ－Ａの個体有意水準は、０．０１１２であり、Ａ－Ｇハプロタイプ観察では０．０３２１１である。

【０１６７】

遺伝子Ｓｅｑ－４０のＳＮＰ　Ｓ１及びＳ２の組み合わせについては、４種のハプロタイプの可能性がある。我々は、ハプロタイプＧ－Ｇがコントロール群よりも患者群有意に多く存在することを観察した。Ｇ－Ｇハプロタイプ観察の個体有意水準は、０．０２５４６である。

【０１６８】

遺伝子Ｓｅｑ－４０のＳＮＰ　Ｓ４及びＳ６の組み合わせについては、４種のハプロタイプの可能性がある。我々は、ハプロタイプＧ－Ａがコントロール群よりも患者群に有意に少なく存在することを観察した。Ｇ－Ａハプロタイプ観察の個体有意水準は、０．０３０９９である。

【０１６９】

遺伝子Ｓｅｑ－４０のＳＮＰ　Ｓ２、Ｓ４及びＳ６の組み合わせについては、６種のハプロタイプの可能性がある。我々は、ハプロタイプＧ－Ｃ－Ｇがコントロール群よりも患者群に有意に少なく存在することを観察した。Ｇ－Ｃ－Ｇハプロタイプ観察の個体有意水準は、０．０００４６である。

【０１７０】

遺伝子Ｓｅｑ－４０のＳＮＰ　Ｓ２、Ｓ４及びＳ７の組み合わせについては、６種のハプロタイプの可能性がある。我々は、ハプロタイプＧ－Ｃ－Ｇがコントロール群よりも患者群に有意に多く存在することを観察した。Ｇ－Ｃ－Ｇハプロタイプ観察の個体有意水準は、０．００１０３である。

【０１７１】

遺伝子Ｓｅｑ－４０のＳＮＰ　Ｓ１、Ｓ４及びＳ６の組み合わせについては、６種のハプロタイプの可能性がある。我々は、ハプロタイプＡ－Ｃ－Ｇがコントロール群よりも患者群に有意に多く存在することを観察した。Ａ－Ｃ－Ｇハプロタイプ観察の個体有意水準は、０．００１７６である。

【０１７２】

遺伝子Ｓｅｑ－４０のＳＮＰ　Ｓ１、Ｓ２及びＳ４の組み合わせについては、６種のハプロタイプの可能性がある。我々は、ハプロタイプＡ－Ｇ－Ｃがコントロール群よりも患者群に有意に多く存在することを観察した。Ａ－Ｇ－Ｃハプロタイプ観察の個体有意水準は、０．００２２３である。

【０１７３】

遺伝子Ｓｅｑ－４０のＳＮＰ　Ｓ１、Ｓ４及びＳ７の組み合わせについては、６種のハプロタイプの可能性がある。我々は、ハプロタイプＡ－Ｃ－Ｇがコントロール群よりも患者群に有意に多く存在することを観察した。Ａ－Ｃ－Ｇハプロタイプ観察の個体有意水準は、０．００２６１である。

【０１７４】

遺伝子Ｓｅｑ－４０のＳＮＰ　Ｓ２、Ｓ４及びＳ８の組み合わせについては、６種のハプロタイプの可能性がある。我々は、ハプロタイプＧ－Ｃ－Ｇがコントロール群よりも患者群に有意に少なく存在することを観察した。Ｇ－Ｃ－Ｇハプロタイプ観察の個体有意水準は、０．０１５２７である。

【０１７５】

遺伝子Ｓｅｑ－４０のＳＮＰ　Ｓ１、Ｓ２及びＳ６の組み合わせについては、６種のハプロタイプの可能性がある。我々は、ハプロタイプＡ－Ｇ－Ａがコントロール群よりも患者群に有意に少なく存在することを観察した。Ａ－Ｇ－Ａハプロタイプ観察の個体有意水準は、０．０２３５８である。

【０１７６】

遺伝子Ｓｅｑ－４０のＳＮＰ　Ｓ１、Ｓ２及びＳ４の組み合わせについては、６種のハプロタイプの可能性がある。我々は、ハプロタイプＧ－Ｇ－Ｃがコントロール群よりも患者群に有意に多く存在することを観察した。Ｇ－Ｇ－Ｃハプロタイプ観察の個体有意水準は、０．０３０１５である。

【０１７７】

遺伝子Ｓｅｑ－４０のＳＮＰ　Ｓ２、Ｓ６及びＳ８の組み合わせについては、６種のハプロタイプの可能性がある。我々は、ハプロタイプＧ－Ｇ－Ｇがコントロール群よりも患者群に有意に多く存在することを観察した。Ｇ－Ｇ－Ｇハプロタイプ観察の個体有意水準は、０．０３０３４である。

【０１７８】

遺伝子Ｓｅｑ－４０のＳＮＰ　Ｓ２、Ｓ６及びＳ７の組み合わせについては、６種のハプロタイプの可能性がある。我々は、ハプロタイプＧ－Ｇ－Ｇがコントロール群よりも患者群に有意に多く存在することを観察した。Ｇ－Ｇ－Ｇハプロタイプ観察の個体有意水準は、０．０３０７７である。

【０１７９】

遺伝子Ｓｅｑ－４０のＳＮＰ　Ｓ２、Ｓ４及びＳ６の組み合わせについては、６種のハプロタイプの可能性がある。我々は、ハプロタイプＧ－Ｇ－Ａがコントロール群よりも患者群に有意に少なく存在することを観察した。Ｇ－Ｇ－Ａハプロタイプ観察の個体有意水準は、０．０３１１３である。

【０１８０】

遺伝子Ｓｅｑ－４０のＳＮＰ　Ｓ１、Ｓ４及びＳ６の組み合わせについては、６種のハプロタイプの可能性がある。我々は、ハプロタイプＡ－Ｇ－Ａがコントロール群よりも患者群に有意に少なく存在することを観察した。Ａ－Ｇ－Ａハプロタイプ観察の個体有意水準は、０．０３３である。

【０１８１】

遺伝子Ｓｅｑ－４０のＳＮＰ　Ｓ２、Ｓ４及びＳ８の組み合わせについては、６種のハプロタイプの可能性がある。我々は、ハプロタイプＧ－Ｃ－Ｔがコントロール群よりも患者群に有意に多く存在することを観察した。Ｇ－Ｃ－Ｔハプロタイプ観察の個体有意水準は、０．０３３１７である。

【０１８２】

遺伝子Ｓｅｑ－４０のＳＮＰ　Ｓ１、Ｓ２及びＳ６の組み合わせについては、６種のハプロタイプの可能性がある。我々は、ハプロタイプＡ－Ｇ－Ｇがコントロール群よりも患者群に有意に多く存在することを観察した。Ａ－Ｇ－Ｇハプロタイプ観察の個体有意水準は、０．０３８１２である。

【０１８３】

遺伝子Ｓｅｑ－４０のＳＮＰ　Ｓ１、Ｓ２、Ｓ６及びＳ７の組み合わせについては、８種のハプロタイプの可能性がある。我々は、ハプロタイプＧ－Ｃ－Ｇ－Ｇがコントロール群よりも患者群に有意に多く存在することを観察した。Ｇ－Ｃ－Ｇ－Ｇハプロタイプ観察の個体有意水準は、０．０００７６である。

【０１８４】

遺伝子Ｓｅｑ－４０のＳＮＰ　Ｓ１、Ｓ２、Ｓ４及びＳ６の組み合わせについては、８種のハプロタイプの可能性がある。我々は、ハプロタイプＡ－Ｇ－Ｃ－Ｇがコントロール群よりも患者群に有意に多く存在することを観察した。Ａ－Ｇ－Ｃ－Ｇハプロタイプ観察の個体有意水準は、０．００２３７である。

【０１８５】

遺伝子Ｓｅｑ－４０のＳＮＰ　Ｓ１、Ｓ２、Ｓ４及びＳ７の組み合わせについては、８種のハプロタイプの可能性がある。我々は、ハプロタイプＡ－Ｃ－Ｇ－Ｇがコントロール群よりも患者群に有意に多く存在することを観察した。Ａ－Ｃ－Ｇ－Ｇハプロタイプ観察の個体有意水準は、０．００２５３である。

【０１８６】

遺伝子Ｓｅｑ－４０のＳＮＰ　Ｓ２、Ｓ４、Ｓ７及びＳ８の組み合わせについては、８種のハプロタイプの可能性がある。我々は、ハプロタイプＧ－Ｃ－Ｇ－Ｔがコントロール群よりも患者群に有意に多く存在することを観察した。Ｇ－Ｃ－Ｇ－Ｔハプロタイプ観察の個体有意水準は、０．０１３３３である。

【０１８７】

遺伝子Ｓｅｑ－４０のＳＮＰ　Ｓ２、Ｓ４、Ｓ６及びＳ８の組み合わせについては、８種のハプロタイプの可能性がある。我々は、ハプロタイプＧ－Ｃ－Ｇ－Ｔ及びハプロタイプＧ－Ｃ－Ｇ－Ｇがコントロール群よりも患者群に有意に多く存在することを観察した。Ｇ－Ｃ－Ｇ－Ｔハプロタイプ観察の個体有意水準は、０．０１９１１であり、Ｇ－Ｃ－Ｇ－Ｇハプロタイプ観察では、０．０２８６１ｄである。

【０１８８】

遺伝子Ｓｅｑ－４０のＳＮＰ　Ｓ１、Ｓ２、Ｓ４及びＳ６の組み合わせについては、８種のハプロタイプの可能性がある。我々は、ハプロタイプＡ－Ｇ－Ｇ－Ａがコントロール群よりも患者群に有意に少なく存在することを観察した。Ａ－Ｇ－Ｇ－Ａハプロタイプ観察の個体有意水準は、０．０３０６１である。

【０１８９】

遺伝子Ｓｅｑ－４０のＳＮＰ　Ｓ１、Ｓ４、Ｓ７及びＳ８の組み合わせについては、８種のハプロタイプの可能性がある。我々は、ハプロタイプＡ－Ｃ－Ｇ－Ｔがコントロール群よりも患者群に有意に多く存在することを観察した。Ａ－Ｃ－Ｇ－Ｔハプロタイプ観察の個体有意水準は、０．０３１１４である。

【０１９０】

遺伝子Ｓｅｑ－４０のＳＮＰ　Ｓ１、Ｓ２、Ｓ４及びＳ８の組み合わせについては、８種のハプロタイプの可能性がある。我々は、ハプロタイプＡ－Ｇ－Ｃ－Ｇがコントロール群よりも患者群に有意に多く存在することを観察した。Ａ－Ｇ－Ｃ－Ｇハプロタイプ観察の個体有意水準は、０．０３１１４である。

【０１９１】

Ｃ．相関連存在下での連鎖試験

本発明の多型マーカーは、ＴＤＴ（伝達／不平衡試験）で更に使用してもよい。ＴＤＴは連鎖及び相関の両方について試験し、集団の階層化によって影響されない。ＴＤＴは患者及びその親のデータ、又は親の代わりに健常の兄弟姉妹のデータを必要とする（Spielman. S. et al., Am. J Hum. Genet, 52: 506-516, 1993；Schaid D. J. et al., Genet. Epidemiol., 13: 423-450, 1996, Spielman. S. and Ewens W. J., Am. J. Hum. Genet., 62: 450-458, 1998参照）。この方法は、ケース群とコントロール群とのミスマッチ、あるいは異なった人種群又は民族群からなる小集団の混在による潜在的な落とし穴を避けるため、家系実験的設計を使用する。更に、統計的解析は、当該方法が、２倍又は４倍増の疾患危険性を与えるアレル等の相対的に小さな効果のアレルを検出するための従来の連鎖系方法よりも更に強力であることを示している。

【０１９２】

一般的には、ＴＤＴ方法は、いずれかのハプロタイプの伝達が過度になったか又は低下したかを試験するために、親及び患者の子供由来の遺伝子型データを必要とする。伝達ハプロタイプは、ケース群と、非伝達ハプロタイプはコントロール群と考えられる。コンピュータープログラムＴＲＮＳＭＩＴ（Clayton, 99）は、当該解析の実施に用いられる。

【０１９３】

Ｄ．統計的方法

一般的に、形質及び遺伝子型が統計的に有意な関係を示すかどうかを試験するために、

当該分野で知られているいずれかの方法は、本発明の多型を有する形質と相関させるために用いられる。

【０１９４】

１．連鎖解析の方法

連鎖解析に有用な統計的方法及びコンピュータープログラムは、当業者によく知られている（Terwillinger J. D. and Ott J.，「ヒト遺伝子連鎖のハンドブック」，John Hopkins University London, 1994；Ott J., Analysis of Human Genetic Linkage, John Hopkins University Press, Baltimore, 1991参照）。

【０１９５】

２．個体のハプロタイプ頻度を推定する方法

上述のように、遺伝子型が計数されると、ヘテロ接合体を識別することができない場合があるため、ハプロタイプ頻度は容易に推測できない。配偶子相が不明である場合には、ハプロタイプ頻度は、多座遺伝子型データから推定できる。当業者に知られたいずれかの方法は、ハプロタイプ頻度を推定するために使用できる（Lange K.，「遺伝子解析のための数学的及び統計学的方法」，Springer, New york, 1997；Weir, B. S.，「遺伝子データ解析Ｉ：具体的な集団遺伝子データのための方法」，Sinauer Assoc., Inc., Sunderland, MA USA, 1996参照）。好ましくは、最尤度ハプロタイプ頻度は、期待最適化（ＥＭ）アルゴリズム（Dempster et al., J R. Stat. Soc., 39B: 1-38, 1977；Excoffier L. and Slatkin M., Mol Biol Evol, 12(5): 921927, 1995参照）を使って計算される。当該方法は、配偶子相が不明の場合に、多座遺伝子型データからハプロタイプ頻度の最尤度を推定することを目的とした反復方法である。ハプロタイプ推定は、通常、例えばＥＭ－ＨＡＰＬＯプログラム（Hawly M. E. et al., Am. J Phys. Anthropol., 18:104, 1994）又はアルルカンプログラム（Schneider et al.，「アルルカイン：集団遺伝子データ解析のためのソフトウェア」，University of Geneva, 1997）を用いるＥＭアルゴリズムを利用して実施する。ＥＭアルゴリズムは、推定のための反復最尤度法を一般化したものであり、簡単に以下に述べる。

【０１９６】

当該利用に関する次の部分では、表現型は、未知の相を有する多座遺伝子型に言及する。

【０１９７】

Ｎ非相関個体の試料をＫマーカーとすると仮定する。観察されたデータは、Ｆ異表現型として分類される未知相Ｋ－座位表現型である。可能なハプロタイプの下に（underlying）Ｈ（Ｋ多型マーカーの場合、$H = 2^K$）を有すると仮定する。表現型ｊに関し、c_j 遺伝子型が可能だと仮定する。そうすると、次の式が成立する。

【０１９８】

【数１】

$$P_j = \sum_{i=1}^{c_j} pr(\text{genotype } i) = \sum_{i=1}^{c_j} pr(h_k h_l) \qquad \text{式１}$$

【０１９９】

[式中、P_j は、表現型ｊの確率であり、h_k 及び h_l は遺伝子型ｉの２種のハプロタイプ成分である。]

【０２００】

Hardy-Weinberg平衡下では、ｐｒ（h_k、h_j）は次式となる。

【０２０１】

【数２】

$$pr(h_k, h_k) = pr(h_k)^2 \text{ if } k = l,\ pr(h_k, h_l) = 2pr(h_k).pr(h_l) \text{ if } k \neq l \qquad \text{式２}$$

【０２０２】
ＥＭアルゴリズムの連続ステップは以下のように記載できる。$p_1^{(0)}$、$p^{(0)}$、・・・・・・$p_H^{(0)}$と記載されるハプロタイプ頻度の初期値で開始し、当該初期値は遺伝子型頻度の推定（期待ステップ）に役立っている。加えて、$p_1^{(0)}$、$p^{(0)}$、・・・・・・$p_H^{(0)}$と記載されるハプロタイプ頻度の別のセットの推定（最大化ステップ）であり、これらの２ステップは、ハプロタイプ頻度のセットでの変化が非常に小さくなるまで反復される。
【０２０３】
停止基準は、２つの反復のハプロタイプ頻度の差が10^{-7}未満であることである。当該値は、所望の推定精度に従って調整できる。
【０２０４】
詳細には、特定の反復では、期待ステップは、次式で表される遺伝子型頻度を計算することからなる。
【０２０５】
【数３】

$$P(h_k, h_l)^{(s)} = \frac{nj}{N} \cdot \frac{pr(h_k, h_l)^{(s)}}{P_j^{(s)}} \qquad \text{式３}$$

【０２０６】
[式中、遺伝子型Ｉは表現型ｊで起こり、h_k及びh_lは遺伝子型ｉを構成する。]
【０２０７】
各確率は、上記式１及び２から得られる。
【０２０８】
最大化ステップは、遺伝子型頻度を与えるハプロタイプ頻度の別のセットを推定するにすぎない。当該方法は遺伝子計数方法（Smith, Ann. Hum. Genet., 21: 254-276, 1957）としても知られている。
【０２０９】
【数４】

$$P_t^{(s+1)} = \frac{1}{2} \sum_{j=1}^{F} \sum_{i=1}^{c_j} \partial_{it}.pr(\text{genotype } i)^{(s)} \qquad \text{式４}$$

【０２１０】

[式中、∂_{it}は、遺伝子型ｉのハプロタイプｔの時間数を計数する指示変数であり、０、１又は２である。]

【０２１１】

最終的に得られる推定が最尤度推定であることを確認するためには、種々の初期値が必要である。得られる推定を比較し、差があれば、最尤度の推定が維持される。

【０２１２】

３．マーカー間の連鎖不平衡を計算する方法

いずれか２つの遺伝子位置の連鎖不平衡を計算するために、多数の方法が使用できる。実際には、連鎖不平衡は、集団から得られるハプロタイプのデータに統計的相関試験を適用することによって測定される。本発明の多型マーカーの少なくとも一つを含むいずれかの対の多型マーカー間の連鎖不平衡、すなわちマーカーＭｉにアレル（a_i/b_i）をマーカーＭｊにアレル（a_j/b_j）を有する（Ｍｉ,Ｍｊ）は、ピアザ方程式：

【０２１３】

【数５】

$$\Delta_{aiaj} = \sqrt{04} - \sqrt{(04+03)(04+02)}$$

【０２１４】

[式中、
０４は、Ｍｉにアレルａｉを有さず、Ｍｊにアレルａｊを有さない遺伝子型の頻度--、
０３は、Ｍｉにアレルａｉを有さず、Ｍｊにアレルａｊを有する遺伝子型の頻度-+、
０２は、Ｍｉにアレルａｉを有し、Ｍｊにアレルａｊを有さない遺伝子型の頻度+-
を示す。]

【０２１５】

に従って、全てのアレルの組み合わせ（a_i,a_j；a_i,b_j；b_i，a_j及びb_i，b_j）について計算できる。

【０２１６】

多型マーカー（Ｍｉ,Ｍｊ）対間の連鎖不平衡（ＬＤ）もまた、Weirによって記載されているように、デルタ（複合遺伝子型不平衡係数）に関する最尤度推定法（ＭＬＥ）に従い、全てのアレルの組み合わせ（a_i,a_j；a_i,b_j；b_i，a_j及びb_i，b_j）について計算できる。（Weir B. S., Genetic Data Analysis, Sinauer Ass. Eds, 1996）。複合連鎖不平衡のＭＬＥは次式：

【０２１７】

【数６】

$$D_{aiaj} = (2n_1, + n_2 + n_3 + n_4/2)/N - 2(pr(a_j) \bullet pr(a_j))$$

【０２１８】

[式中、ｎ１は、Σ表現型（$a_i/a_i,a_j/a_j$）を示し、ｎ２は、Σ表現型（$a_i/a_i,a_j/b_j$）を示し、ｎ３は、Σ表現型（$a_i/b_i,a_j/a_j$）を示し、ｎ４は、Σ表現型（$a_i/b_i,a_j/b_j$）を示し、Ｎは試料の個体数を示す。]

【０２１９】

で表わされる。ハプロタイプではなく、遺伝子型のデータのみが得られる場合に、当該方程式により、アレル間の連鎖不平衡が推定される。

【０２２０】

マーカー間の連鎖不平衡を計算する別の手段は、以下のとおりである。Hardy-Weinberg

平衡に合致する、一組の多型マーカー、Ｍｉ（ａ$_{i}$ ｂ$_{i}$）及びＭｊ（ａ$_{i}$ ｂ$_{j}$）に関して、上述の方法に従い特定の集団の４種の可能なハプロタイプ頻度を推定することができる。

【０２２１】

ａｉとａｊ間の配偶子不平衡の推定は、簡単である。

【０２２２】

【数７】

$$D'_{aiaj} = pr(haplotype(a_i, a_j)) - pr(a_j)\text{-}pr(a_j).$$

【０２２３】

[式中、ｐｒ（ａｉ）はアレルａｉの確率を示し、ｐｒ（ａｊ）はアレルａｊの確率を示し、ｐｒ（ｈａｐｌｏｔｙｐｅ（ａ$_{i}$,ａ$_{j}$））は上記式３で推定される。]

【０２２４】

一組の多型マーカーに関し、不平衡を一つのみ測定することは、Ｍ$_{i}$ とＭ$_{j}$ との相関を説明するのに必要である。

【０２２５】

上記の標準化値は以下のようにして計算される。

【０２２６】

【数８】

$$D'_{a_i a_j} = D'_{a_i a_j} / \max(-pr(a_i).pr(a_j), -pr(b_i).pr(b_j)) \text{ 但し、} D_{a_i a_j} < O$$

$$D'_{a_i a_j} = D'_{a_i a_j} / \max(pr(b_i).pr(a_j), pr(a_i).pr(b_j)) \text{ 但し、} D_{a_i a_j} > O$$

【０２２７】

他のＬＤ計算法が過度の実験をすることなく使用できることは、当業者ならば容易に理解するだろう。好適なヘテロ接合体率を有する多型マーカーのセット間の連鎖不平衡は、５０～１０００、好ましくは７５～２００、より好ましくは約１００の非相関個体の遺伝子型を特定することによって決定することができる。

【０２２８】

４．相関試験

表現型と遺伝子型との相関関係の統計的な意義を決定する方法は、多型マーカーでのアレル又は当該アレルからなるハプロタイプの場合には、当業者によく知られた統計的試験によって決定され、求められる統計的有意差について許容される閾値を有する。特定の方法の利用及び有意の閾値は当業者によく知られている。

【０２２９】

相関試験は、ケース及びコントロール群の多型マーカーアレルの頻度を決定し、次いで形質と解析中の多型マーカーアレルとの相関関係を示す頻度において統計的有意差があるかを決定する統計的試験を用いて、当該頻度を比較することによって実施する。同様に、ハプロタイプ解析は、ケース及びコントロール群の特定の多型マーカーセットのための可能性のある全てのハプロタイプの頻度を推定し、次いでハプロタイプと解析中の表現型（形質）との間に、統計的に有意な相関関係があるかを決定する統計的試験を用いて、当該頻度を比較することによって実施する。遺伝子型と表現型との統計的に有意な相関関係の

ための有用な統計的手段を使用してもよい。好ましくは、使用される統計的試験は、１自由度を有するカイ配列試験である。Ｐ値を計算する（Ｐ値は、観察したものと同等以上の統計量が偶然に起こる可能性である）。

【０２３０】

統計的有意

好ましい具体例では、診断目的のための有意は、追加の診断試験のポジティブ基準又は早期の予防療法の予備的な出発点であり、多型マーカー相関に関連するｐ値は、単一の多型マーカーに関しては、好ましくは約1×10^{-2}又は未満であり、より好ましくは約1×10^{-4}又は未満であり、種々のマーカーを含むハプロタイプ解析に関しては、好ましくは約1×10^{-3}又は未満であり、より好ましくは約1×10^{-6}、最も好ましくは約1×10^{-8}未満である。これらの値は、単一マーカー又は複数マーカーの組み合わせを含む相関解析に利用できると考えられる。

【０２３１】

当業者は、本発明の多型マーカーを用いて相関解析を実施するために、出発点として、上記の値の範囲を使用できる。そのような使用では、本発明の多型マーカーとＣＮＳ障害との有意な相関が明らかとなり、当該相関は、診断及び薬物のスクリーニングのために使用できる。

【０２３２】

表現型置換

上記のハプロタイプ解析の第一段階の統計的有意を確認するために、ケースコントロール群由来のデータの遺伝子型特定が集められ、形質表現型に関して無作為化される解析を更に実施することが望ましい。各々の個体の遺伝子型特定データは、第一段階で得られるデータを集計するために用いるケースコントロール群として、同数の個体を含む２つの群にランダムに配分される。ハプロタイプ解析の第二段階は、好ましくは人工群で、より好ましくは最高相対危険度を示す第一段階の解析のハプロタイプに含まれるマーカーで実施する。この実験は、好ましくは少なくとも１００～１００００回、反復する。反復により、有意なｐ値レベルを有して得られるハプロタイプの割合を決定することができる。

【０２３３】

統計的相関の評価

偽陽性の問題を解決するために、ランダムゲノム領域で同一のケースコントロール群を用いて、同様な解析を行ってもよい。ランダム領域及び候補領域での結果は、「検出可能な形質と関連する遺伝子に隣接するゲノム領域を同定するための方法、ソフトウェア及び機器」と題目された国際公開第００／２８０８０号パンフレットに記載のようにして比較される。

【０２３４】

危険因子の評価

危険因子（遺伝的疫学では、危険因子は一定のアレル又はマーカー座位のハプロタイプの存在又は不存在である）と疾患との相関は、奇数比（ＯＲ）及び危険度（ＲＲ）によって測定される。Ｐ（R^{+}）がＲを有する個体の疾患を発症する確率であり、Ｐ（Ｒ７）が危険因子を有さない個体が疾患を発症する確率であるならば、相対危険度は、簡単に２つの確率の割合である。

【０２３５】

【数９】

$$RR=P(R^{+})/P(R^{-})$$

【０２３６】

ケースコントロール群解析では、試料採取設計のため、相対危険度は、直接測定できない。しかしながら、奇数比により、低発症疾患の相対危険度を十分に推定でき、当該危険度は次式で計算される。

【０２３７】

【数１０】

$$OR = [F+/(1-F^{+}] / [F^{-}/(1-F^{-})]$$

【０２３８】

Ｆ+は、ケース群の危険因子への暴露の頻度であり、Ｆ-は、コントロール群の危険因子への暴露の頻度である。Ｆ+及びＦ-は、解析中のアレル又はハプロタイプ頻度を使って計算され、更に、基礎的な遺伝モデルによって決まる（優性、劣性、付加など）。

【０２３９】

更に、特定の危険因子によってある形質を示す集団中の個体の割合を言う、寄与危険度（ＡＲ）を推定できる。この測定は、病因学における特定の因子の役割を定量化する点及び危険因子の公衆衛効果生の点で重要である。この測定の公衆衛生との関連は、対象としている暴露がなかったならば避けられたであろう、集団中の疾患のケース群の割合の推定にある。ＡＲは、次のように決定される。

【０２４０】

【数１１】

$$AR=P_E(RR-I)/(P_E(RR-I)+1)$$

【０２４１】

ＡＲは多型マーカーアレル又は多型マーカーハプロタイプに寄与し得る危険度である。ＰＥは、概して集団内のアレル又はハプロタイプへの暴露の頻度である。解析中の形質が一般集団で相対的に低い発症率を有する場合には、ＲＲは奇数比で推定される相対危険度である。

【０２４２】

機能性突然変異の同定

ポジティブ相関は、本発明の多型マーカー及び精神分裂症で確認されているため、ポジティブ形質群及びネガティブ形質群の選択した番号の配列を比較することによって、Ｓｅｑ－４０遺伝子をその突然変異についてスキャンすることができる。好ましい具体例では、エクソン、スプライス部位、プロモーター及び候補遺伝子の他の調節領域などの機能性領域を突然変異についてスキャンする。好ましくは、ポジティブ形質群は形質と関連すると判明しているハプロタイプ又はアレルを有し、ネガティブ形質群は形質と関連すると判明しているハプロタイプ又はアレルを有さない。突然変異検出手段は、本質的に多型部位同定のための手段に類似している。

【０２４３】

このような突然変異を検出するために用いられる方法は、一般的に、次のステップ、（ａ）ポジティブ形質患者及びネガティブ形質コントロールのＤＮＡ試料から当該形質と関連する多型マーカー又は多型マーカー群を含むＳｅｑ－４０遺伝子領域を増幅すること、（ｂ）当該増幅領域を塩基配列決定すること、（ｃ）ポジティブ形質患者及びネガティブ形質コントロール由来のＤＮＡ配列を比較すること、及び（ｄ）ポジティブ形質患者に特

異的な突然変異を決定すること、を含む。ステップ（ｂ）及び（ｃ）を含むサブコンビネーションも特に考えられる。

【０２４４】

上述の方法等の遺伝子型特定方法の手段を用いて、好ましくは個体試験方式でのマイクロシークエンシング技術を用いて、大ケース群及び大コントロール群をスクリーニングすることにより、候補多型を確認することが好ましい。多型が、予想した相関結果と矛盾しない頻度でケース及びコントロールに存在する場合には、多型は候補突然変異と考えられる。

【０２４５】

本発明の多型マーカーと精神分裂症との相関

本発明の文脈中で、本発明のＳｅｑ－４０の多型マーカーと精神分裂症との相関を証明してきた。

【０２４６】

多数の神経化学的発見は、精神分裂症、少なくとも一定のサブタイプのための生物学的原理と若干関係している。しかしながら、明確かつ特定の精神分裂症の表現型の欠損及び遺伝子解析のための好適なマーカーは、精神分裂症に関連する遺伝子を高い信頼性で同定するには大きな障害があることが判っている。その結果、今日の精神科医は、直感と試行錯誤によって抗精神分裂症薬を選択する必要がある。すなわち、好適な化合物が選択されるまで、数週間又は数ヶ月間、患者を自殺行為同然の危険な状態におく状況になる。はっきり言えば、精神分裂症に含まれる遺伝子を首尾よく同定する必要性が強く求められている。症状よりもむしろ精神分裂症の病因や発症場所を研究者に理解させる必要がある。

【０２４７】

このような情報は極めて有用である。潜在的な遺伝的素質の知識は、それが絶対的ではなくても、精神分裂症の治療効果及び診断手段の開発に非常に重要な態様で役立つだろう。

【０２４８】

本発明が、先の詳細な説明や実施例で特に記載した以外の方法で実施されることは明白であろう。本発明の多数の修飾や変化は、上記の開示の点で可能であり、それは本発明の請求の範囲内である。ここに引用した全ての文献の全体的な開示は、本発明の開示と矛盾しない程度で参考として示した。

【０２４９】

引用文献

米国特許

１．米国特許第５，８５６，１０４号「グルコース－６－リン酸デヒドロゲナーゼ遺伝子座の多型」
２．米国特許第５，０７５，２１７号「（ｄＣ－ｄＡ）ｎ（ｄＧ－ｄＴ）ｎ配列の長多型」
３．米国特許出願第０９／４２７，６５３号、１９９９年２月２７日出願
４．米国特許出願第０９／６９８，４１９号、２０００年１０月２７日出願
５．米国特許第４，６８３，２０２号「核酸配列増幅方法」
６．米国特許第５，１８５，４４４号「キラルサブユニット間結合を含むリン酸を有する非電荷のモルホリノ系ポリマー」
７．米国特許第５，０３４，５０６号「アキラルサブユニット間結合を含むリン酸を有する非電荷のモルホリノ系ポリマー」
８．米国特許第５，１４２，０４７号「非電荷ポリヌクレオチド結合ポリマー
９．米国特許第５，４２４，１８６号「大量スケールの固定化ポリマー合成」

【０２５０】

外国特許文献

１．国際公開第９０／１３６６８号パンフレット「核酸試料の遺伝的分析方法」
２．国際公開第９０／１１３６９号パンフレット「病状の固相診断」

３．国際公開第９１／１４００３号「多型ＶＮＴＲ座位の特徴及び分析」
４．欧州特許第３７０７１９号「伸張塩基配列」
５．国際公開第９５／０４０６４号パンフレット「ＭＨＣ－ＩＩ発現を阻害するポリヌクレオチドデコイ及びその使用」
６．欧州特許第２３５７２６号「試料を標識することにより試料中の核酸配列の高速検出＞
７．国際公開第８９／１１５４８号パンフレット「プローブ特異的固定化配列」
８．国際公開第９３／２２４５６号パンフレット「生物学的流体中の遺伝子配列の同定」
９．国際公開第９８／２０１６５号パンフレット「２アレルマーカー」
１０．国際公開第９２／１００９２号パンフレット「大量スケールの固定化ポリマー合成」
１１．国際公開第９５／１１９９５号パンフレット「生物学的チップ上の核酸プローブアレイ」

【０２５１】

書籍

１．「精神障害の診断的及び統計的マニュアル」（第４版），273-316，1994
２．「ＤＮＡ配列」，Sambrook et al. (eds.),「分子クローニング:「研究室マニュアル」(第二版),Plalnview, N. Y.:Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989)
３．Stryer, L.,「生物化学」，第４版，1995
４．「ＰＣＲ技術：ＤＮＡ増幅の原理と応用」(eds. H. A. Erlich, Freeman Press, N. Y., N. Y., 1992)
５．「ＰＣＲプロトコール：方法と応用のガイド」(eds. Innis, et al., Academic Press, San Diego, Calif., 1990)；Mattila et al., Nucleic Acids Res. 19, 4967 (1991)
９．Eckert et al.「ＰＣＲ方法及び応用」1, 17(1991)
１０．「ＰＣＲ」(eds. McPhersonetal., IRL Press, Oxford)

【０２５２】

論文

１.Ajioka, R. 5., et al.,「ヘモクロマトーシスのハプロタイプ分析：種々の関連不均衡解析の評価及び染色体病の進行」Am J Hum Genet, 1997. 60(6)：p. 1439-47
２．Amlour, J. A. and A. J. Jeffreys,「小付随生物学の最近の進歩」FEBS Lett, 1992. 307(1)：p. 113-5
３．Botstein, D. et al.,「制限酵素断片長多型を用いるヒトでの遺伝子連鎖マップの構築」，Am J Hum Genet, 1980, 32(3): p. 314-31
４．Clark, A. G.,「二倍体集団のＰＣＲ増幅試料由来のハプロタイプの推定」，M01 Biol Evol, 1990, 7(2): p. 111-22
５．Clayton,D.,「不確定なハプロタイプ伝達の伝達／不平衡試験の一般化」，Am J Hum Genet, 1999, 65(4): p. 1170-7
６．Donis- Keller, H., et al.,「ヒトゲノムの遺伝的連鎖マップ」，Oell, 1987, 51(2) :p. 319-37
７．Excoffier, L. and M. Slatkin,「二倍体群の分子的ハプロタイプ頻度最尤度推定法」，Mol Biol Evol, 1995, 12(5): p. 921-7
８．Germer, S. and R. Higuchi,「オリゴヌクレオチドプローブを使用しない単一チューブ遺伝子型特定」，Genome Res, 1999, 9(1): p. 72-8
９．Gibbs, R. A., P. N. Nguyen, and C. T. Caskey,「競合的オリゴヌクレオチドの開始による１ＤＮＡ塩基の検出」，Nucleic Acids Res, 1989. 17(7): p . 2437-48
１０．Guatelli, J. C, et al.,「レトロウィルス複製後に作られた複数酵素反応による核酸の等温でのin vitro増幅」，Proc Natl Acad Sci USA, 1990, 87(5): p. 1874-8
１１．Gusella, J. F.,「ＤＮＡ多型及びヒト疾患」，Annu Rev Biochem, 1986, 55: p. 831-54
１２．Hacia, J. G., et al.,「高密度オリゴヌクレイチドアレイ及び２色蛍光解析を用

いるＢＲＣＡ　Ｉのヘテロ接合性突然変異の検出」, Nat Genet, 1996, 14(4): p .441-7
１３．Hawley, M. E. and K. K. Kidd, 「ＨＡＰＬＯ：多座ハプロタイプの頻度の推定のためのＥＭアルゴリズムを用いるプログラム」,J Hered, 1995, 86(5): p. 409-11
１４．Howard, T. D., E. R. Bleecker, and O. C. Stine, 「蛍光アレル特異的ＰＣＲ（ＦＡＳ－ＰＣＲ）は単一ヌクレオチド多型スクリーニング」, Biotechniques, 1999, 26(3): P. 380-1
１５．Kozal, M. J., et al., 「高密度オリゴヌクレオチドアレイを用いるＨＩＶ－１クレード Ｂプロテアーゼで観察される伸張多型」, Nat Med, 1996, 2(7): p. 753-9
１６．Kwoh, D. Y., et al., 「転写系増幅システ、及びビーズ型サンドウィッチハイブリダイゼーション形式を用いて増幅したヒト免疫不全ウィルス型１の検出」, Proc Natl Acad Sci USA, 1989, 86(4): p. 1173-7
１７．Landegrell, U., et al., 「リガーゼ媒介遺伝子検出技術」, Science, 1988, 241(4869): p. 1077-80
１８．Landegrell, U., M. Nilsson, and P. Y. Kwok, 「遺伝子情報の具体例の解釈：単一ヌクレオチドの多型解析法」, Genome Res, 1998, 8(8): p. 769-76
１９．Lande , E. S. and D. Botstein, 「ＲＦＬＰ連鎖マップを用いる定量的形質を構成するマッピング遺伝子」, Genetics , 1989. 121(l): P. 185-99
２０．Lander, E. S. and N. J. Schork, 「複合形質の遺伝的解析」, Science, 1994, 265(5181): p. 2037-48
２１．Livak, K. J., J. Mannaro, and J. A. Todd, 「完全自動化ゲノムワイド多型スクリーニングに関して」, Nat Gellet, 1995, 9(4): p. 341-2
２２．Mattila, P., et al., 「サーモコッカス・リトラリスＤＮＡポリメラーゼによるＤＮＡ合成の忠実－校正活性を有する熱高安定性酵素」, Nucleic Acids Res, 1991, 19(18): p. 4967-73
２３．Newton, C. R., et al.「ＤＮＡの点突然変異の解析、増幅抵抗性突然変異システム（ＡＲＭＳ）」, Nucleic Acids Res, 1989, 17(7): p. 2503-16
２４．Nickerson, D. A., V. O. Tobe, and S. L. Taylor, 「ＰｏｌｙＰｈｒｅｄ：蛍光系再塩基配列決定を用いる単一ヌクレオチド置換の検出及び遺伝子型特定」, Nucleic Acids Res, 1997, 25(14): p. 2745- 51
２５．Nielsen, P. E., et al., 「チミン置換ポリアミドで置換した鎖によるＤＮＡの配列選択的同定」, Science, 1991, 254(5037): p. 1497-500
２６．Orita, M., et al., 「ゲル電気泳動による、一本鎖配座多型としてのヒトＤＮＡ多型の解析」, Proc Natl Acad Sci USA, 1989, 86(8): p. 2766-70
２７．Perlin, M. W., et al., 「完全自動化遺伝子型特定に関して：デュシェンヌ型筋ジストロフィーのアレル帰属、家系構築、相決定及び組換え検出」, Am J Hum Gellet, 1994, 55(4): p. 777-87
２８．Ruano, G., K. K. Kidd, and J. C. Stephens, 「単一ＤＮＡ分子の酵素的増幅によて解明される複数多型のハプロタイプ」, Proc Natl Acad Sci USA, 1990, 87(16): p. 6296-300
２９．Saiki, R. K., et al., 「アレル特異的オリゴヌクレオチドプローブを用いる酵素的に増幅したβ－グロブリン及びＨＬＡ－ＤＱ－α－ＤＮＡの解析」, Nature, 1986, 324(6093): p. 163-6
３０．Sarkar, G. and S. S. Sommer, 「特定のアレルの二重ＰＣＲ増幅によるハプロタイピング」, Biotechniques, 1991, 10(4): p. 436, 438, 440
３１．Schaid, D. J., 「ケース及びその親を用いる、遺伝子マーカーと疾患との相関のための一般的スコア試験」, Genet Epidemiol, 1996, 13(5): p. 423-49
３２．Shoemaker, D. D., et al., 「高平行分子バーコード法を用いる酵母欠失突然変異の定量的な表現型解析」, Na tGenet, 1996, 14(4): p. 450-6
３３．Spielman, R. S., R. E. McGinnis and W. J. Ewens, 「連鎖不平衡の伝達試験：インシュリン遺伝子領域及びインシュリン依存型糖尿病（ＩＤＤＭ）」, Am J Hum Genet

, 1993, 52(3): p. 506-16
３４．Spielman, R. S. and W. J. Ewens, 「相関存在下での連鎖の兄弟姉妹試験：兄弟姉妹伝達／不平衡試験」, Am J Hum Genet, 1998, 62(2): p. 450-8
３５．Tyagi, S., D. P. Bratu, and F. R. Kramer, 「アレル識別のための多色分子標識」, Nat Biotechnol, 1998, 16(1): p. 49-53
３６．Wu, D. Y. and R. B. Wallace, 「リゲーション増幅反応（ＬＡＲ）－連続鋳型依存型リゲーションを用いる特定のＤＮＡ配列の増幅」, Genomics, 1989. 4(4): p. 560-9
３７．Wu, D. Y., et al., 「鎌状赤血球貧血の診断のためのβ－グロブリン遺伝的ＤＮＡのアレル特異的な酵素的増幅」Proc Natl Acad Sci USA,1989. 86(8): p. 2757-60
３８．Zhao, LP., et al., 「単一ヌクレオチド多型による複合形質のマッピング」, Am J Hum Genet, 1998, 63(1): p. 225-40

【０２５３】

配列表の簡単な説明

配列番号１　位置１９４、６０１、１０２９、１０３８、１０７４、２１０６、２１８５、２３５９、２６６３及び２７９６で示した変異を有するＳｅｑ－４０のＤＮＡ配列
配列番号２　位置２６５及び２９１で示した変異を有するＳｅｑ－４０のＤＮＡ配列
配列番号３　ＰＣＲプライマー－実施例１
配列番号４　ＰＣＲプライマー－実施例１
配列番号５　配列プライマー－実施例１
配列番号６　配列プライマー－実施例１
配列番号７　配列プライマー－実施例１
配列番号８　配列プライマー－実施例１
配列番号９　ＴａｑＭａｎプライマー－表４
配列番号１０　ＴａｑＭａｎプライマー－表４
配列番号１１　ＴａｑＭａｎプライマー－表４
配列番号１２　ＴａｑＭａｎプライマー－表４
配列番号１３　ＴａｑＭａｎプライマー－表
配列番号１４　ＴａｑＭａｎプライマー－表４
配列番号１５　ＴａｑＭａｎプライマー－表４
配列番号１６　ＴａｑＭａｎプライマー－表４
配列番号１７　ＴａｑＭａｎプライマー－表４
配列番号１８　ＴａｑＭａｎプライマー－表４
配列番号１９　ＴａｑＭａｎプライマー－表４
配列番号２０　ＴａｑＭａｎプライマー－表４
配列番号２１　ＰＣＲプライマー－表４
配列番号２２　ＰＣＲプライマー－表４
配列番号２３　ＰＣＲプライマー－表４
配列番号２４　ＰＣＲプライマー－表４
配列番号２５　ＰＣＲプライマー－表４
配列番号２６　ＰＣＲプライマー－表４
配列番号２７　ＰＣＲプライマー－表４
配列番号２８　ＰＣＲプライマー－表４
配列番号２９　ＰＣＲプライマー－表４
配列番号３０　ＰＣＲプライマー－表４
配列番号３１　ＰＣＲプライマー－表４
配列番号３２　ＰＣＲプライマー－表４
配列番号３３　ＳＮＰ６合成アレル
配列番号３４　ＳＮＰ６合成アレル
配列番号３５　ＳＮＰ６合成アレルオリゴマー
配列番号３６　ＳＮＰ６合成アレルオリゴマー

配列番号３７　ＳＮＰ６合成アレルオリゴマー
配列番号３８　ＳＮＰ７合成アレル
配列番号３９　ＳＮＰ７合成アレル
配列番号４０　ＳＮＰ７合成アレルオリゴマー
配列番号４１　ＳＮＰ７合成アレルオリゴマー
配列番号４２　ＳＮＰ７合成アレルオリゴマー
【配列表】
2005537010000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US03/24799

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC(7) : C12Q 1/68; C12P 19/34; C07H 21/02, 21/04
US CL : 435, 6, 91.2; 536/23.1, 23.5, 24.31
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
U.S. : 435, 6, 91.2; 536/23.1, 23.5, 24.31

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

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X --- A	WO 01/36473 A2 (PHARMACIA & UPJOHN COMPANY) 25 May 2001 (25.05.2001), pages 5, 71, 90-91 and 147.	1, 2, 27, 28 --- 29, 32
Y --- A	NCBI Database, National Center for Biotechnology Information, National Library of Medicine, NIH (Bethesda, MD, USA). Accession No. AF380192, 01 August 2001, BOROWSKY et al. 'Trace amines: identification of a family of mammalian G protein-couples receptors', Oric, Batk, Acad, Sci., U.S.A. 98(16), 8966-8971 (2001).	1, 2, 27, 28 --- 29, 32
Y --- A	BOROWSKY et al. Trace amines: Identification of a family of mammalian G protein-coupled receptors. PNAS. 31 June 2001, Vol. 98, No. 16, pages 8966-8971, especially pages 8966-8977 and 8969.	1, 2, 27, 28 --- 29, 32

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
10 January 2005 (10.01.2005)

Date of mailing of the international search report
10 FEB 2005

Name and mailing address of the ISA/US
Mail Stop PCT, Attn: ISA/US
Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, Virginia 22313-1450
Facsimile No. (703) 305-3230

Authorized officer
Carla Myers
Telephone No. 571-272-1600

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1998)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US03/24799

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

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

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

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

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

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

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
Please See Continuation Sheet

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.: 1, 2, 27, 28, 29, and 32 (with respect to polymorphic sites 601 and 2106)

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

PCT/US03/24799

BOX II. OBSERVATIONS WHERE UNITY OF INVENTION IS LACKING

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be searched, the appropriate additional fees must be paid.

Groups 1-25, claims 1-56 (in part), drawn to a method of haplotype determination in an individual for diagnostic or prognostic purposes comprising determining a nucleotide occupying one of the polymorphic sites selected from the group of the 25 sets of polymorphic sites set forth in claim 1. For example, group 1 is considered to be a method comprising determining the nucleotide at positions 601 and 2106 of the GPCR gene (SEQ ID NO: 1). Group 2 is considered to be a method comprising determining the nucleotides at position 194 and 2106 of the GPCR gene (SEQ ID NO: 1). If additional groups are to be searched, please specify the set of polymorphisms corresponding to the elected group.

The inventions listed as Groups 1-25 do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

It is first noted that each of the present claims has been presented in improper Markush format, as distinct products and distinct methods are improperly joined in the claims. Each polymorphic site and each molecule containing said polymorphic site is structurally and functionally distinct from and has a different special technical feature than each other polymorphic site and molecules containing said site. Accordingly, the claims have been separated into a number of groups corresponding to the number of different inventions encompassed by the claims, and the claims will be examined only as they read upon the invention of the elected group. For the same reasons, the remainder of the claims have been separated in a number of groups corresponding to the number of different inventions encompassed thereby. As the products and methods encompassed by the claims do not share a special technical feature, the distinct products and methods may not properly be presented in the alternative.

Unity of invention exists only when there is a technical relationship among those inventions involving one or more of the same or corresponding technical features. The expression "special technical feature" means those technical features that define a contribution which each of the claimed inventions, considered as a whole, makes over the prior art. While each of the claims recites a method for determining a haplotype for diagnostic or prognostic purposes, the claims further recite the detection of distinct haplotypes as a means for accessing the propensity of an individual to develop a disease. Each polymorphic site within SEQ ID NO: 1 and each combination of polymorphisms is chemically and structurally distinct from one another. For example, a polymorphism at position 601 of SEQ ID NO: 1 is chemically, structurally and functionally distinct from a polymorphism at position 194 of SEQ ID NO: 1. Further, each haplotype is distinct from the other because the haplotypes consist of structurally distinct polymorphisms and each haplotype has a different effect. As set forth on pages 49-53 of the description, each haplotype is present in populations of affected schizophrenia individuals and in control populations at different frequencies. For instance, with the S1/S4 haplotype, the A/C polymorphisms were more prevalent in affected individuals as compared to the control individuals, while for the S6/S4 haplotype, the A/G alleles were more prevalent in affected individuals as compared to the control individuals. Thereby, the effect of the S4 allele varies depending on whether the allele is considered together with the S1 allele or with the S6 allele. Similarly, with the S1/S4 haplotype, the A/C polymorphisms were more prevalent in affected individuals as compared to the control individuals, while for the S1/S2 haplotype, the G/G alleles were more prevalent in affected individuals as compared to the control individuals. Thereby, the effect of the S1 allele varies depending on whether the allele is considered together with the S4 allele or with the S2 allele. It is expected that each of the haplotypes will also be present in other disease populations and control populations at varying frequencies. For these reasons, there is no special technical feature linking the recited groups, as would be necessary to fulfill the requirement for unity of invention.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

PCT/US03/24799

Continuation of B. FIELDS SEARCHED Item 3:
DIALOG: MEDLINE, CA, BIOSIS, EMBASE, SCISEARCH; WEST: US, EP, JP, WO patents; GenBank, GENESEQ, EMBL:
search terms: SEQ ID NO: 1, GPCR-40, TA4

フロントページの続き

(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,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HU,IE,IT,LU,MC,NL,PT,RO,SE,SI,SK,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,PG,PH,PL,PT,RO,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SY,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,YU,ZA,ZM,ZW

(74)代理人 100134784
弁理士 中村 和美
(74)代理人 100082898
弁理士 西山 雅也
(72)発明者 ケイツ，ポール エス.
アメリカ合衆国，ミシガン ４９０４８，カラマズー，シャドー ベンド ドライブ ３５０６－ディー
(72)発明者 テン，チーセ
アメリカ合衆国，ミシガン ４９０２４，ポーテージ，ホリデー レーン １８０７

Ｆターム(参考) 4B024 AA11 BA63 CA01 CA04 CA09 CA11 DA03 HA12 HA20
4B063 QA12 QA17 QA19 QQ42 QQ52 QR08 QR32 QR55 QR62 QS25
QS34