

(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2008-532499
(P2008-532499A)

(43) 公表日 平成20年8月21日(2008.8.21)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 Q 1/68 (2006.01)	C 1 2 Q 1/68 Z N A A	2 G O 4 5
G O 1 N 33/50 (2006.01)	G O 1 N 33/50 Z	4 B O 2 4
G O 1 N 33/15 (2006.01)	G O 1 N 33/15 Z	4 B O 6 3
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 D	4 C O 8 5
A 6 1 P 25/14 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 N	4 H O 4 5
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求		(全 35 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2007-557626 (P2007-557626)
 (86) (22) 出願日 平成18年2月27日 (2006. 2. 27)
 (85) 翻訳文提出日 平成19年10月22日 (2007. 10. 22)
 (86) 国際出願番号 PCT/IB2006/001100
 (87) 国際公開番号 W02006/090288
 (87) 国際公開日 平成18年8月31日 (2006. 8. 31)
 (31) 優先権主張番号 60/656, 374
 (32) 優先日 平成17年2月28日 (2005. 2. 28)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 501358068
 アンテグラジャン
 I N T E G R A G E N
 フランス国、エフ-91000 エヴリ、
 リュ・アンリ・デブリュエール 5、ジェ
 ノポール・カンピュス 1、ジェナヴェニ
 ール 8
 (74) 代理人 100078662
 弁理士 津国 肇
 (74) 代理人 100113653
 弁理士 東田 幸四郎
 (74) 代理人 100116919
 弁理士 齋藤 房幸

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 神経伝達物質輸送体をコードするヒトの自閉症感受性遺伝子及びその使用

(57) 【要約】

本発明ではヒトの自閉症感受性遺伝子の同定について開示しており、該遺伝子は治療的に活性な薬剤のスクリーニングの他、自閉症および関連する障害の診断、予防および処置に有用となりうる。本発明ではより具体的には、3番染色体上のSLC6A1またはSLC6A11遺伝子およびその特定の対立遺伝子が自閉症への感受性と関連しており、治療的診断の新しい標的を示すことを開示している。本発明は、SLC6A1またはSLC6A11遺伝子内の特定の突然変異および発現産物、そしてこれらの突然変異に基づいた診断ツールおよびキットに関する。本発明は、アスペルガー症候群、広汎性発達障害、小児期崩壊性障害、精神遅滞、不安、憂うつ、注意不足活動過多症障害、発語の遅れ、てんかん、代謝異常、免疫障害、双極性疾患および統合失調症などの他の精神疾患および神経疾患の素因の診断、発見、予防および/または治療に使用可能である。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

被験者における自閉症、自閉症領域障害、または自閉症関連の障害の存在または素因を検出する方法であって、(i)被験者から検体の提供、および(ii)該検体のSLC6A1またはSLC6A11遺伝子座の変化の存在を検出することを含む方法。

【請求項 2】

被験者における自閉症、自閉症領域障害、または自閉症関連の障害からの防御を検出する方法であって、(i)被験者からの検体の提供、および(ii)該検体のSLC6A1またはSLC6A11遺伝子座の変化の存在を検出することを含む方法。

【請求項 3】

自閉症または関連する障害の処置に対する被験者の反応を評価する方法であって、(i)被験者からの検体の提供、および(ii)該検体のSLC6A1またはSLC6A11遺伝子座の変化の存在を検出することを含む方法。

【請求項 4】

自閉症、自閉症領域障害、または自閉症関連の障害の処置に対する被験者の有害反応を評価する方法であって、(i)被験者からの検体の提供、および(ii)該検体のSLC6A1またはSLC6A11遺伝子座の変化の存在を検出することを含む方法。

【請求項 5】

被験者における自閉症、自閉症領域障害、または自閉症関連の障害を予防する方法であって、自閉症、自閉症領域障害、または自閉症関連の障害の素因の徴候である被験者からの検体のSLC6A1またはSLC6A11遺伝子座の変化の存在を検出すること、および自閉症、自閉症領域障害、または自閉症関連の障害に対する予防的処置を施行することからなる方法。

【請求項 6】

SLC6A1またはSLC6A11遺伝子座における変化の存在が、塩基配列決定、選択的ハイブリダイゼーション、および/または選択的増幅によって検出される、請求項1~5のいずれか1項記載の方法。

【請求項 7】

該変化が自閉症と関連する1個または数個のSNPまたはSNPのハプロタイプである、請求項1~5のいずれか1項記載の方法。

【請求項 8】

自閉症、自閉症領域障害、および自閉症関連の障害に対する生物学的活性化合物の選択方法であって、試験化合物とSLC6A1またはSLC6A11ポリペプチドまたはその遺伝子またはその断片とを接触させること、および該試験化合物とSLC6A1またはSLC6A11ポリペプチド、またはその遺伝子またはその断片との結合能を測定することを含む方法。

【請求項 9】

自閉症、自閉症領域障害、および自閉症関連の障害に対する生物学的活性化合物の選択方法であって、試験化合物とSLC6A1またはSLC6A11ポリペプチドを発現する組換え宿主細胞とを接触させること、および該試験化合物と該SLC6A1またはSLC6A11ポリペプチドとの結合能、およびSLC6A1またはSLC6A11ポリペプチド活性の調節能を測定することを含む方法。

【請求項 10】

自閉症、自閉症領域障害、および自閉症関連の障害に対する生物学的活性化合物の選択方法であって、試験化合物とSLC6A1またはSLC6A11遺伝子とを接触させること、および該試験化合物による該SLC6A1またはSLC6A11遺伝子の発現調節能を測定することを含む方法。

【請求項 11】

自閉症、自閉症領域障害、および自閉症関連の障害に対する生物学的活性化合物の選択方法であって、試験化合物と、SLC6A1またはSLC6A11遺伝子プロモーターの

10

20

30

40

50

制御下にあるレポーター遺伝子を含むレポーターコンストラクトを含む組換え宿主細胞とを接触させること、および該レポーター遺伝子の発現を調節する（例えば、促進または減少させる）試験化合物を選択することを含む方法。

【請求項 1 2】

該 S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子、またはそのポリペプチドまたはその断片が、変化または突然変異した S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子、または該変化または突然変異を含むそのポリペプチドまたはその断片である、請求項 8 ~ 1 1 のいずれか一項記載の方法。

【請求項 1 3】

該調節が活性化である、請求項 8 ~ 1 2 のいずれか一項記載の方法。

10

【請求項 1 4】

該調節が抑制である、請求項 8 ~ 1 2 のいずれか一項記載の方法。

【請求項 1 5】

被験者における自閉症、自閉症領域障害、および自閉症関連の障害の処置または予防のための医薬組成物の製造における、S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 のアゴニストまたはアンタゴニスト、S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 のアンチセンスまたは R N A i、S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 ポリペプチドに対して特異的なその抗体、その断片、またはその派生物からなるグループから選択される化合物の使用法。

【請求項 1 6】

該 S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 が S L C 6 A 1 である、請求項 1 ~ 1 4 のいずれか一項記載の方法。

20

【請求項 1 7】

該 S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 が S L C 6 A 1 1 である、請求項 1 ~ 1 4 のいずれか一項記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は概して、遺伝学および医学の分野に関する。

【背景技術】

【0002】

自閉症は、社会的相互作用および言葉・非言語コミュニケーションにおける障害、限定的で、型にはまったパターンの興味および活動、そして3歳までの発育障害の存在を特徴とする、神経精神病的な発育障害である（Baileyら、1996）。彼の小児自閉症に関する先駆的な記述において、Kanner（1943年）は以下の症状を挙げた：言語障害、アイコンタクトの欠如、社会的相互作用の欠如、反復行動、日常的に融通が利かない。彼は、大半の症例において、子供の行動が幼児期から異常であったことを指摘した。これに基づき、彼は、生まれつきの、恐らくは遺伝性の異常の存在を示唆した。1年後、ドイツのHans Aspergerは同様の患者について記載しており、この症状を「自閉的精神病質」と呼んだ。

30

【0003】

自閉症については、これまで疾患を診断するための具体的、生物学的指標は知られていないため、行動基準を利用して定義されている。自閉症の臨床像については、重症度が変動し、教育、能力、気質などの多くの因子によって変わる。さらに、臨床像は個人の発育過程においても変わる。また、自閉症は、注意欠陥障害、運動失調、心配や憂うつなどの精神科的症状といった他の障害と関連付けられることが多い。自閉症が、てんかん性、代謝性、そして免疫性障害も含みうるとの証拠が存在する。該変動性に関する臨床的認識に沿って、全てのレベルの知能、言語能力および全ての重症度にある個人を含めた、一連の自閉症障害が存在するとの一般的な合意が現在存在する。

40

【0004】

自閉症領域の一部であるが、特別なサブグループと見なされているのが、アスペルガー症候群（AS）である。ASは、自閉症領域障害（ASD）の特徴である、社会的相互作用

50

用の障害および限定された反復的行動、興味、活動の存在下で、臨床上の有意な言語発達の遅れの欠如によって自閉性障害とは区別される。

【0005】

A S Dは広汎性発達障害(P P D)の類型である。P P D - N O S (P P D , "not otherwise specified"「他に規定のない限り」)は、非定型自閉症を呈する、または2、3の重要な領域においてほぼ診断基準を満たすことによって、自閉症についての厳密な基準を満たさないが、自閉症に近い小児を分類するために使用される。

【0006】

自閉症の診断を標準化するために、診断基準が世界保健機構(国際疾病分類第10改訂(ICD-10), 1992)およびアメリカ精神医学協会(Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th edition(DSM-IV), 1994)によって定義された。自閉症診断インタビュー(A D I)が開発された(Le Couteurら, 1989; Lordら, 1994)。A D Iは、標準化され、厳しく検証され、そして広く一般に認識されているA S D診断のために利用可能な唯一の診断ツールである。A D Iは、国際疾病分類第10改訂および自閉症の診断に関するD S M - I V基準に基づく、採点方式による親の半構造的面接である。ここでは、3つの主要分野(社会的相互作用の質、コミュニケーションおよび言語、限定的かつ反復的で型にはまった関心および行動)において、行動に焦点を合わせる。これらの基準を利用した場合、自閉症が稀な障害であるとはもはや見なされない。Kannerの基準に基づいた10,000人毎に4-5症例という過去に報告された有病率(Folstein and Rosen-Sheidley, 2001)と比較して、10,000人毎に10-12症例という高い有病率が最近の研究において報告された(Gillberg and Wing, 1999)。自閉性障害の全領域の有病率に関する推定値は1.5~2.5倍高い。女性と比較して、男性では4倍高い発生率の報告には矛盾がない。精神遅滞がA S D症例の25~40%に存在する(Bairdら, 2000; Chakrabarti and Fombonne, 2001)。脳が関与する別の病状が、母集団の約10%で認められる(Gillberg and Coleman, 2000)。

10

20

30

40

50

【0007】

自閉症の報告症例数の増加の根本にあるメカニズムは不明である。この差が、自閉症の有病率の増加、診断基準の段階的变化、病気発現のより大きな変動性の認識、あるいは障害に関する意識の高まりを反映しているのか否かについては大いに議論の余地がある。また、見掛け上の増加が主に環境因子に起因するという広範囲に及ぶ一般の認識がある(Nelson, 1991; Rodier and Hyman, 1998)。しかし、有病率の上昇の大部分が、これらの基準のより広範な適用と共に、診断基準の広幅化によって説明できる可能性は高いと思われる。

【0008】

病気を改善させるための有効な処置が存在するとはいえ、利用可能な治療法はなく、処置の有益性は低くなる傾向がある。様々な行動・発育上の戦略を利用したいくつかのプログラムにおいて有望な結果が得られている。最も有望なものに、応用行動解析(A B A)に基づくプログラムがある。いくつかの薬物療法が、自閉症に関連する様々な症状を改善して、それによって教育的および行動的診断からの個人の受益能を高めると思われた。最も広範に研究されている薬剤はドーパミンアンタゴニストである。数例の研究によって、様々な選択的セロトニン再取り込み阻害薬の有用性が示唆されている。

【0009】

双生児に関する研究3例が、自閉症の遺伝率を推定するために実施されている(Folstein and Rutter, 1977; Baileyら, 1995; Steffenburgら, 1989)。地理的に定義された集団内に生活していた全ての双生児を探し出した。統合データにおいて、一卵性(M Z)双生児36人および二卵性(D Z)双生児30人が調査された。D Z率0%と比較して、平均M Z一致率は70%である。M ZとD Zとの一致率および約2~4%と推定された兄弟での再発リスクから、遺伝率90%以上が算出された(Jordeら, 1991 Szatmariら, 1998)。自閉症ではない血縁者に関する研究によって、社交場での寡黙、コミュニケーションにおける困難、日常での嗜好、変化の困難を含めた、A S Dのいくつかの特徴が、対照と

する親よりも、自閉症の子供達の親においてより頻繁に見いだされることが明らかにされた (Folstein and Rutter, 1977)。発語開始の遅れおよび読みの困難も自閉症患者の家族においてより多く見られ、再発性の憂うつ、不安障害、血小板セロトニンの上昇、そして頭囲の増大も同様であった (Folstein and Rosen-Sheidley, 2001)。

【0010】

自閉症の発生率は罹患した個人との血縁度の低下に応じて有意に低下し、一遺伝子モデルによって大半の自閉症症例が説明される可能性は低いことを示している (Jordeら, 1990)。報告された分離比解析は、多遺伝子性遺伝様式と全く矛盾がなかった (Jordeら, 1991)。最も節約的な遺伝モデルは、数種の遺伝子が自閉症表現型を生じるために互いに相互作用するモデルである (Folstein and Rosen-Sheidley, 2001)。

10

【0011】

相当な状況証拠によって、自閉症における自己免疫の果たし得る役割が示されている。1例の研究では、対照の発端者と比較して、自閉症の発端者のいる家族においてより多くの自己免疫疾患を患う家族メンバーが認められた (Comiら, 1999)。2, 3例の研究では、自閉症を患う一部の子供、または彼らの母親に存在する主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) 遺伝子座のハプロタイプによって、彼らの自閉症の子供たちが自己免疫病にかかりやすくなると報告されている (Burger and Warren, 1998)。2例の研究では、ミエリン塩基性タンパク質、神経細線維タンパク質、脈管上皮などの特定の脳組織およびタンパク質に対する自己抗体が、対照と比較して、自閉症の子供たちにおいてより多く認められた (Singhら, 1993; Connollyら, 1999; Weizmanら, 1982)。

20

【0012】

自閉症の大半の症例について、oligogenicityおよびエピスタシスという示されたメカニズムと矛盾はないが、少数については染色体異常および特定の病因を伴う障害と関連して認められた。Smalley (1997年) は、既知の遺伝性疾患または染色体異常を伴う5~14%を含めた、自閉症症例の約15~37%が合併症を伴うと記述している。ほぼ全てのヒト染色体の関与する染色体異常が報告されている。これらには常染色体の異数性、性染色体異常、欠失、重複、転座、環状染色体、逆位、およびマーカー染色体が含まれる (Gillberg, 1998)。15番染色体上のプラダーウィリ/アンジェルマン症候群の領域の異常が最も多く見られる。自閉症とメンデルの条件または遺伝的症候群との関連には、未治療のフェニルケトン尿症、脆弱X症候群、結節性脳硬化症、および神経線維腫症が含まれる (Carneyら (2003) は、MECP2 遺伝子 (メチル CpG - 結合タンパク質2) の突然変異が症例の80%における原因となっている、レット症候群の症状を伴わない、自閉症を患う2人の女性におけるMECP2 遺伝子の突然変異を同定した。

30

【0013】

様々なグループが、自閉症またはASDのより広範な表現型に関するゲノムスクランを実施している。このアプローチは、組織的でモデルを使用しないため、非常に有望と思われる。また、既に成功していることが示されている。このように比較的小さな試験群での解析によってさえ、陽性の連鎖結果が得られている。より重要なことは、一部の知見が既に再現されていることである。最も安定した結果が染色体7qにおいて得られたが、染色体2qおよび16pにもかなりの重複が認められる (Folstein and Rosen-Sheidley, 2001)。染色体領域の特定における重要な進歩が、同じく15番染色体およびX染色体上において成されている。NLGN (ニューロリジン) 3およびNLGN 4をコード化する2つのX連鎖遺伝子における突然変異が、自閉症領域障害を患う兄弟において同定された (Jamainら, 2003)。いくつかの証拠によって、ニューロリジンの突然変異が自閉性障害に関与しているという事実が裏付けられた。第一に、報告された突然変異は予測されたタンパク質の立体構造に重大な変化を生じる。第二に、NLGN 4を含むXp22.3の欠失が数人の自閉症の小児において報告されている。第三に、NLGN 4の突然変異が、1人の罹患者の母親においてデノボで現れた。

40

【0014】

発明の概要

50

本発明では、治療効果のある薬剤のスクリーニングの他、自閉症、自閉症領域障害、自閉症関連の障害の診断、予防、治療のために利用可能なヒトの自閉症感受性遺伝子の同定について開示されている。

【0015】

本発明では特に、治療効果のある薬剤のスクリーニングの他、自閉症および関連する障害の診断、予防、治療のために利用可能なヒトの自閉症感受性遺伝子の同定について開示されている。本発明では、より具体的には、自閉症への感受性と関連しており、治療的介入の新しい標的の代表である、溶質輸送体 (solute carrier) ファミリー6 (神経伝達物質輸送体、GABA) メンバー1 遺伝子 (SLC6A1) および / または溶質輸送体 (solute carrier) ファミリー6 (神経伝達物質輸送体、GABA) メンバー1 1 遺伝子 (SLC6A11) の特定の対立遺伝子が開示されている。本発明は、SLC6A1 または SLC6A11 遺伝子内の特定の突然変異および発現産物、そしてこれらの突然変異に基づいた診断ツールおよびキットと関連する。本発明は、アスペルガー症候群、広汎性発達障害、小児期崩壊性障害、精神遅滞、心配、憂うつ、注意不足活動過多症障害、発語の遅れまたは言語機能障害、てんかん、代謝異常、免疫障害、双極性疾患および統合失調症などの他の精神疾患および神経疾患の素因の診断、発見、予防および / または治療に使用可能である。

10

【0016】

本発明は、自閉症、自閉症領域障害、または自閉症関連の障害の素因の診断、防御、発見、予防および / または治療において使用可能であり、該方法は、被験者の検体における SLC6A1 または SLC6A11 遺伝子またはポリペプチドにおける変化の存在、自閉症、自閉症領域障害、または自閉症関連の障害の存在または素因の徴候となる該変化の存在の検出を含む。該変化の存在は自閉症からの防御においても徴候となりうる。好ましい第一の実施態様では、該方法は、被験者の検体における SLC6A1 遺伝子またはポリペプチドの変化の存在を検出することを含む。好ましい第二の実施態様では、方法は、被験者からの検体における SLC6A11 遺伝子またはポリペプチドの変化の存在を検出することを含む。

20

【0017】

特に本発明の目的は、被験者における自閉症、自閉症領域障害、または自閉症関連の障害の存在または素因の検出方法にあり、該方法は、被験者の検体での SLC6A1 または SLC6A11 遺伝子座における変化の存在、自閉症、自閉症領域障害、または自閉症関連の障害の存在または素因の徴候となる該変化の存在の検出を含む。好ましい第一の実施態様では、方法は、SLC6A1 遺伝子座の変化の存在を検出することを含む。好ましい第二の実施態様では、方法は、SLC6A11 遺伝子座の変化の存在を検出することを含む。

30

【0018】

特に本発明の別の目的は、被験者における自閉症、自閉症領域障害、または自閉症関連の障害からの防御を検出する方法にあり、該方法は、被験者の検体における SLC6A1 または SLC6A11 遺伝子座の変化の存在、自閉症、自閉症領域障害、または自閉症関連の障害からの防御の徴候となる該変化の存在を検出することを含む。好ましい第一の実施態様では、方法は、SLC6A1 遺伝子座の変化の存在を検出することを含む。好ましい第二の実施態様では、方法は、SLC6A11 遺伝子座の変化の存在を検出することを含む。

40

【0019】

特に本発明の別の目的は、自閉症、自閉症領域障害、または自閉症関連の障害の処置に対する被験者の反応の評価方法にあり、該方法は、被験者の検体での SLC6A1 または SLC6A11 遺伝子座における変化の存在、該処置に対する特定の反応の徴候となる該変化の存在の検出を含む。好ましい第一の実施態様では、方法は、SLC6A1 遺伝子座の変化の存在を検出することを含む。好ましい第二の実施態様では、方法は、SLC6A11 遺伝子座の変化の存在を検出することを含む。

50

【0020】

特に本発明の別の目的は、自閉症、自閉症領域障害、または自閉症関連の障害の処置に対する被験者の有害反応の評価方法にあり、該方法は、被験者の検体でのSLC6A1またはSLC6A11遺伝子座における変化の存在、該処置に対する有害反応の徴候となる該変化の存在の検出を含む。好ましい第一の実施態様では、方法は、SLC6A1遺伝子座の変化の存在を検出することを含む。好ましい第二の実施態様では、方法は、SLC6A11遺伝子座の変化の存在を検出することを含む。

【0021】

本発明は、被験者の検体におけるSLC6A1またはSLC6A11遺伝子座における変化の存在、自閉症、自閉症領域障害、または自閉症関連の障害の素因の徴候となる該変化の存在の検出；および自閉症、自閉症領域障害、または自閉症関連の障害に対する予防的処置の施行を含む、自閉症、自閉症領域障害、または自閉症関連の障害の予防方法とも関連する。好ましい第一の実施態様では、方法は、SLC6A1遺伝子座の変化の存在を検出することを含む。好ましい第二の実施態様では、方法は、SLC6A11遺伝子座の変化の存在を検出することを含む。

10

【0022】

好ましい一実施態様では、該変化は、自閉症と関連する1つ以上のSNPまたはSNPのハプロタイプである。

【0023】

好ましくは、SLC6A1またはSLC6A11遺伝子座の変化は、ハイブリダイゼーションアッセイ、シークエンシングアッセイ、マイクロシークエンシングアッセイ、対立遺伝子特異的増幅アッセイの実施によって判定される。

20

【0024】

本発明の特定の態様は、SLC6A1またはSLC6A11遺伝子を含むゲノム領域内の自閉症と関連する少なくとも1つのSNPまたはハプロタイプを特異的に検出するように設計された、プライマー、プローブ、および/またはオリゴヌクレオチドを含む組成物、またはそれらの組み合わせにある。

【0025】

本発明は、SLC6A1および/またはSLC6A11の発現または活性の調節を介した、被験者における自閉症および/または関連する障害の処置法にもある。該処置には、例えば、SLC6A1および/またはSLC6A11の発現または活性を調節する、SLC6A1および/またはSLC6A11ポリペプチド、SLC6A1および/またはSLC6A11 DNA配列(SLC6A1またはSLC6A11遺伝子座を標的とするアンチセンス配列およびRNAiを含む)、抗SLC6A1および/またはSLC6A11抗体または薬剤が使用される。

30

【0026】

本発明は、遺伝子治療、タンパク質の補給療法、またはSLC6A1またはSLC6A11タンパク質の模倣薬および/または阻害剤の投与などの、発症前処置または併用処置を含めた、SLC6A1またはSLC6A11遺伝子の有害対立遺伝子を有する個人の処置法とも関連している。

40

【0027】

本発明のさらなる態様は、自閉症または関連する障害に関わるSLC6A1またはSLC6A11遺伝子の対立遺伝子、またはその遺伝子産物の調節または結合に基づく、自閉症または関連する障害の治療薬のスクリーニングにある。

【0028】

本発明のさらなる態様には、SLC6A1またはSLC6A11ポリペプチド断片に特異的な抗体および該抗体の派生物、該抗体を分泌するハイブリドーマ、これらの抗体を含む診断キットが含まれる。より好ましくは、該抗体は、変化を含むSLC6A1ポリペプチドまたはその断片に特異的であり、該変化はSLC6A1の活性を変える。または、前記抗体が、変化(該変化はSLC6A11の活性を改変する)を含むSLC6A11ポリ

50

ペプチドまたはその断片に特異的である。

【0029】

本発明は、変化を含む S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子またはその断片にも関しており、該変化は S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 の活性をそれぞれ改変する。本発明は、変化を含む S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 ポリペプチドまたはその断片にも関しており、該変化は S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 の活性を改変する。

【0030】

発明の詳細な説明

本発明では、ヒトの自閉症感受性遺伝子として S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 の同定を開示している。自閉症を患う 1 1 4 の家族からの様々な核酸検体が、特別な G e n o m e H I P プロセスに提出された。このプロセスによって、自閉症の被験者において変化している、該集団における特定の同一家系 (identical-by-descent) 内の断片が同定された。I B D 断片のスクリーニングによって、自閉症および関連する表現型に対する候補として、3 番染色体上の溶質キャリアファミリー 6 (神経伝達物質輸送体、G A B A) メンバー 1 遺伝子 (S L C 6 A 1) および溶質キャリアファミリー 6 (神経伝達物質輸送体、G A B A) メンバー 1 1 遺伝子 (S L C 6 A 1 1) を同定した。これらの遺伝子は実際に重要な間隔内に存在しており、自閉症における遺伝子調節と一致した機能的表現型を発現する。

10

【0031】

このように本発明は、治療効果のある薬剤のスクリーニングの他、自閉症、自閉症領域障害、自閉症関連の障害の、診断、予防、治療のために S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子および対応する発現産物を使用することを提案している。

20

【0032】

定義

自閉症および自閉症領域障害 (A S D) : 自閉症は通常、アスペルガー症候群 (A S) 、小児期崩壊性障害 (C D D) および他の広汎性発達障害 (P P D) といった領域障害 (A S D) の一部と特徴付けられる。自閉症は、健康が損なわれうる程度にまで、3 歳までの行動、興味、活動の様式が限定的、反復的で、型にはめられている、社会的相互作用およびコミュニケーションが損なわれた状態と解釈される。A S は、自閉症領域障害 (A S D) の特徴である、社会的相互作用の障害および限定された反復的行動、興味、活動の存在下で、言語発達における臨床上的有意な遅れの欠如によって、自閉症から区別される。C D D は、過去に完全に健常と思われた小児において発症する。通常、言語、社会環境に対する興味、そしてしばしば排泄やセルフケア能力が失われており、環境に対する興味が全般的に喪失している可能性がある。小児は通常、非常に「自閉症的 (autistic) 」に見える (つまり、臨床所見 (病歴ではない) が自閉症を患う小児に特有である) 。P P D - N O S (P P D , not otherwise specified 「他に規定のない限り」) は、非定型自閉症を呈する、または 2、3 の重要な部位においてほぼ診断基準を満たすことによって、自閉症についての厳密な基準を満たさないが、自閉症に近い子供たちを分類するために使用される。

30

【0033】

自閉症関連の障害、疾患、病状として、より具体的には代謝異常、免疫障害、てんかん、心配、憂うつ、注意不足活動過多症障害、発語の遅れまたは言語機能障害、運動失調、統合失調症、双極性疾患が挙げられる。

40

【0034】

本発明は、様々な被験者、特に成人、子供および胎児を含めたヒトにおいて使用可能である。

【0035】

本発明の文脈中で、S L C 6 A 1 遺伝子座とは、S L C 6 A 1 コード配列、S L C 6 A 1 非コード配列 (例えば、イントロン) 、転写、翻訳 (例えば、プロモーター、エンハンサー、ターミネーターなど) 、R N A および / またはタンパク質の安定性をコントロール

50

する S L C 6 A 1 調節配列を含めた、細胞または生物内の全ての S L C 6 A 1 配列または産物、そして S L C 6 A 1 RNA (例えば、mRNA) および S L C 6 A 1 ポリペプチド (例えば、タンパク質前駆体および成熟タンパク質) などの対応する発現産物を示す。S L C 6 A 1 遺伝子座は、S L C 6 A 1 遺伝子内に位置する SNP と連鎖不平衡にある SNP を含む S L C 6 A 1 遺伝子の周辺配列も含む。

【0036】

本発明の文脈中で、S L C 6 A 1 1 遺伝子座とは、S L C 6 A 1 1 コード配列、S L C 6 A 1 1 非コード配列 (例えば、イントロン)、転写、翻訳 (例えば、プロモーター、エンハンサー、ターミネーターなど)、RNA および / またはタンパク質の安定性をコントロールする S L C 6 A 1 1 調節配列を含めた、細胞または生物内の全ての S L C 6 A 1 1 配列または産物、そして S L C 6 A 1 1 RNA (例えば、mRNA) および S L C 6 A 1 1 ポリペプチド (例えば、タンパク質前駆体および成熟タンパク質) などの対応する発現産物を示す。S L C 6 A 1 1 遺伝子座は、S L C 6 A 1 1 遺伝子内に位置する SNP と連鎖不平衡にある SNP を含む S L C 6 A 1 1 遺伝子の周辺配列も含む。

10

【0037】

本出願において使用されているとおり、「S L C 6 A 1 遺伝子 (S L C 6 A 1 gene)」という用語は、自閉症および自閉症関連の障害への感受性に関係する、ヒト3番染色体上の溶質キャリアファミリー6 (神経伝達物質輸送体、GABA) メンバー1 遺伝子 (S L C 6 A 1)、そしてその対立遺伝子 (例えば、生殖細胞系突然変異) を含めた、その変異体、類似体および断片を示す。S L C 6 A 1 遺伝子の別名は、G A T 1、G A B A T R、G A B A T H G である。

20

【0038】

本出願において使用されているとおり、「S L C 6 A 1 1 遺伝子 (S L C 6 A 1 1 gene)」という用語は、自閉症および自閉症関連の障害への感受性に関係する、ヒト3番染色体上の溶質キャリアファミリー6 (神経伝達物質輸送体、GABA) メンバー1 1 遺伝子 (S L C 6 A 1 1)、そしてその対立遺伝子 (例えば、生殖細胞系突然変異) を含めた、その変異体、類似体および断片を示す。S L C 6 A 1 1 遺伝子の別名は、G A T 3、G A T - 3 である。

【0039】

「遺伝子 (gene)」という用語は、ゲノムDNA (gDNA)、相補的DNA (cDNA)、合成または半合成DNA、対応する任意の形のRNAを含めた、任意の種類のコド核酸を含むと解釈される。遺伝子という用語は特に、S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 をコードする組換え核酸、つまり人工的に作成された (例えば、配列の組み立て、切断、連結、増幅による) 非天然核酸を含む。通常、S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子は二本鎖であるが、一本鎖などの他の形も検討できる。S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子は、DNAライブラリーのスクリーニング、または様々な天然材料からの増幅など、様々な材料から、そして周知の様々な技術によって得ることができる。組換え核酸は、化学合成、遺伝子工学、酵素技術またはこれらの組み合わせを含めた、従来の方法によって調製可能である。適当な S L C 6 A 1 遺伝子配列は、Unigene Cluster for S L C 6 A 1 (Hs. 443874) および Unigene Representative Sequence NM_003042 などのジーンバンクにおいて見出すことができる。S L C 6 A 1 遺伝子の特定の実施例は配列番号1を含む。適当な S L C 6 A 1 1 遺伝子配列は、Unigene Cluster for S L C 6 A 1 1 (Hs. 101791) および Unigene Representative Sequence NM_014229 などのジーンバンクにおいて見出すことができる。S L C 6 A 1 1 遺伝子の特定の実施例は配列番号3を含む。

30

40

【0040】

「S L C 6 A 1 遺伝子 (S L C 6 A 1 gene)」という用語は、配列番号1の変異体、断片もしくは類似体、または先に同定された任意のコド配列を含んでいる。「S L C 6 A 1 1 遺伝子 (S L C 6 A 1 1 gene)」という用語は、配列番号3の変異体、

50

断片もしくは類似体、または先に同定された任意のコード配列を含んでいる。該変異体には、例えば、個人間での対立遺伝子のバリエーションに起因する天然の変異体（例えば、多型）、自閉症と関連する突然変異対立遺伝子、選択的スプライシングの型などが含まれる。変異体という用語には、別の材料または生物由来の S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子配列も含まれる。変異体は、好ましくは配列番号 1 または 3 とかなりの相同性を有しており、つまり配列番号 1 または 3 とそれぞれ少なくとも約 65%、通常は少なくとも約 75%、好ましくは少なくとも約 85%、より好ましくは少なくとも約 95% のヌクレオチド配列の同一性を示す。S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子の変異体および類似体は核酸配列も含んでおり、これはストリンジентなハイブリダイゼーション条件下で先に定義された配列（またはその相補鎖）とハイブリダイズする。

10

【0041】

通常のストリンジентなハイブリダイゼーション条件として、温度 30 以上、好ましくは 35 以上、より好ましくは 42 以上、および/または塩分約 500 mM 未満、好ましくは 200 mM 未満が挙げられる。ハイブリダイゼーション条件は、温度、塩分および/または SDS、SSC などの他の薬剤の濃度を変えることで当業者によって調節可能である。

【0042】

S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子断片は、先に開示された少なくとも約 8 個、好ましくは少なくとも約 15 個、より好ましくは少なくとも約 20 個、さらに好ましくは少なくとも約 30 個の連続するヌクレオチド配列の任意の一部を示す。断片には、ヌクレオチド 8 ~ 100 個、好ましくは 15 ~ 100 個、より好ましくは 20 ~ 100 個の全ての可能なヌクレオチド長を含む。

20

【0043】

S L C 6 A 1 ポリペプチドとは、先に開示された S L C 6 A 1 遺伝子によってコード化される任意のタンパク質またはポリペプチドを示す。「ポリペプチド」という用語は、アミノ酸の伸長を含む任意の分子を示している。この用語は、ペプチドおよびタンパク質などの様々な長さの分子を含む。ポリペプチドは、グリコシル化および/またはアセチル化および/または化学反応または結合などによって改変が可能であり、1 つ以上の非天然型アミノ酸または合成アミノ酸を含みうる。S L C 6 A 1 ポリペプチドの特定の例には、配列番号 2 (N P _ 0 0 3 0 3 3) の全体または一部を含む。

30

【0044】

S L C 6 A 1 ポリペプチドとは、先に開示された S L C 6 A 1 1 遺伝子によってコード化される任意のタンパク質またはポリペプチドを示す。「ポリペプチド」という用語は、アミノ酸の伸長を含む任意の分子を示している。この用語は、ペプチドおよびタンパク質などの様々な長さの分子を含む。ポリペプチドは、グリコシル化および/またはアセチル化および/または化学反応または結合などによって改変が可能であり、1 つ以上の非天然型アミノ酸または合成アミノ酸を含みうる。S L C 6 A 1 1 ポリペプチドの特定の例には、配列番号 4 (N P _ 0 5 5 0 4 4) の全体または一部を含む。

【0045】

「処置への反応」という用語は、治療化合物の代謝能力、プロドラッグの活性薬剤への変換能ならびに個人における薬剤の薬物動態（吸収、分布、排出）および薬力学（受容体関連）といった処置効果を示すが、これらに限定されない。

40

【0046】

「処置に対する有害反応」という用語は、薬剤の主な薬理作用の延長に起因する治療の有害反応、または薬剤と固有の宿主因子との相互作用に起因する特有の有害反応を示す。「処置に対する副作用」として、皮膚、血液、肝臓への毒性などの有害反応、さらに胃腸での潰瘍形成、血小板機能の障害、腎臓傷害、全身性の蕁麻疹、気管支狭窄、低血圧、ショックが挙げられるが、これらに限定されない。

【0047】

診断

50

本発明では、ここで被験者における S L C 6 A 1 および / または S L C 6 A 1 1 遺伝子座のモニタリングに基づく診断方法が提供されている。本発明の文脈中において、「診断」という用語は、成人、子供および胎児における、初期、発症前および後期を含めた様々な段階での、検出、モニタリング、投薬、比較などを含む。通常、診断には、予後、素因または発症リスクの評価、最適な処置を決定するための被験者の特性付け（薬理遺伝）などが含まれる。

【 0 0 4 8 】

本発明は、個人において、自閉症、自閉症領域障害、自閉症関連の障害を発症するリスクがあるのか、もしくは S L C 6 A 1 および / または S L C 6 A 1 1 遺伝子座の突然変異または多型に起因する自閉症、自閉症領域障害、自閉症関連の障害を患うか否かを判定するための診断方法を提供する。本発明は、個人が治療薬に対して治療効果を示す可能性があるのか否か、または個人が治療薬に対する有害反応を生じるリスクがあるのか否かを判定する方法を提供する。

10

【 0 0 4 9 】

本発明の特定の目的は、被験者における自閉症、自閉症領域障害、または自閉症関連の障害の存在または素因を検出する方法にあり、該方法は被験者の検体の S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子座における変化の存在の検出を含む。該変化の存在は、自閉症、自閉症領域障害、または自閉症関連の障害の存在または素因の徴候である。場合により、該方法は被験者から検体を提供する前段階を含む。好ましくは、該検体中の S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子座内の変化の存在は、検体の遺伝子型決定によって検出される。

20

【 0 0 5 0 】

本発明の別の特定の目的は、被験者における自閉症、自閉症領域障害、または自閉症関連の障害からの防御を検出する方法にあり、該方法は被験者の検体の S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子座における変化の存在の検出を含み、該変化の存在は、自閉症、自閉症領域障害、または自閉症関連の障害からの防御の徴候である。

【 0 0 5 1 】

好ましい一実施態様では、該変化は、自閉症と関連する 1 つ以上の S N P または S N P のハプロタイプである。

【 0 0 5 2 】

本発明の別の特定の目的は、自閉症、自閉症領域障害、または自閉症関連の障害の処置に対する被験者の反応を評価する方法であり、該方法は (i) 被験者の検体の提供、および (i i) 該検体の S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子座における変化の存在の検出を含む。

30

【 0 0 5 3 】

本発明の別の特定の目的は、自閉症、自閉症領域障害、または自閉症関連の障害の処置に対する被験者の反応を評価する方法にあり、該方法は被験者の検体の S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子座における変化の存在の検出を含む。該変化の存在は、該処置に対する特定の反応の徴候である。好ましくは、該検体中の S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子座内の変化の存在は、検体の遺伝子型決定によって検出される。

40

【 0 0 5 4 】

本発明の別の特定の目的は、自閉症、自閉症領域障害、または自閉症関連の障害の処置に対する被験者の有害反応を評価する方法にあり、該方法は被験者の検体の S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子座における変化の存在の検出を含む。該変化の存在は、該処置に対する有害反応の徴候である。好ましくは、該検体中の S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子座内における変化の存在は、検体の遺伝子型決定によって検出される。

【 0 0 5 5 】

好ましい一実施態様では、該変化は、自閉症と関連する 1 つ以上の S N P または S N P のハプロタイプである。

【 0 0 5 6 】

50

別の一実施態様では、本発明は、被験者における自閉症、自閉症領域障害、または自閉症関連の障害の予防方法に関するものであり、被験者の検体の S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子座における変化の存在の検出（該変化の存在が自閉症、自閉症領域障害、または自閉症関連の障害の素因の徴候となる）；および自閉症、自閉症領域障害、または自閉症関連の障害に対する予防的処置の施行を含む。該予防的処置は、薬物投与でありうる。

【0057】

処置または薬剤に対する反応、または処置または薬剤に対する副作用を解析および予測する診断法を利用して、個人を特定の処置薬で治療すべきか否かを判断できる。例えば、仮に診断において個人が特定の薬物処置に対して効果を示す可能性が示される場合、その個人に薬剤を投与できる。反対に、仮に診断において個人が特定の薬物処置に対して効果を示さない可能性が示される場合、代替りの処置コースを処方できる。効果を示さない反応とは、有効な反応の欠如または有毒な副作用の存在のいずれかとして定義できる。

10

【0058】

臨床試験では S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 SNP の別の用途が示される。上記の方法を利用して、薬剤への反応または薬剤への副作用の徴候となる 1 つ以上の S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 SNP を同定可能である。その後、該薬剤の臨床試験における潜在的な参加者をスクリーニングして、該薬剤に良好な反応を示す可能性の最も高い個人を特定して、副作用を経験する可能性の高い個人を除外できる。このようにして、試験において効果を示す可能性の低い個人を含めた結果として、測定値を低下させることなく、また好ましくない安全性の問題という危険を冒すことなく、薬剤に効果を示す個人において薬物療法の有効性を判定可能である。

20

【0059】

変化は、S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 g D N A、R N A、またはポリペプチドのレベルで判定可能である。場合により、S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子の全体または一部分の塩基配列決定、または S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子の全体または一部分の選択的ハイブリダイゼーションまたは選択的増幅によって検出される。より好ましくは、変化の同定段階より前に、S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子を特異的に増幅させる。

【0060】

S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子座の変化は、単独または様々な組み合わせで、遺伝子座のコード領域および/または非コード領域内の突然変異、欠失、再配列および/または挿入の任意の形でありうる。突然変異はより具体的には点変化を含む。欠失は、残基 2 個から遺伝子または遺伝子座全体までの、遺伝子座のコード部分または非コード部位内の 2 つ以上の残基の任意の領域を含みうる。典型的な欠失は、約 50 個未満の連続する塩基対のドメイン（イントロン）または反復配列または断片などの、小さな領域に影響を及ぼすが、より大きな欠失も生じうる。挿入は、遺伝子座のコード部位または非コード部位内の 1 個または数個の残基の付加を含みうる。挿入は通常、遺伝子座内の 1 ~ 50 個の塩基対の付加を含みうる。再配列には配列の逆位が含まれる。S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子座の変化は、停止コドンの形成、フレームシフト変化、アミノ酸置換、特定の R N A スプライシングまたはプロセッシング、産物の不安定化、切断ポリペプチドの産生などをもたらす。該変化は、機能、安定性、標的化、構造の変化した S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 ポリペプチドの産生をもたらす。該変化は、タンパク質発現の減少、あるいは該生産量の増加の原因にもなりうる。

30

40

【0061】

本発明に従った方法での特定の一実施態様では、S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子座における変化は、S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子または対応する発現産物における点突然変異、欠失および挿入、より好ましくは点突然変異および欠失から選択される。該変化は、S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 g D N A、R N A、またはポリペプチドのレベルで判定されうる。

50

【0062】

本発明に従った任意の方法では、SLC6A1またはSLC6A11遺伝子内の1つまたは数個のSNP、およびSLC6A1またはSLC6A11遺伝子内のSNPを含む特定のハプロタイプを、自閉症、自閉症領域障害、または自閉症関連の障害と関連している、また他の遺伝子内に存在する、別のSNPまたはハプロタイプと併用可能である。

【0063】

別の変形では、方法には、SLC6A1またはSLC6A11 RNA発現の変化の存在の検出が含まれる。RNA発現の変化には、RNA配列の変化の存在、RNAスプライシングまたはプロセッシングの変化の存在、RNA量の変化の存在などが含まれる。これらは周知の様々な技術、例えば、SLC6A1またはSLC6A11 RNAの全体または一部分の塩基配列決定、または該RNAの全体または一部分の選択的ハイブリダイゼーションまたは選択的増幅によって検出可能である。

10

【0064】

さらなる形では、方法には、SLC6A1またはSLC6A11ポリペプチド発現の変化の存在の検出が含まれる。SLC6A1またはSLC6A11ポリペプチド発現の変化には、ポリペプチド配列の変化の存在、SLC6A1またはSLC6A11ポリペプチド量の変化の存在、組織分布における変化の存在などが含まれる。これらは公知の様々な技術、例えば、配列決定および/または特定リガンド(抗体など)への結合によって検出可能である。

【0065】

上記のとおり、配列決定、ハイブリダイゼーション、増幅および/または特定リガンド(抗体)への結合など、公知の様々な技術を利用して、SLC6A1またはSLC6A11遺伝子/RNA発現または配列の変化を検出または定量可能である。他の適当な方法には、対立遺伝子特異的オリゴヌクレオチド(ASO)、対立遺伝子特異的増幅、サザンブロットティング(DNA)、ノーザンブロットティング(RNA)、一本鎖高次構造解析(SSCA)、PFGE、蛍光in situハイブリダイゼーション法(FISH)、ゲル移動、クランプ変性ゲル電気泳動法、ヘテロ二本鎖解析、RNaseプロテクション法、化学的ミスマッチ切断、ELISA、ラジオイムノアッセイ(RIA)および免疫酵素アッセイ(IEMA)が含まれる。

20

【0066】

これらの方法の一部(例えば、SSCAおよびCGGE)は、配列の変化の存在に起因する、核酸の電気泳動移動度の変化に基づいている。これらの技術に従って、配列の変化をゲル上での移動度の変化によって可視化させる。次に、断片の配列を決定して、変化を確認する。

30

【0067】

他の一部は、被験者の核酸と野生型または変異SLC6A1またはSLC6A11遺伝子またはRNAに特異的なプローブとの特異的ハイブリダイゼーションに基づいている。プローブは、浮遊状態にするか、もしくは基質に固定できる。プローブは通常、標識して、ハイブリッドの検出を容易にする。

【0068】

これらのアプローチの一部(ノーザンブロット、ELISA、RIAなど)は、ポリペプチド配列または発現レベルの評価に特に適している、これらの後者では、ポリペプチドに特異的なリガンド、より好ましくは特異的抗体の使用が必要となる。

40

【0069】

特に、好ましい一実施態様では、方法には、被験者の検体におけるSLC6A1またはSLC6A11遺伝子発現プロファイルの変化の存在の検出が含まれる。上記のとおり、これは、より好ましくは、該検体に存在する核酸の配列決定、選択的ハイブリダイゼーションおよび/または選択的増幅によって達成可能である。

【0070】

配列決定

50

自動シーケンサーを用いて、周知の技術を利用して配列決定を実施可能である。完全な S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子、より好ましくは、通常、有害突然変異またはその他の変化を有することが判明している、または有することが疑われる S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子の特異的領域について配列決定を実施可能である。

【 0 0 7 1 】

増幅

増幅は、核酸複製の開始に役立つ相補的な核酸配列間での特異的ハイブリッドの形成に基づいている。

【 0 0 7 2 】

ポリメラーゼ連鎖反応 (P C R)、リガーゼ連鎖反応 (L C R)、鎖置換増幅 (S D A)、核酸配列に基づく増幅 (N A S B A) などの公知の様々な技術に従って増幅を実施する。これらの技術は、市販の試薬およびプロトコルを利用して実施可能である。好ましい技術では、対立遺伝子特異的 P C R または P C R - S S C P が利用される。通常、増幅において、反応を開始させるために特異的な核酸プライマーの使用が必要である。

10

【 0 0 7 3 】

S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子または遺伝子座からの配列の増幅に有用な核酸プライマーは、該遺伝子座の標的領域に隣接する S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子座の一部に特異的にハイブリダイズ可能であり、該標的領域は、自閉症、自閉症領域障害、または自閉症関連の障害を患う特定の個人において変化している。

【 0 0 7 4 】

S N P を含む S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 標的領域を増幅させるために使用可能なプライマーは、配列番号 1 または 3 の配列または S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 のゲノム配列に基づいて設計されうる。

20

【 0 0 7 5 】

本発明の別の特定の目的は、周辺領域を含めた S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子または遺伝子座からの配列の増幅に有用な核酸プライマーにある。該プライマーは、好ましくは S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子座内の核酸配列と相補的であり、特異的にハイブリダイズする。特定のプライマーは、該遺伝子座の標的領域に隣接する S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子座の一部と特異的にハイブリダイズ可能であり、該標的領域は、自閉症、自閉症領域障害、または自閉症関連の障害を患う特定の個人において変化している。

30

【 0 0 7 6 】

本発明は核酸プライマーとも関連しており、該プライマーは自閉症、自閉症領域障害、または自閉症関連の障害を患う特定の被験者において変化している S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 コード配列 (例えば、遺伝子または R N A) の一部と相補的であり、特異的にハイブリダイズする。この点について、本発明の特定のプライマーは S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子 / R N A の変化した配列に特異的である。該プライマーを使用した増幅産物の検出は、S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子座における変化の存在を示す。対照的に、増幅産物の非存在は、検体中に特定の変化が存在しないことを示す。

【 0 0 7 7 】

本発明の通常のプライマーは、約 5 ~ 6 0 ヌクレオチド長、より好ましくは約 8 ~ 2 5 ヌクレオチド長の一本鎖核酸分子である。配列は、S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子座の配列に直接由来できる。高い特異性を保証するには、完全な相補性が好ましい。しかし、一定のミスマッチは許容できる。

40

【 0 0 7 8 】

本発明は、被験者における自閉症、自閉症領域障害、または自閉症関連の障害の存在または素因の検出方法、または自閉症、自閉症領域障害、または自閉症関連の障害の処置に対する被験者の反応の評価方法における上記の核酸プライマーまたは核酸プライマー対の使用とも関連している。

【 0 0 7 9 】

50

選択的ハイブリダイゼーション

ハイブリダイゼーションの検出方法は、核酸配列の変化の検出に役立つ相補的な核酸配列間での特異的ハイブリッドの形成に基づいている。

【0080】

特定の検出方法には、野生型または変化した S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子または R N A に特異的な核酸プローブの使用、そしてその後のハイブリッドの存在の検出が含まれる。プローブは、浮遊状態にするか、または基質または担体上に固定できる（核酸アレイまたはチップ技術など）。プローブは通常、標識付きで、ハイブリッドの検出を容易にする。

【0081】

この点について、本発明の特定の一実施態様は、被験者の検体と変化した S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子座に対して特異的な核酸プローブとを接触させること、およびハイブリッド形成を評価することを含む。特に、好ましい一実施態様では、該方法は、検体と野生型 S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子座およびその様々な変化型に対して特異的な一連のプローブとが同時に接触することを含む。この実施態様では、検体中の S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子座における様々な変化のその存在を直接検出できる。また、様々な被験者の様々な検体を同時に処理できる。

【0082】

本発明の文脈中では、プローブは、S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子または R N A（の標的部位）と相補的かつ特異的なハイブリダイゼーションが可能であり、また自閉症、自閉症領域障害、または自閉症関連の障害に罹りやすくする、または関連する S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 対立遺伝子と関連するポリヌクレオチド多型の検出に適したポリヌクレオチド配列を示す。プローブは好ましくは S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子、R N A、またはその標的部位と完全に相補的である。通常、プローブは、8 ~ 1,000ヌクレオチド長、例えば10 ~ 800、より好ましくは15 ~ 700、通常は20 ~ 500ヌクレオチド長の一本鎖核酸を含んでいる。より長いプローブも使用可能であることを理解する必要がある。本発明の好ましいプローブは、8 ~ 500ヌクレオチド長の一本鎖核酸分子であり、これは変化を有する S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子または R N A の領域に特異的にハイブリダイズできる。

【0083】

本発明の具体的な一実施態様は、変化した（例えば、突然変異を起こした）S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子または R N A に特異的な核酸プローブ、つまり該変化した S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子または R N A に特異的に結合するが、該変化を欠く S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子または R N A には本質的にハイブリダイズしない核酸プローブである。特異性とは、標的配列へのハイブリダイゼーションが、非特異的ハイブリダイゼーションによって生じるシグナルとは区別可能な特異的シグナルを生じることを示している。本発明に従ったプローブを設計するためには、完全に相補的な配列が好ましい。一方で、特異的シグナルが非特異的シグナルと区別可能である限り、ある程度のミスマッチは許容可能であることを理解する必要がある。

【0084】

該プローブの配列は、本出願において示される S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子および R N A の配列由来とすることができる。プローブの化学的改変の他、ヌクレオチドの置換も可能である。該化学的改変は、ハイブリッドの安定性の向上（例えば、挿入基）またはプローブの標識化のために実施できる。標識の典型例として放射能、蛍光、発光、酵素標識などが挙げられるが、これらに限定されない。

【0085】

本発明は、被験者における自閉症、自閉症領域障害、または自閉症関連の障害の存在または素因の検出方法、または自閉症、自閉症領域障害、または自閉症関連の障害の処置に対する被験者の反応の評価方法における上記の核酸プローブの使用にも関する。

【0086】

10

20

30

40

50

特異的なリガンド結合

上記のとおり、S L C 6 A 1またはS L C 6 A 1 1遺伝子座の変化は、S L C 6 A 1またはS L C 6 A 1 1ポリペプチド配列または発現レベルにおける変化をそれぞれスクリーニングすることによっても検出可能である。この点において、本発明の具体的な一実施態様には、検体とS L C 6 A 1またはS L C 6 A 1 1ポリペプチドに特異的なリガンドとの接触、および複合体の形成の決定が含まれる。

【0087】

特異的な抗体などの異なる種類のリガンドを使用可能である。具体的な一実施態様では、検体をS L C 6 A 1またはS L C 6 A 1 1ポリペプチドに特異的な抗体と接触させて、免疫複合体の形成を判定する。E L I S A、ラジオイムノアッセイ(R I A)および免疫酵素アッセイ(I E M A)などの免疫複合体を検出するための様々な方法を使用可能である。

10

【0088】

本発明の文脈中では、抗体は、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、そして実質的に同じ抗原特異性を有するこれらの断片または派生物を示す。断片には、F a b、F a b ' 2、C D R領域などが含まれる。派生物には、一本鎖抗体、ヒト化抗体、多機能性抗体などが含まれる。

【0089】

S L C 6 A 1またはS L C 6 A 1 1ポリペプチドに特異的な抗体とは、S L C 6 A 1またはS L C 6 A 1 1ポリペプチドにそれぞれ選択的に結合する抗体、つまりS L C 6 A 1またはS L C 6 A 1 1ポリペプチドまたはそのエピトープを含む断片に対して作成された抗体を示す。他の抗原に対して非特異的な結合も生じるが、標的であるS L C 6 A 1またはS L C 6 A 1 1ポリペプチドに高い親和性で結合し、非特異的な結合とは確実に識別可能である。

20

【0090】

具体的な一実施態様では、該方法は、被験者からの検体と変化した型のS L C 6 A 1またはS L C 6 A 1 1ポリペプチドに対して特異的な抗体(でコーティングされた担体)とを接触させること、および免疫複合体の存在を測定することを含む。特定の一実施態様では、野生型およびその様々な変化型などのS L C 6 A 1またはS L C 6 A 1 1ポリペプチドの異なる型に特異的な様々な抗体(でコーティングされた担体)と検体とを同時または

30

【0091】

本発明は、被験者における自閉症、自閉症領域障害、または自閉症関連の障害の存在または素因の検出方法、または自閉症、自閉症領域障害、または自閉症関連の障害の処置に対する被験者の反応の評価方法における上記のリガンド、好ましくは抗体、断片またはその派生物の使用にも関する。

【0092】

本発明は、被験者の検体におけるS L C 6 A 1またはS L C 6 A 1 1遺伝子またはポリペプチド、S L C 6 A 1またはS L C 6 A 1 1遺伝子またはポリペプチドの発現、および/またはS L C 6 A 1またはS L C 6 A 1 1活性における変化の存在を検出するための物

40

【0093】

診断方法は、インビトロ、エクスピボ、またはインピボ、好ましくはインビトロまたはエクスピボで実施可能である。これらにおいては、被験者の検体を用いて、S L C 6 A 1またはS L C 6 A 1 1遺伝子座の状態を評価する。検体は、核酸またはポリペプチドを含む、被験者由来の任意の生物検体が可能である。該検体の例として、体液、組織、細胞検

50

体、器官、生検などが挙げられる。最も好ましい検体は、血液、血漿、唾液、尿、精液などである。例えば胎児細胞や胎盤細胞の検査によって出生前診断を実施することも可能である。従来の方 法に従って検体を採取して、診断に直接使用するか、保存することが可能である。検査において核酸またはポリペプチドの可用性を与える、もしくは向上させるために、該方法の実施前に検体を処理可能である。処理としては、例えば溶解（例えば、機械的、物理的、化学的など）、遠心分離などが挙げられる。また、核酸および/またはポリペプチドを従来の方 法で前精製または濃縮する、および/または複雑性を低減させることができる。核酸およびポリペプチドに酵素処理、または他の化学的処理または物理的処理を施して、その断片を作成することもできる。請求の範囲に記載されている方法の高い感度を考慮すると、アッセイの実施にはごく微量の検体で十分である。

10

【0094】

示されたように、変化した S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子座の存在を評価するために、好ましくはプローブ、プライマーまたはリガンドなどの試薬を検体と接触させる。プレート、チューブ、ウェル、ガラスなどの適当なデバイス内で接触させることができる。具体的な実施態様では、核酸アレイまたは特異的リガンドアレイなど、試薬でコーティングされた基質上で接触させることができる。該基質は、ガラス、プラスチック、ナイロン、紙、金属、ポリマーなどを含む任意の担体といった固形または半固形基質でありうる。基質は、スライド、メンブレン、ビーズ、カラム、ゲルなどの様々な形状および大きさでありうる。試薬と検体の核酸またはポリペプチドとの間で複合体を形成するのに適した条件下で接触させることができる。

20

【0095】

検体中の変化した S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 ポリペプチド、RNA または DNA に関する知見は、被験者における変化した S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子座の存在の徴候であり、これは自閉症、自閉症領域障害、または自閉症関連の障害の存在、素因、または進行の段階と相関する可能性がある。例えば、生殖細胞系に S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 突然変異を有する個体では、自閉症、自閉症領域障害、または自閉症関連の障害を発症するリスクが増大している。被験者における変化した S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子座の存在の判定によっても、より効果的でオーダーメイドされた、適切な治療的診断の計画が可能となる。また、発症前の段階でのこの判定によって、予防計画の適用が可能となる。

30

【0096】**連鎖不平衡**

第一の SNP が目的のゲノム領域内、より具体的には S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子座内で同定されれば、通常 1 の技量を有する専門家であれば、最初の SNP と連鎖不平衡にある追加の SNP を容易に同定可能である。実際に、自閉症または関連する障害と関連する第一の SNP と連鎖不平衡にある任意の SNP は、この特性と関連しうる。したがって、ひとたび任意の SNP と自閉症または関連する障害との関連が実証されれば、この特定領域内において SNP 密度を増すために、この特性と関連する追加の SNP を発見することが重要となる。

40

【0097】

任意の SNP と連鎖不平衡にある追加の SNP の同定には、(a) 複数の個体由来の第一の SNP を含む、または第一の SNP の周辺のゲノム領域からの断片の増幅、(b) 第一の該 SNP を含む、または第一の SNP の周辺のゲノム領域内の第二の SNP の同定、(c) 第一の SNP と第二の SNP との間での連鎖不平衡解析の実施、および (d) 第一の該マーカーと連鎖不平衡にあるものとしての第二の該 SNP の選択が含まれる。(b) および (c) の段階を含むサブコンビネーションも検討される。

【0098】

SNP を同定して、連鎖不平衡解析を実施するための方法は、過度の実験もなく、周知の方法によって当業者によって実施可能である。

【0099】

50

連鎖不平衡にあるこれらのSNPは、本発明に従った方法、より特には本発明に従った診断方法においても使用可能である。

【0100】

例えば、クローン病の連鎖遺伝子座は、染色体5q31上の18cMに及ぶ広範な領域にマッピングされている(Riouxら, 2000 and 2001)。領域全体に及ぶマイクロサテライトマーカーおよびSNPの高密度マップを利用して、連鎖不平衡(LD)の有力な証拠が見出された。LDの証拠を発見したため、著者らは、超高密度SNPマップを作成して、このマップから選択されたマーカーのより高密度な一群について研究した。多遺伝子座解析によって、TDTを利用してそれぞれ個別に関連付けられた複数のSNPを特徴とする単一の共通したリスクハプロタイプを明確にした。これらのSNPはリスクハプロタイプに固有であり、互いにほぼ完全なLDにあるために、本質的に情報の内容は同一である。これらのSNPの同等の特性によって、遺伝的証拠のみに基づいてこの領域内の原因となる突然変異の同定が不可能となる。

10

【0101】

原因となる突然変異

自閉症または関連する障害に関与するSLC6A1またはSLC6A11遺伝子の突然変異は、自閉症または関連する障害を呈する患者と対照の個体由来のSLC6A1またはSLC6A11遺伝子の配列を比較することで同定できる。SLC6A1またはSLC6A11のSNPと自閉症または関連する障害との同定された関連に基づいて、同定された遺伝子座の突然変異をスキャンできる。好ましい一実施態様では、SLC6A1またはSLC6A11遺伝子のエクソンおよびスプライシング部位、プロモーターなどの機能的領域およびその他の調節領域の突然変異がスキャンされる。好ましくは、自閉症または関連する障害を呈する患者が、自閉症または関連する障害と関連することが示されている突然変異を有しており、対照の個体は自閉症または関連する障害と関連する突然変異または対立遺伝子を有していない。自閉症または関連する障害を呈する患者が、対照である個体よりも高い頻度で、自閉症または関連する障害と関連することが示される突然変異を有することもありうる。

20

【0102】

該突然変異を検出するために使用される方法は、通常、以下の段階：自閉症または関連する障害を呈する患者および対照である個体由来のSLC6A1またはSLC6A11遺伝子のDNA検体からの、自閉症または関連する障害と関連するSNPまたはSNP群を含むSLC6A1またはSLC6A11遺伝子領域の増幅；増幅された領域の配列決定；自閉症または関連する障害を呈する患者および対照である個体由来のSLC6A1またはSLC6A11遺伝子のDNA配列の比較；自閉症または関連する障害を呈する患者に対して特異的な突然変異の決定、からなる。

30

【0103】

したがって、SLC6A1またはSLC6A11遺伝子の原因となる突然変異の同定は、過度の実験もなく、周知の方法によって当業者によって実施可能である。

【0104】

例えば、原因となる突然変異は、以下の実施例において通常の方法を利用して同定されている。

40

【0105】

Hugotら(2001)は、ポジショナルクローニング戦略を適用して、過去にクローン病に対する感受性と関連していることが見出されている16番染色体の領域内においてクローン病への感受性の強い遺伝子変異体を同定した。潜在的な感受性の遺伝子座の位置を絞り込むために、26個の遺伝子座のマイクロサテライトマーカーについて遺伝子型を特定して、伝達不平衡試験(transmission disequilibrium test)を利用してクローン病との関連を調べた。マイクロサテライトマーカーD16S136の1つの対立遺伝子間においてボーダーライン上の有意な関連性(borderline significant association)が発見された。周辺領域から11個の追加のSNPを選択して、数種のSNPが有意な関連性を

50

示した。NOD2 / CARD15 遺伝子の1つのエクソン内にこの領域由来のSNP 5 - 8 が存在することが発見されており、非同義変化体であることが示されている。これによって、著者らによる50CD患者におけるこの遺伝子の完全コード配列の配列決定が促された。さらに2つの非同義突然変異 (SNP 12 および SNP 13) が見出された。家系伝達不平衡試験 (pedigree transmission disequilibrium test) を利用して、SNP 13 が最も有意に関連していた ($p = 6 \times 10^{-6}$)。別の独立した研究では、4人の対照と比較して、12人の罹患者由来のこの遺伝子のコード領域の配列決定によっても同じ変異体が発見された (Oguraら, 2001)。SNP 13 の稀な対立遺伝子は、NOD2 / CARD15 タンパク質を切断することが予測される1bpの挿入と一致した。この対立遺伝子は、対照と比較して頻度はかなり低いものの、健常な個人にも存在していた。

10

【0106】

同様に、Lesageら (2002) は、散发性症例166例および家族性症例287例、潰瘍性大腸炎 (UC) 患者159例、健常な対照患者103例を含むCD患者453例において、コード領域の系統的配列決定によってCARD15の突然変異解析を実施した。同定された67個の配列変化の内、9個はCD患者における対立遺伝子頻度が5%以上であった。これらの内6例は多型と考えられ、3つ (SNP 12 - R702W、SNP 8 - G908R および SNP 13 - 1007fs) はCDの感受性と独立して関連していることが確認された。27の稀な突然変異も潜在的な疾患の原因となる突然変異 (DCM: disease-causing mutation) と見なされた。3つの主な変異 (R702W、G908R、1007fs) は、全てのCD突然変異のそれぞれ32%、18%、31%を占めていたが、合計27の稀な突然変異はDCMの19%を占めていた。全体で、突然変異の93%は、遺伝子の3番目の末端に位置していた。UCと関連する突然変異は発見されなかった。対照的に、二重突然変異を有する17%を含め、CD患者の50%は少なくとも1つのDCMを有していた。

20

【0107】

薬剤スクリーニング

本発明は、新しい標的および薬剤候補のスクリーニング方法も提供もしくは導く。方法には、結合解析および/または機能解析が含まれ、インビトロ、細胞系、動物などにおいて実施できる。

【0108】

本発明の特定の目的は、生物活性化合物の選択方法にあり、該方法は、試験化合物と本発明のSLC6A1またはSLC6A11遺伝子またはポリペプチドとをインビトロで接触させること、および該試験化合物と該SLC6A1またはSLC6A11遺伝子またはポリペプチドとの結合能を測定することを含む。該遺伝子またはポリペプチドとの結合は、化合物が該標的の活性を調節して、ひいては被験者における自閉症、自閉症領域障害、または自閉症関連の障害を招く経路に影響を及ぼす能力に関する徴候となる。好ましい一実施態様では、該方法は、試験化合物と本発明に従ったSLC6A1またはSLC6A11ポリペプチドまたはその断片とをインビトロで接触させること、および該試験化合物が該SLC6A1またはSLC6A11ポリペプチドまたは断片と結合する能力を測定することを含む。該断片は好ましくは、該SLC6A1またはSLC6A11ポリペプチドの結合部位を含む。好ましくは、該SLC6A1遺伝子またはポリペプチドまたはその断片は、変化または突然変異を含む変化または突然変異したSLC6A1遺伝子またはポリペプチドまたはその断片である。好ましくは、該SLC6A11遺伝子またはポリペプチドまたはその断片は、変化または突然変異を含む変化または突然変異したSLC6A11遺伝子またはポリペプチドまたはその断片である。

30

40

【0109】

本発明の特定の目的は、自閉症、自閉症領域障害、および自閉症関連の障害に対して活性を有する化合物の選択方法にあり、該方法は、試験化合物と本発明のSLC6A1またはSLC6A11ポリペプチドまたは結合部位を含むその断片とをインビトロで接触させること、および該試験化合物が該SLC6A1またはSLC6A11ポリペプチドまたは

50

その断片と結合する能力を測定することを含む。好ましくは、該 S L C 6 A 1 ポリペプチドまたはその断片は、変化または突然変異を含む変化または突然変異した S L C 6 A 1 ポリペプチドまたはその断片である。好ましくは、該 S L C 6 A 1 1 ポリペプチドまたはその断片は、変化または突然変異を含む変化または突然変異した S L C 6 A 1 1 ポリペプチドまたはその断片である。

【0110】

さらなる特定の一実施態様では、方法は、本発明に従った S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 ポリペプチドを発現する組換え宿主細胞と試験化合物とを接触させること、および該試験化合物が該 S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 に結合して S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 ポリペプチドの活性を調節する能力を測定することを含む。好ましくは、該 S L C 6 A 1 ポリペプチドまたはその断片は、変化または突然変異を含む変化または突然変異した S L C 6 A 1 ポリペプチドまたはその断片である。好ましくは、該 S L C 6 A 1 1 ポリペプチドまたはその断片は、変化または突然変異を含む変化または突然変異した S L C 6 A 1 1 ポリペプチドまたはその断片である。

10

【0111】

試験化合物の標識化、標識済み対照リガンドとの競合など、様々な方法を利用して結合を決定できる。

【0112】

本発明のさらなる目的は、生物活性化合物の選択方法にあり、該方法は、試験化合物と本発明の S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 ポリペプチドとをインビトロで接触させること、および該試験化合物による該 S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 ポリペプチドの活性調節能を測定することを含む。好ましくは、該 S L C 6 A 1 ポリペプチドまたはその断片は、変化または突然変異を含む変化または突然変異した S L C 6 A 1 ポリペプチドまたはその断片である。好ましくは、該 S L C 6 A 1 1 ポリペプチドまたはその断片は、変化または突然変異を含む変化または突然変異した S L C 6 A 1 1 ポリペプチドまたはその断片である。

20

【0113】

本発明のさらなる目的は、生物活性化合物の選択方法にあり、該方法は、試験化合物と本発明の S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子とをインビトロで接触させること、および該試験化合物による該 S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子の発現調節能を測定することを含む。好ましくは、該 S L C 6 A 1 遺伝子またはその断片は、変化または突然変異を含む変化または突然変異した S L C 6 A 1 遺伝子またはその断片である。好ましくは、該 S L C 6 A 1 1 遺伝子またはその断片は、変化または突然変異を含む変化または突然変異した S L C 6 A 1 1 遺伝子またはその断片である。

30

【0114】

別の一実施態様では、本発明は、活性のある化合物、特に自閉症、自閉症領域障害、または自閉症関連の障害に対して活性を有する化合物のスクリーニング、選択または同定の方法と関連しており、該方法は、試験化合物とレポーターコンストラクト（該レポーターコンストラクトは S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子プロモーターの制御下にあるレポーター遺伝子を含む）を含む組換え宿主細胞とを接触させること、およびレポーター遺伝子の発現を調節する（例えば、刺激または減少させる）試験化合物を選択することを含む。好ましくは、該 S L C 6 A 1 遺伝子プロモーターまたはその断片は、変化または突然変異を含む変化または突然変異した S L C 6 A 1 遺伝子プロモーターまたはその断片である。好ましくは、該 S L C 6 A 1 1 遺伝子プロモーターまたはその断片は、変化または突然変異を含む変化または突然変異した S L C 6 A 1 1 遺伝子プロモーターまたはその断片である。

40

【0115】

スクリーニング方法の特定の一実施態様では、調節は抑制である。スクリーニング方法の別の特定の一実施態様では、調節は活性化である。

【0116】

50

上記のスクリーニングアッセイは、プレート、チューブ、ディッシュ、フラスコなどの適当なデバイス内において実施可能である。通常、アッセイはマルチウェルプレート内で実施する。数種の試験化合物を同時にアッセイ可能である。さらに、試験化合物の由来、性質および組成は多様でありうる。単離された、または他の物質との混合物においての、脂質、ペプチド、ポリペプチド、核酸、小分子などの有機物質または無機物質でありうる。化合物は、例えば物の組み合わせライブラリーの全体または一部でありうる。

【0117】

薬学的組成物、治療

本発明のさらなる目的は、(i) S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 ポリペプチドまたはその断片、S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 ポリペプチドまたはその断片をコードする核酸、上記のベクターまたは組換え宿主細胞、および(ii) 医薬的に許容可能な担体または賦形剤を含む医薬組成物である。

10

【0118】

本発明は、被験者における自閉症、自閉症領域障害、または自閉症関連の障害を治療または予防する方法とも関連しており、該方法は機能的(例えば、野生型) S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 ポリペプチドまたはこれをコード化する核酸の該被験者への投与を含む。

【0119】

本発明の別の実施態様は、被験者における自閉症、自閉症領域障害、または自閉症関連の障害を治療または予防する方法にあり、該方法は、本発明に従った S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子またはタンパク質の発現または活性を調節する、好ましくは活性化または模倣する化合物の該被験者への投与を含む。該化合物は、S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 のアゴニストまたはアンタゴニスト、S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 のアンチセンスまたは R N A i、本発明に従った S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 ポリペプチドに対して特異的な抗体または断片またはその派生物でありうる。該方法の特定の実施態様では、調節は抑制である。該方法の別の特定の実施態様では、調節は活性化である。

20

【0120】

本発明は概して、被験者における自閉症、自閉症領域障害、または自閉症関連の障害の治療または予防のための医薬組成物の製造における、機能的な S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 ポリペプチド、これをコード化する核酸、本発明に従った S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子またはタンパク質の発現または活性を調節する化合物の使用とも関連している。化合物は、S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 のアゴニストまたはアンタゴニスト、S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 のアンチセンスまたは R N A i、本発明に従った S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 ポリペプチドに対して特異的な抗体または断片またはその派生物でありうる。該方法の特定の実施態様では、調節は抑制である。該方法の別の特定の実施態様では、調節は活性化である。

30

【0121】

本発明によって、自閉症、自閉症領域障害、および自閉症関連の障害と S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子座との相関が実証される。このように、本発明によって治療的診断の新しい標的が提供される。被験者、特に変化した S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子座を有する被験者における S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 の活性または機能を回復または調節するための様々なアプローチを検討可能である。野生型の機能を該被験者に与えることで、病的な細胞または生物における自閉症、自閉症領域障害、および自閉症関連の障害の表現型の発現が抑制されることが期待される。該機能の供給は、遺伝子またはタンパク質治療、または S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 ポリペプチドの活性を調節または模倣する化合物(例えば、上記のスクリーニングアッセイにおいて同定されたアゴニスト)の投与によって達成可能である。

40

【0122】

上記のベクターを利用して、野生型 S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子またはそ

50

の機能的部分を、これらを必要としている被験者の細胞内に導入可能である。ベクターはウイルスベクターまたはプラスミドでありうる。該遺伝子を裸のDNAとしても導入可能である。レシピエントの宿主細胞のゲノム内に取り込ませる、または染色体外に残存させるように、該遺伝子を供給可能である。組み込みは、相同組換えなどによって、ランダムに、または正確に定められた部位で生じうる。特に、相同組換えによる細胞内の変化したバージョンとの置換で機能的SLC6A1またはSLC6A11遺伝子のコピーを挿入可能である。別の方法として、遺伝子銃、リボソーム媒介のトランスフェクション、陽イオン性脂質媒介のトランスフェクションなどが挙げられる。遺伝子治療は、直接の遺伝子注入、または機能的なSLC6A1またはSLC6A11ポリペプチドを発現するエクスピボで調製された遺伝子組換え細胞の投与によって達成可能である。

10

【0123】

SLC6A1またはSLC6A11活性を伴う他の分子（例えば、ペプチド、薬剤、SLC6A1またはSLC6A11アゴニスト、または有機化合物）を使用して、被験者における機能的なSLC6A1またはSLC6A11活性を回復させる、または細胞内の有害な表現型を抑制させることが可能である。

【0124】

細胞内での機能的なSLC6A1またはSLC6A11遺伝子の機能の回復を利用して、自閉症、自閉症領域障害、または自閉症関連の障害の発症を予防する、または該疾患の進行を低下させることが可能である。該処置は、細胞、特に有害対立遺伝子を有する細胞の自閉症と関連する表現型を抑制可能である。

20

【0125】

本発明の別の態様および利点は、以下の実験の項で開示されており、これらは実例として見なすべきであり、本出願の範囲を限定しない。

【0126】

遺伝子、ベクター、組換え細胞、ポリペプチド

本発明の別の態様は、診断、治療またはスクリーニングに使用される新規な物にある。これらの物には、SLC6A1またはSLC6A11ポリペプチドまたはその断片をコード化する核酸分子、これらを含むベクター、組換え宿主細胞、および発現ポリペプチドがある。

【0127】

特に、本発明は、該変化または突然変異を含む、変化または突然変異したSLC6A1またはSLC6A11遺伝子またはその断片と関連する。本発明は、該変化または突然変異を含む、変化または突然変異したSLC6A1またはSLC6A11ポリペプチドまたはその断片をコード化する核酸分子とも関連する。該変化または突然変異によってSLC6A1またはSLC6A11の活性が改変される。改変された活性は増減しうる。本発明はさらに、該変化または突然変異を含む変化または突然変異したSLC6A1またはSLC6A11遺伝子またはその断片、または該変化または突然変異を含む変化または突然変異したSLC6A1またはSLC6A11ポリペプチドまたはその断片をコード化する核酸分子を含むベクター、組換え宿主細胞、および発現ポリペプチドに関連している。

30

【0128】

本発明の別の目的は、本発明に従ったSLC6A1またはSLC6A11ポリペプチドをコード化する核酸を含むベクターである。該ベクターとして、クローニングベクター、より好ましくは発現ベクター、つまりコンピテント宿主細胞内の該ベクターからSLC6A1またはSLC6A11ポリペプチドを発現させる調節配列を含むベクターが可能である。

40

【0129】

これらのベクターを使用して、インビトロ、エクスピボまたはインピボでのSLC6A1またはSLC6A11ポリペプチドの発現、トランスジェニックまたは「ノックアウト」のヒト以外の動物の作成、核酸の増幅、アンチセンスRNAの発現などが可能となる。

【0130】

50

本発明のベクターは通常、調節配列（例えば、プロモーター、ポリAなど）と機能的に連結された、本発明に従ったS L C 6 A 1またはS L C 6 A 1 1コード配列を含む。「機能的に連結された（operably linked）」という用語は、コード配列および調節配列が機能的に関連しており、該調節配列がコード配列の発現（例えば、転写）を起こすことを示す。ベクターはさらに1個または数個の複製起点および/または選択マーカを含みうる。プロモーター領域は、コード配列に関してホモ接合性またはヘテロ接合性であり、インビボでの使用を含め、適当な任意の宿主細胞内において普遍的かつ構成的な、調節された、および/または組織特異的発現をもたらさう。プロモーターの例として、細菌プロモーター（T7、pTAC、Trpプロモーターなど）、ウイルスプロモーター（LTR、TK、CMV-IEなど）、哺乳動物遺伝子のプロモーター（アルブミン、PGKなど）などが挙げられる。

10

【0131】

ベクターは、プラスミド、ウイルス、コスミド、ファージ、BAC、YACなどが可能である。プラスミドベクターは、pBluescript、pUC、pBRなどの市販のベクターから調製可能である。ウイルスベクターは、周知の組換えDNA技術に従って、パキウウイルス、レトロウイルス、アデノウイルス、AAVなどから作成可能である。

【0132】

この点について、本発明の特別な目的は、先に定義されているS L C 6 A 1またはS L C 6 A 1 1ポリペプチドをコードする組換えウイルスにある。組換えウイルスは、好ましくは複製能を欠いており、さらに好ましくは、E1および/またはE4欠損アデノウイルス、Gag、polおよび/またはenv欠損レトロウイルス、ならびにRepおよび/またはCap欠損AAVから選択される。該組換えウイルスは、パッケージング細胞へのトランスフェクション、またはヘルパープラスミドまたはウイルスの一過性トランスフェクションなどの周知の技術によって作成可能である。ウイルスのパッケージング細胞の典型例として、PA317細胞、PsiCRIP細胞、GPenv+細胞、293細胞などが挙げられる。複製能を欠損した該組換えウイルスの作成のための詳細なプロトコールは、例えばWO95/14785、WO96/22378、US5,882,877、US6,013,516、US4,861,719、US5,278,056、およびWO94/19478において見ることができる。

20

【0133】

本発明の別の目的は、先の定義されている組換えS L C 6 A 1またはS L C 6 A 1 1遺伝子またはベクターを含む組換え宿主細胞にある。適当な宿主細胞として、原核生物細胞（細菌など）および真核生物細胞（酵母細胞、哺乳動物細胞、昆虫細胞、植物細胞など）が挙げられるが、これらに限定されない。具体例として、哺乳動物の初代培養細胞または細胞株（例えば、繊維芽細胞、胚細胞、上皮細胞、神経細胞、脂肪細胞などから作成）の他、E. coli、KluyveromycesまたはSaccharomyces酵母、哺乳動物細胞（例えば、Veroblastus細胞、CHO細胞、3T3細胞、COS細胞など）が挙げられる。

30

【0134】

本発明は、本発明に従ったS L C 6 A 1またはS L C 6 A 1 1ポリペプチドを発現する組換え宿主細胞の作成方法とも関連しており、該方法は、(i)コンピテント宿主細胞への上記組換え核酸またはベクターのインビトロまたはエクスピボでの導入、(ii)得られた組換え宿主細胞のインビトロまたはエクスピボでの培養、および(iii)任意で、S L C 6 A 1またはS L C 6 A 1 1ポリペプチドを発現する細胞の選択を含む。

40

【0135】

該組換え宿主細胞は、下記のとおり、活性分子のスクリーニングの他、S L C 6 A 1またはS L C 6 A 1 1ポリペプチドの生産に使用可能である。該細胞は、自閉症を研究するためのモデル系としても使用可能である。これらの細胞は、適当な培養器（プレート、フラスコ、ディッシュ、チューブ、ポーチなど）内で、DMEM、RPMI、HAMなどの適当な培地で維持可能である。

【0136】

50

実施例

1. 3番染色体の感受性遺伝子を同定するための Genome HIPプラットフォーム

自閉症の感受性遺伝子を迅速に同定するために、Genome HIPプラットフォームを適用可能であった。

【0137】

簡単に説明すると、該技術は、関係する個体でのDNA対形成を含む。各DNAを特異的標識で印を付けて、同定可能にする。次に、2つのDNA間でハイブリッドを形成させる。次に、特定のプロセス(W000/53802)を適用して、複数段階の手順で2つのDNAから同祖的な(IBD)全ての断片を選択する。次に、IBD分画の染色体ポジショニングを可能にするBACクローン由来のDNAマイクロアレイに対して、残りのIBD濃縮DNAをスコアリングする。

10

【0138】

多くの異なる家族にこのプロセスを適用することで、各家族由来の各対についてIBD分画のマトリクスがもたらされる。次に、統計解析によって、被験家族間で共有される最小IBD領域が計算される。有意な結果(p値)は、目的の特性(自閉症)を伴う陽性領域での連鎖の証拠である。有意なp値を示す最も遠い2つのクローンによって連鎖間隔の範囲を定めることが可能である。

【0139】

今回の研究では、厳密な自閉症(ADI-Rにより定義)と一致する米国の114の家族(独立した114の同胞対)が、Genome HIPプロセスを受けた。次に、結果として得られたIBD濃縮DNA分画をCy5蛍光色素で標識して、平均間隔1.2Mbpのヒトゲノム全体をカバーする2,263個のBACクローンからなるDNAアレイに対してハイブリダイズさせた。Cy3標識された非選択DNAを使用して、各クローンのシグナル値を標準化し、比率を計算した。次に、比率結果のクラスタリングを実施して、各クローンおよび対になったクローンのIBD状態を判定した。

20

【0140】

この手順を適用することで、自閉症との連鎖に関する有意な証拠($p = 6.4 \times 10^{-5}$)を示すBACクローン(FE0DBACA17ZG05v)を同定した。KruglyakとLander(1995)が提示した全ゲノムスクリーニングのための有意水準として、連鎖を示唆する有意水準に相当するp値 2.4×10^{-4} を利用した。連鎖の有意な証拠を示すBACクローンの近位、遠位のクローンによって定められる連鎖領域は、3番染色体上の約2.18Mbpの領域に及んでいた(塩基9283670~11464577)。

30

【0141】

表1: SLC6A1およびSLC6A11遺伝子座内の3番染色体に関する連鎖結果: 連鎖の証拠を示すBACクローンと一致する領域が示されている。クローンの開始および停止位置は、染色体の開始位置(p-ter)に関するNCBI Build 34に基づくゲノム位置と一致する。

【0142】

【表1】

表1

40

ヒト染色体	クローン	開始	停止	情報を与える組の割合	p値
3	FE0DBACA2ZH12v	9124735	9283670	81	0.004
3	FE0DBACA17ZG05v	9721553	9931071	104	6.4e-05
3	FE0DBACA18ZE05v	11464577	11591404	77	0.017

【0143】

2. 3番染色体上の自閉症感受性遺伝子の同定

連鎖している染色体領域内の上記の2.18Mbpをスクリーニングすることで、自閉

50

症および関連する表現型の候補遺伝子として、溶質キャリアファミリー6（神経伝達物質輸送体、GABA）メンバー1遺伝子および溶質キャリアファミリー6（神経伝達物質輸送体、GABA）メンバー11遺伝子を同定した。これらの遺伝子は実際に重要な間隔内に存在しており、上にまとめたクローンによって範囲の定められた連鎖が証拠である。

【0144】

SLC6A1遺伝子は、NP_003033（mRNA NM_003042, 4493bp）の推定599アミノ酸のポリペプチドをコード化しており、ゲノム配列の46.5kbにわたって広がっている。この遺伝子によってコード化されるタンパク質は、アミノ酪酸（GABA）を輸送するナトリウム：神経伝達物質シンポーター（SNF）ファミリーの一員であり、シナプス前終末への高親和性のナトリウム依存的な再取り込みによってGABAの作用を終結させる。このタンパク質は、アンフェタミンまたはコカインなどの精神運動興奮薬の標的である。

10

【0145】

SLC6A11遺伝子は、NP_055044（mRNA NM_014229, 1991bp）の推定632アミノ酸のポリペプチドをコード化しており、ゲノム配列の122.2kbにわたって広がっている。この遺伝子によってコード化されるタンパク質は、主要な抑制性神経伝達物質であるアミノ酪酸（GABA）を輸送するナトリウム：神経伝達物質シンポーター（SNF）ファミリーの一員である。GABAによる神経伝達は、SLC6A11などのナトリウム依存性輸送体によるシナプス前終末および周囲の星状膠細胞内へのGABAの取り込みによって終結する。

20

【0146】

自閉症で認められる重度の破壊は、GABAによる抑制と関連しており、グルタミン酸特異的ニューロンの過剰な刺激および感覚ゲートの喪失を招きうるとの仮説が立てられている（Hussman, 2001）。

【0147】

低グルタミン酸作動性げっ歯類モデルで、自閉症において見られる認識機能障害と関連しうるある種の行動が認められている（Nilssonら, 2001）。

【0148】

グルタミン酸脱炭酸酵素の65および67kDaのレベルの減少は、報告されている、自閉症の被験者における血液および血小板中のグルタミン酸の増加を説明しうる（Fatemiら, 2002）。グルタミン酸脱炭酸酵素の欠乏は、グルタミン酸/アミノ酪酸のレベル、または自閉症の脳における輸送体/受容体の密度における異常に起因するか、関連する可能性がある。さらに、グルタミン酸受容体の密度の低下が、自閉症患者の小脳において認められている（Purcellら, 2001）。

30

【0149】

まとめると、本出願において提供された、GABA輸送に関与する3番染色体上の自閉症と関連する遺伝子変化の重要な間隔内においてヒトのSLC6A1およびSLC6A11遺伝子を同定している連鎖結果から、SLC6A1および/またはSLC6A11遺伝子またはその調節配列の変化（例えば、突然変異および/または多型）がヒトでの自閉症発症の一因となり、診断または治療的診断の新しい標的を示している可能性がある結論付けた。

40

【0150】

【表 2】

参考文献

Asperger (1944) Die autistischen Psychopathen im Kindesalter. *Archiv für Psychiatrie und Nervenkrankheiten*, 2:217-250.

Bailey A, Le Couteur A, Gottesman I, et al. (1995) Autism as a strongly genetic disorder: evidence from a British twin study. *Psychol Med*, 25:63-77. 10

Bailey A, Phillips W, Rutter M (1996) Autism: towards an integration of clinical, genetic, neuropsychological, and neurobiological perspectives. *J Child Psychol Psychiatry* 37(1):89-126.

Baird G, Charman T, Baron-Cohen S et al. (2000) A screening instrument for autism at 18 months of age: a 6-year follow-up study. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*, 39(6):694-702. 20

Burger R and Warren R (1998) Possible immunogenetic basis for autism. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev*, 4:137-141.

Carney RM, Wolpert CM, Ravan SA et al. (2003) Identification of MeCP2 mutations in a series of females with autistic disorder. *Pediatr Neurol*, 28(3):205-211. 30

Chakrabarti S and Fombonne E (2001) Pervasive developmental disorders in preschool children. *JAMA*, 285(24):3093-9

Comi AM, Zimmerman AW, Frye VH et al. (1999) Familial clustering of autoimmune disorders and evaluation of medical risk factors in autism. *J Child Neurol*, 14(6):388-394. 40

Connolly AM, Chez MG, Pestronk A et al. (1999) Serum autoantibodies to brain in Landau-Kleffner variant, autism, and other neurologic disorders. *J Pediatr*, 134(5):607-613.

Fatemi SH, Halt AR, Strydom JM et al. (2002) Glutamic acid decarboxylase 65 and 67 kDa proteins are reduced in autistic parietal and cerebellar cortices. *Biol Psychiatry*, 52(8):805-810.

Folstein S and Rutter M (1977) Infantile autism: a genetic study of 21 twin pairs. *J Child Psychol Psychiatry Allied Disciplines*, 18:297-321.

10

Folstein SE and Rosen-Sheidley BR (2001) Genetics of autism: complex aetiology for a heterogeneous disorder. *Nat Rev Genet*, 2:943-955.

Gillberg C (1998) Chromosomal disorders and autism. *J Autism Dev Disord*, 28(5):415-425.

Gillberg C and Coleman M (2000) *The biology of the autistic syndromes*, 3rd edn London: MacKeith Press.

20

Gillberg C and Wing L (1999) Autism: not an extremely rare disorder. *Acta Psychiatr Scand*, 99:339-406.

Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H et al. (2001) Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 411(6837):599-603.

30

Husman JP (2001) Suppressed GABAergic inhibition as a common factor in suspected etiologies of autism. *J Autism Dev Disord*, 31(2):247-248.

Jamain S, Quach H, Betancur C et al. (2003) Mutations of the X-linked genes encoding neuroligins NLGN3 and NLGN4 are associated with autism. *Nat Genet*, 34(1):27-29.

40

Jorde LB, Hasstedt SJ, Ritvo ER et al. (1991) Complex segregation analysis of autism. *Am J Hum Genet*, 49(5):932-938.

Jorde LB, Mason-Brothers A, Waldmann R et al. (1990) The UCLA-University of Utah epidemiologic survey of autism: genealogical analysis of familial aggregation. *Am J Med Genet*, 36(1):85-88.

Kanner L (1943) Autistic disturbances of affective contact. *Nervous Child*, 2:217-250.

Lander E and Kruglyak L (1995) Genetic dissection of complex traits: guidelines for interpreting and reporting linkage results. *Nat Genet*, 11(3):241-247. 10

Le Couteur A, Rutter M, Lord C et al. (1989) Autism diagnostic interview: a standardized investigator-based instrument. *J Autism Dev Disord*, 19(3):363-387.

Lesage S, Zouali H, Cezard Jpet al. (2002) CARD15/NOD2 mutational analysis and genotype-phenotype correlation in 612 patients with inflammatory bowel disease. *Am J Hum Genet*. 70(4):845-857. 20

Lord C, Rutter M, Le Couteur A (1994) Autism Diagnostic Interview-Revised: a revised version of a diagnostic interview for caregivers of individuals with possible pervasive developmental disorders. *J Autism Dev Disord*, 24(5):659-685.

Nelson KB (1991) Prenatal and perinatal factors in the etiology of autism. *Pediatrics*, 87(5 Pt 2):761-766. 30

Nilsson M, Waters S, Waters N et al. (2001) A behavioural pattern analysis of hypoglutamatergic mice--effects of four different antipsychotic agents. *J Neural Transm*, 108(10):1181-1196.

Ogura Y, Bonen DK, Inohara N et al. (2001) A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 411(6837):603-606 40

Purcell AE, Jeon OH, Zimmerman AW et al. (2001) Postmortem brain abnormalities of the glutamate neurotransmitter system in autism. *Neurology*, 57(9):1618-1628.

Rioux JD, Daly MJ, Silverberg MS et al. (2001) Genetic variation in the 5q31 cytokine gene cluster confers susceptibility to Crohn disease. *Nat Genet* 29(2): 223-228.

Rioux JD, Silverberg MS, Daly MJ (2000) Genomewide search in Canadian families with inflammatory bowel disease reveals two novel susceptibility loci. *Am J Hum Genet* 66(6):1863-1870. 10

Rodier P and Hyman S (1998) Early environmental factors in autism. *Mental Retard Dev Disord Res Rev*, 4:121-128.

Singh VK, Warren RP, Odell JD et al. (1993) Antibodies to myelin basic protein in children with autistic behavior. *Brain Behav Immun*, 7(1):97-103. 20

Smalley SL (1997) Genetic influences in childhood-onset psychiatric disorders: autism and attention-deficit/hyperactivity disorder. *Am J Hum Genet*, 60(6):1276-1282.

Steffenburg S, Gillberg C, Hellgren L et al. (1989) A twin study of autism in Denmark, Finland, Iceland, Norway and Sweden. *J Child Psychol Psychiatry*, 30(3):405-416. 30

Szatmari P, Jones MB, Zwaigenbaum L et al. (1998) Genetics of autism: overview and new directions. *J Autism Dev Disord*, 28(5):351-368.

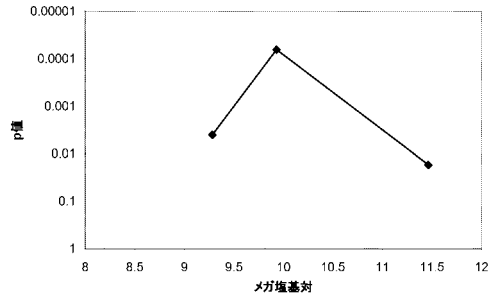
Weizman A, Weizman R, Szekely GA et al. (1982) Abnormal immune response to brain tissue antigen in the syndrome of autism. *Am J Psychiatry*, 139(11):1462-1465.

【図面の簡単な説明】 40

【 0 1 5 1 】

【図1】 Genomic Hybrid Identity Profiling (Genome HIP) を利用した高密度マッピング。

【 図 1 】



【 配列表 】

2008532499000001.app

【 手続補正書 】

【 提出日 】平成19年10月30日 (2007.10.30)

【 手続補正 1 】

【 補正対象書類名 】特許請求の範囲

【 補正対象項目名 】全文

【 補正方法 】変更

【 補正の内容 】

【 特許請求の範囲 】

【 請求項 1 】

被験者における自閉症または自閉症領域障害の存在または素因を検出するインビトロでの方法であって、被験者からの検体での S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子座の変化の存在を検出することを含む方法。

【 請求項 2 】

被験者における自閉症または自閉症領域障害からの防御を検出するインビトロでの方法であって、被験者からの検体での S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子座の変化の存在を検出することを含む方法。

【 請求項 3 】

自閉症または自閉症領域障害の処置に対する被験者の反応を評価するインビトロでの方法であって、被験者からの検体での S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子座の変化の存在を検出することを含む方法。

【 請求項 4 】

自閉症または自閉症領域障害の処置に対する被験者の有害反応を評価するインビトロでの方法であって、被験者の検体での S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子座の変化の

存在を検出することを含む方法。

【請求項 5】

S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子座の変化の存在が、塩基配列決定、選択的ハイブリダイゼーション、および / または選択的増幅によって検出される、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項記載の方法。

【請求項 6】

該変化が、自閉症と関連する1個または数個の S N P または S N P のハプロタイプである、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項記載の方法。

【請求項 7】

自閉症または自閉症領域障害に対する生物学的活性化合物の選択方法であって、試験化合物と S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 ポリペプチドまたはその遺伝子またはその断片とを接触させること、および該試験化合物と S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 ポリペプチド、またはその遺伝子またはその断片との結合能を測定することを含む方法。

【請求項 8】

自閉症または自閉症領域障害に対する生物学的活性化合物の選択方法であって、試験化合物と S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 ポリペプチドを発現する組換え宿主細胞とを接触させること、および該試験化合物と該 S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 ポリペプチドとの結合能、および S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 ポリペプチド活性の調節能を測定することを含む方法。

【請求項 9】

自閉症または自閉症領域障害に対する生物学的活性化合物の選択方法であって、試験化合物と S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子とを接触させること、および該試験化合物による該 S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子の発現調節能を測定することを含む方法。

【請求項 10】

自閉症または自閉症領域障害に対する生物学的活性化合物の選択方法であって、試験化合物と、S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子プロモーターの制御下にあるレポーター遺伝子を含むレポーターコンストラクトを含む組換え宿主細胞とを接触させること、および該レポーター遺伝子の発現を調節する（例えば、促進または減少させる）試験化合物を選択することを含む方法。

【請求項 11】

該 S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子、またはそのポリペプチドまたはその断片が、変化または突然変異した S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 遺伝子、または該変化または突然変異を含むそのポリペプチドまたはその断片である、請求項 7 ~ 10 のいずれか一項記載の方法。

【請求項 12】

該調節が活性化である、請求項 7 ~ 11 のいずれか一項記載の方法。

【請求項 13】

該調節が抑制である、請求項 7 ~ 11 のいずれか一項記載の方法。

【請求項 14】

該 S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 が S L C 6 A 1 である、請求項 1 ~ 13 のいずれか一項記載の方法。

【請求項 15】

該 S L C 6 A 1 または S L C 6 A 1 1 が S L C 6 A 1 1 である、請求項 1 ~ 13 のいずれか一項記載の方法。

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No PCT/IB2006/001100
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C12Q1/68		
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) C12Q		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, WPI Data, PAJ, EMBASE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	SPENCE SARAH J: "The genetics of autism." SEMINARS IN PEDIATRIC NEUROLOGY. SEP 2004, vol. 11, no. 3, September 2004 (2004-09), pages 196-204, XP004666241 ISSN: 1071-9091 the whole document	
A	MUHLE REBECCA ET AL: "The genetics of autism." PEDIATRICS. MAY 2004, vol. 113, no. 5, May 2004 (2004-05), pages e472-e486, XP002388697 ISSN: 1098-4275 the whole document	
	----- -/-- -----	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> 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 document but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another 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 17 July 2006		Date of mailing of the international search report 04/08/2006
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Pinta, V

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/IB2006/001100

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	SHASTRY B S: "Molecular genetics of autism spectrum disorders" JOURNAL OF HUMAN GENETICS, vol. 48, no. 10, 2003, pages 495-501, XP002315920 the whole document	
A	LAURITSEN M B ET AL: "The genetics of autism" ACTA PSYCHIATRICA SCANDINAVICA, MUNKSGAARD, COPENHAGEN, DE, vol. 103, no. 6, June 2001 (2001-06), pages 411-427, XP002358261 ISSN: 0001-690X the whole document	
A	WO 2004/033717 A (K.U. LEUVEN RESEARCH AND DEVELOPMENT; FRYNS, JEAN-PIERRE; VAN DE VEN,) 22 April 2004 (2004-04-22) the whole document	
A	HUSSMAN JOHN P: "Suppressed GABAergic inhibition as a common factor in suspected etiologies of autism" JOURNAL OF AUTISM AND DEVELOPMENTAL DISORDERS, vol. 31, no. 2, April 2001 (2001-04), pages 247-248, XP002388698 ISSN: 0162-3257 cited in the application the whole document	
A	BROOKS P ET AL: "GENOME WIDE MAPPING OF AUTISM SUSCEPTIBILITY LOCI BY ENZYMATIC SELECTION OF IDENTITY-BY-DESCENT REGIONS IN AUTISTIC SIBLING PAIRS" AMERICAN JOURNAL OF MEDICAL GENETICS, WILEY, NEW YORK, NY, US, vol. 130B, no. 1, September 2004 (2004-09), page 29, XP009058507 ISSN: 0148-7299 the whole document	
A	WO 00/53802 A (HAGER, JOERG) 14 September 2000 (2000-09-14) cited in the application the whole document	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No
PCT/IB2006/001100

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2004033717 A	22-04-2004	AU 2003273640 A1	04-05-2004
		EP 1554403 A1	20-07-2005
WO 0053802 A	14-09-2000	AT 277199 T	15-10-2004
		CA 2366107 A1	14-09-2000
		DE 19911130 A1	21-09-2000
		EP 1179088 A1	13-02-2002
		ES 2228480 T3	16-04-2005
		JP 2002537855 A	12-11-2002
		PT 1179088 T	31-12-2004
		US 6887666 B1	03-05-2005

フロントページの続き

(51) Int.Cl.		F I		テーマコード(参考)	
A 6 1 P	25/16	(2006.01)	A 6 1 P	25/14	
A 6 1 P	25/24	(2006.01)	A 6 1 P	25/16	
A 6 1 P	25/22	(2006.01)	A 6 1 P	25/24	
A 6 1 P	25/08	(2006.01)	A 6 1 P	25/22	
A 6 1 P	37/02	(2006.01)	A 6 1 P	25/08	
C 1 2 N	15/09	(2006.01)	A 6 1 P	37/02	
C 0 7 K	14/47	(2006.01)	C 1 2 N	15/00	A
			C 0 7 K	14/47	

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, 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, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, 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, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(72) 発明者 フィリッピ, アン
フランス国、エフ - 7 7 3 1 0 サン・ファルゴール・ボンティエリー、レジダンス・デュ・ブリユール 8

(72) 発明者 ルソー, フランシス
フランス国、エフ - 9 1 6 0 0 サヴィニエ・シュール・オルジェ、リュ・テオフィル・ゴージェ 1 1

(72) 発明者 ロシュマン, エルケ
ドイツ国、8 9 1 7 9 バイマーシュテッテン、シラーシュトラッセ 1 1

F ターム(参考) 2G045 AA40

4B024 AA01 AA11 BA80 CA02 CA09 CA11 HA12 HA17
4B063 QA17 QA19 QQ08 QQ43 QQ58 QR08 QR32 QR55 QR62 QR82
QS25 QS34 QS38
4C085 AA13 AA14 BB11 BB23 BB36 CC22 CC23 CC32 EE03
4H045 AA10 AA30 CA40 EA21 EA50 FA74