

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7659905号
(P7659905)

(45)発行日 令和7年4月10日(2025.4.10)

(24)登録日 令和7年4月2日(2025.4.2)

(51)国際特許分類		F I	
C 0 7 K	14/705 (2006.01)	C 0 7 K	14/705
G 0 1 N	33/53 (2006.01)	G 0 1 N	33/53 N Z N A
G 0 1 N	33/543 (2006.01)	G 0 1 N	33/543 5 0 1 A
C 0 7 K	19/00 (2006.01)	C 0 7 K	19/00
C 0 7 K	16/28 (2006.01)	C 0 7 K	16/28
請求項の数 11 (全115頁) 最終頁に続く			
(21)出願番号	特願2022-502530(P2022-502530)	(73)特許権者	521529905
(86)(22)出願日	令和2年7月2日(2020.7.2)		ドイチェス ツェントラム フューア ノ
(65)公表番号	特表2022-540913(P2022-540913 A)		イロデジェネラティヴ エアクランクン
(43)公表日	令和4年9月20日(2022.9.20)		ゲン エー. ファウ. (ディーゼットエヌイー)
(86)国際出願番号	PCT/EP2020/068732		ドイツ, 5 3 1 2 7 ボン, ゲボイデ 9
(87)国際公開番号	WO2021/008890		9, ヴェーヌスベルクーキャンパス 1
(87)国際公開日	令和3年1月21日(2021.1.21)	(74)代理人	100088904
審査請求日	令和5年6月15日(2023.6.15)		弁理士 庄司 隆
(31)優先権主張番号	19186524.5	(74)代理人	100124453
(32)優先日	令和1年7月16日(2019.7.16)		弁理士 資延 由利子
(33)優先権主張国・地域又は機関	欧州特許庁(EP)	(74)代理人	100135208
(31)優先権主張番号	LU101308		弁理士 大杉 卓也
(32)優先日	令和1年7月18日(2019.7.18)	(74)代理人	100183656
	最終頁に続く		弁理士 庄司 晃
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 NMDAR自己抗体を検出及び単離するためのNMDA受容体コンストラクト

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

1つ以上のNMDAR自己抗体エピトープを含むN-メチル-D-アスパラギン酸受容体（NMDAR）タンパク質コンストラクトであって、該コンストラクトが、GluN1のアミノ末端ドメイン（ATD）及びGluN2BのATDを含む融合タンパク質である、NMDAR膜貫通ドメインを欠く、NMDARタンパク質コンストラクト。

【請求項2】

前記コンストラクトが、二量体化ドメイン及び／又は前記コンストラクトを固相に結合するための捕捉ドメインを含む、請求項1に記載のNMDARタンパク質コンストラクト。

【請求項3】

前記二量体化ドメインが、前記捕捉ドメインである、請求項2に記載のNMDARタンパク質コンストラクト。

【請求項4】

NMDAR自己抗体を含む疑いのある試料中のNMDAR自己抗体を検出するin vitroの方法であって、

- a.捕捉ドメインを捕捉分子として含む請求項1～3のいずれか一項に記載のNMDAタンパク質コンストラクトを準備することと、
- b.前記NMDAR自己抗体を含む疑いのある試料と、前記NMDARタンパク質コンストラクトとを接触させ、それによって前記試料からのNMDAR自己抗体を前記NMDARタンパク質コンストラクトに結合させることと、

c. 結合したNMDAR自己抗体の存在を決定することと、を含む、方法。

【請求項 5】

前記試料中のNMDAR自己抗体が、溶液中又は細胞膜上に存在する、請求項4に記載の方法。

【請求項 6】

前記方法が、請求項1～3のいずれか一項に記載の複数の異なるNMDARタンパク質コンストラクトを用いて行われ、前記複数のコンストラクトのどのNMDARタンパク質コンストラクトに対して前記NMDAR自己抗体が結合するかを追加的に決定することを含む、請求項4又は5に記載の方法。

【請求項 7】

前記方法が、NMDARに対する自己抗体に関連する医学的状態の可能性の評価に適用され、NMDAR自己抗体を含む疑いのある試料が、前記医学的障害を有するという症状を呈するヒト被験体の試料である、請求項4～6のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

前記NMDARに対する自己抗体に関連する医学的状態が、抗NMDAR脳炎である、請求項7に記載の方法。

【請求項 9】

NMDAR自己抗体の検出による被験体におけるNMDAR自己抗体に関連する自己免疫疾患の診断のためのキットであって、

a. 請求項1～3のいずれか一項に記載のNMDARタンパク質コンストラクト、若しくは、固体表面に固定化された請求項1～3のいずれかに記載のNMDARタンパク質コンストラクト、並びにヒトNMDAR自己抗体に向けられた標識二次親和性試薬、並びに該標識から発せられるシグナルを検出する手段、又は、

b. 請求項1～3のいずれか一項に記載の標識NMDARタンパク質コンストラクト、を備える、キット。

【請求項 10】

抗NMDAR脳炎を診断するための請求項9に記載のキット。

【請求項 11】

体外血液回路において、処理を必要とする人の血液又は血漿からNMDAR自己抗体を除去するように構成された血液処理装置であって、該装置が、マトリクスの上に固定化された請求項1～3のいずれか一項に記載の1つ以上のNMDARタンパク質コンストラクトを有するマトリクスを備える、血液処理装置。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、1つ以上のNMDAR自己抗体エピトープを含む可溶性N-メチル-D-アスパラギン酸受容体（NMDAR）タンパク質コンストラクトであって、該コンストラクトが、NMDARサブユニットGluN1の細胞外ドメイン（ECD）又はその断片と、GluN2A、GluN2B、GluN2C若しくはGluN2Dの少なくとも1つのNMDARサブユニットのECD、又はその断片とを含む、可溶性NMDARタンパク質コンストラクトに関する。さらに、本発明は、試料中のNMDAR自己抗体を検出するin vitroの方法であって、a.) NMDAR自己抗体を含む疑いのある試料を準備することと、b.) 本発明のNMDARタンパク質コンストラクトを捕捉分子として準備することと、c.) 該試料と、該NMDARタンパク質コンストラクトとを接触させ、それによって上記試料からのNMDAR自己抗体を上記NMDARタンパク質コンストラクトに結合させることと、d.) 結合したNMDAR自己抗体の存在、及び任意にその量を決定することを含む、方法に関する。実施の形態において、本発明の方法は、NMDARに対する自己抗体に関連する医学的状態、好ましくは抗NMDAR脳炎の診断、予後予測、疾患モニタリング、患者層別化及び／又は治療モニタリングに適用される。

【背景技術】

【0002】

抗NMDA受容体脳炎（NMDAR脳炎）は、数が増加している自己免疫性脳炎の最も一般的な形態である（非特許文献1、非特許文献2）。この障害は主に若い女性を冒し、患者は、記憶喪失、幻覚、妄想と並んで、発作及びジスキネジアを含む精神医学的及び神経学的な症状を呈する。現在の治療選択肢としては、グルココルチコイド、血漿交換と並んで、リツキシマブ及びシクロホスファミドが挙げられる。NMDAR脳炎は、血液中と脳内の両方で主要なNMDA受容体サブユニットGluN1の細胞外領域を標的とする自己抗体の生成によって引き起こされる。抗体は、表面ダイナミクスを変更し、NMDA受容体の架橋と内在化とを誘導し、その結果として生じるNMDA受容体の枯渇は、患者で観察される神経学的症状の幾つかを説明することができる（非特許文献3、非特許文献4、非特許文献5）。NMDA受容体機能のダウンレギュレーションを誘導したCSF B細胞に由来するGluN1に対する単一の組換えヒト抗体（非特許文献6）は、それらがこの疾患の主な病原性物質であることを示唆している。この推測は、最近、能動免疫及び受動免疫を用いたマウスモデルによって強固なものとされている（非特許文献3、非特許文献7、非特許文献8）。

10

【0003】

他の形態の抗体媒介性脳炎及び多くの自己免疫疾患とは大きく異なり、NMDAR脳炎は特定のHLA-II型に関連付けられないようである（非特許文献9、非特許文献10）。かなりの数の女性NMDAR脳炎患者は卵巣奇形腫を有する。興味深いことに、NMDAR脳炎患者の脳から単離された抗体分泌細胞のうち幾つかは、NMDA受容体に対して変異していない／生殖細胞系列抗体を発現した（非特許文献6、非特許文献11）。自己免疫反応の起源は完全には解明されていないが、集団の大部分がNMDA受容体抗体を有する可能性があり、血清中のNMDA受容体自己抗体の存在が妊婦及び血液脳関門障害を伴う高齢者において一般的な問題を構成する可能性があるようである。さらに、NMDAR脳炎以外の神経精神疾患を有する患者にNMDA受容体自己抗体が見つかっており、疾患の進行に寄与している可能性が高い（非特許文献4）。

20

【0004】

免疫抑制及び血漿交換又は静脈内免疫グロブリンは、NMDAR脳炎の確立された治療法である。しかしながら、より低い副作用を示すと予想されるため、疾患を引き起こす抗体の選択的除去が好ましいであろう。NMDA受容体抗体から血清を枯渇させることは、例えば血漿交換と同様の体外技術を用いて、NMDAR脳炎及びNMDA受容体自己抗体に関連する他の障害に適用され得る。かかるアフエーシス形態の前提条件は、患者からNMDA受容体自己抗体、すなわちNMDA受容体抗体に対する可溶性抗原を結合することができる安定したタンパク質の生成であろう。

30

【0005】

NMDA受容体は、主要なGluN1サブユニット及び調節性GluN2/3サブユニットから組み立てられる（非特許文献12）。GluN1及びその欠失変異体の異種発現は、NMDAR脳炎患者から単離されたヒトIgGが、GluN1のアミノ末端ドメイン（ATD）と呼ばれる特定の細胞外領域に結合したことを明らかにした（非特許文献13）。このクラムシェル様ドメイン（clam shell-like domain）のヒンジ領域におけるアミノ酸の変異（N368/9）は、抗体結合を抑制し、これらのアミノ酸のクラムシェルの閉鎖又は翻訳後修飾が抗体によって認識されるエピトープに影響を及ぼすか、又はそれを構成することを示唆する。さらに、ATD立体構造はチャネル開口と関連があり、抗体が活性化状態で受容体に優先的に結合する（非特許文献13）。天然コアNMDA受容体は、GluN1-GluN2二量体の二量体として機能する。この構造内で、GluN1のATDはGluN2サブユニットのATDと直接相互作用し（非特許文献14）、それらの立体構造は受容体の活性化及び阻害の間に協調的に変化する（非特許文献15、非特許文献16、非特許文献17）。さらに、NMDA受容体抗体は、一部の患者ではGluN2サブユニットによって定義される特定のNMDA受容体サブタイプに向けられ得る。GluN2細胞外ドメインを包含する抗原は、したがってGluN1のみを含む抗原よりも好ましい場合がある。

40

【0006】

50

NMDA受容体に対する自己抗体は、特許文献1に記載されているようにアセトン固定GluN1発現異種細胞を含むバイオチップに基づくEuroimmun細胞ベースアッセイ（CBA）キットを用いて日常的に検出される。しかしながら、NMDA受容体自己抗体は、しばしばそれらの抗原の天然の立体構造を認識し、NMDA受容体発現HEK293細胞の生きた染色は、低力価を検出するための予め固定された細胞を用いる市販のアッセイよりも感受性が高いことが判明した（非特許文献18）。これらの細胞ベースのアッセイは、バイアスを引き起こす可能性のある結果を目視で調査する必要がある。さらに、かかる試験にて自動化されている通例の検査が可能であっても、目的の抗原だけでなく、細胞表面に多くの異なる抗原があるという事実により、偽陽性の結果が生じやすくなる。

【0007】

したがって、NMDA受容体自己抗体を検出するための、高感度で定量化可能なハイスループット法が早急に必要とされている。この方向で、一次海馬ニューロンに対する単一のナノ粒子イメージングアプローチは、低力価でNMDA受容体自己抗体を検出し、自動化可能であるが、技術的には非常に困難である（非特許文献18）。NMDA受容体を発現する溶解したHEK293細胞に基づいて異なる力価のNMDA受容体自己抗体の比較を可能にするELISAが早い段階で説明されている（非特許文献19）。特許文献2は、NR2A/NR2Bのアミノ末端断片が合成及び精製されるが、GluN1のECDとの組合せは含まない脳卒中の診断方法に関連して、NR2A（GluN2A）及び／又はNR2B（GluN2B）に対する抗体の検出方法を開示している。実際、開示された方法はGluN2A又はGluN2Bに特異的に向けられた抗体を同定するが、GluN1に向けられた抗体を同定する意図はなく、GluN1とのそれらの関連とは無関係であり、したがって本発明と比べても全く異なる用途が意図されている。重要なことに、特許文献2の方法を用いて、GluN1又はその一部に結合する抗体を同定することはできない。

【0008】

近年、mycタグ及びポリヒスチジンタグに融合されたGluN1のアミノ末端領域全体（アミノ酸1～561、ATD及びS1ドメインを包含する）、タバコエッチ病ウイルス（TEV）切断部位、及びPDGFR受容体の膜貫通領域を発現する細胞株が提示された（非特許文献20）。これらの細胞のTEV処理は、GluN1のアミノ末端細胞外セグメントを放出した。この断片を、抗ポリヒスチジン抗体を介してELISAプレートに結合し、モノクローナル抗GluN1抗体を検出することができた。しかしながら、この抗原の検出感度は限定される場合がある。要約すると、天然の立体構造を維持し、例えばELISAにおいて、例えば血清又はCSFに存在する自己抗体を検出するためのGluN1並びにGluN2セグメントを組み込むNMDA受容体の利用可能な安定した可溶性抗原はない。

【0009】

したがって、GluN1と、GluN2A、GluN2B、GluN2C及び／又はGluN2Dの細胞外ドメイン、又はそれらの断片とで構成され得るか、又はそれによって安定化され得る1つ以上のNMDAR自己抗体エピトープを含むNMDARタンパク質コンストラクトの提供に対する当該技術分野での強いニーズが残されている。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0010】

【文献】国際公開第2012/076000号

【文献】米国特許出願公開第2003/096331号

【非特許文献】

【0011】

【文献】Dalmau et al., 2017

【文献】Dalmau and Graus, 2018

【文献】Hughes et al., 2010

【文献】Jezequel et al., 2017a

【文献】Ladepêche et al., 2018

10

20

30

40

50

【文献】 Kreye et al., 2016
【文献】 Jones et al., 2018
【文献】 Malviya et al., 2017
【文献】 Kim et al., 2017
【文献】 Mueller et al., 2018
【文献】 Wenke et al., 2019
【文献】 Paoletti et al., 2013
【文献】 Gleichman et al., 2012
【文献】 Lee and Gouaux, 2011
【文献】 Lee et al., 2014
【文献】 Tajima et al., 2016
【文献】 Zhu et al., 2016
【文献】 Jezequel et al., 2017b
【文献】 Dalmau et al., 2008
【文献】 Sharma et al., 2018

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0012】

従来技術に照らして、本発明の根底にある技術的課題は、NMDAR自己抗体の検出及びNMDAR自己抗体に関連する自己免疫疾患の治療のための改善されたNMDARタンパク質コンストラクトの提供である。

【課題を解決するための手段】

【0013】

この課題は、独立項の特徴によって解決される。本発明の好ましい実施の形態は、従属項によって提供される。

【0014】

NMDARタンパク質コンストラクト

したがって、本発明は、1つ以上のNMDAR自己抗体エピトープを含む可溶性N-メチル-D-アスパラギン酸受容体（NMDAR）タンパク質コンストラクトであって、該コンストラクトが、NMDARサブユニットGluN1の細胞外ドメイン（ECD）又はその断片と、GluN2A、GluN2B、GluN2C若しくはGluN2Dの少なくとも1つのNMDARサブユニットのECD、又はその断片とを含む、NMDARタンパク質コンストラクトに関する。実施の形態において、NMDARタンパク質コンストラクトは、NMDARサブユニットGluN1の細胞外ドメイン（ECD）又はその断片と、NMDARサブユニットのGluN2A又はその断片及び／又はGluN2B又はその断片のECDとを含む。

【0015】

また、本発明は、1つ以上のNMDAR自己抗体エピトープを含む、NMDAR膜貫通ドメインを欠くN-メチル-D-アスパラギン酸受容体（NMDAR）タンパク質コンストラクトであって、該コンストラクトが、NMDARサブユニットGluN1の細胞外ドメイン（ECD）又はその断片と、GluN2A、GluN2B、GluN2C若しくはGluN2Dの少なくとも1つのNMDARサブユニットのECD、又はその断片とを含む、NMDARタンパク質コンストラクトに関する。実施の形態において、NMDAR膜貫通ドメインを欠くNMDARタンパク質コンストラクトは、NMDARサブユニットGluN1の細胞外ドメイン（ECD）又はその断片と、NMDARサブユニットのGluN2AのECD又はその断片及び／又はGluN2BのECD又はその断片とを含む。

【0016】

さらに、本発明は、1つ以上のNMDAR自己抗体エピトープを含むN-メチル-D-アスパラギン酸受容体（NMDAR）タンパク質コンストラクトであって、該コンストラクトが、NMDARサブユニットGluN1の細胞外ドメイン（ECD）又はその断片と、GluN2A、GluN2B、GluN2C若しくはGluN2Dの少なくとも1つのNMDARサブユニットのECD、又はその断

10

20

30

40

50

片と、二量体化ドメインとを含む、NMDARタンパク質コンストラクトに関する。実施の形態において、NMDARタンパク質コンストラクトは、NMDARサブユニットGluN1の細胞外ドメイン（ECD）又はその断片と、NMDARサブユニットのGluN2AのECD又はその断片及び／又はGluN2BのECD又はその断片と、二量体化ドメインとを含む。

【0017】

また、本発明は、1つ以上のNMDAR自己抗体エピトープを含むN-メチル-D-アスパラギン酸受容体（NMDAR）タンパク質コンストラクトであって、該コンストラクトが、NMDARサブユニットGluN1の細胞外ドメイン（ECD）又はその断片と、GluN2A、GluN2B、GluN2C若しくはGluN2Dの少なくとも1つのNMDARサブユニットのECD、又はその断片とを含み、かつ、細胞内又は細胞上に存在しない、NMDARタンパク質コンストラクトに関する。実施の形態において、NMDARタンパク質コンストラクトは、NMDARサブユニットGluN1の細胞外ドメイン（ECD）又はその断片と、NMDARサブユニットのGluN2AのECD又はその断片及び／又はGluN2BのECD又はその断片とを含み、かつ、細胞内又は細胞上に存在しない。

10

【0018】

本発明のNMDARタンパク質コンストラクトは、患者の血清又はCSF中のNMDA受容体自己抗体のスクリーニングに使用され得る。

【0019】

本明細書に開示されるデータは、本発明の可溶性NMDARタンパク質コンストラクト、特にFc融合タンパク質としての実施の形態において、NR脳炎患者の血清中の抗体を検出できることを示す。可溶性NMDAR-Fcタンパク質コンストラクト（srNR-Fcタンパク質）は、in vitro培養細胞の表面に発現されたNMDARを用いて抗体を検出する技術水準の細胞及び細胞ベースのアッセイに対して幾つかの利点を有する。srNR-Fcタンパク質は精製及び保存することができる。精製されたsrNR-Fcタンパク質は、多くの追加タンパク質を含む異種細胞と比較して、クリーンな抗原を構成する。それらは、細胞ベースのアッセイ（CBA）と比較して抗体検出における感度の向上につながる非常に高い抗原濃度を生成することを可能にする。

20

【0020】

技術水準の既知のNMDARコンストラクトとは対照的に、本発明は、2つのサブユニットの残基によって形成されるエピトープに結合するか、又は2つのサブユニットのアセンブリによってのみ形成若しくは安定化される自己抗体を同定することを可能にする、2つのNMDARサブユニットの少なくとも断片を含むNMDARコンストラクトに関する。これに対して、1つのサブユニット又はその断片のみを含む技術水準のコンストラクトは、かかる自己抗体に結合して除去しない。

30

【0021】

試料中のNMDAR特異的抗体の認識に本発明のタンパク質コンストラクトを用いることにより、GluN1がGluN2サブユニットと会合している場合はNMDAR及びGluN1にのみ結合する抗体を同定することができ、これはかかる抗体のそれぞれのエピトープの安定化につながる。それぞれのエピトープが、GluN1とそれぞれのGluN2サブユニットとの会合によってのみ安定化又は形成されることから、GluN1又はGluN2サブユニットのみを含むタンパク質又はタンパク質コンストラクトによってかかる抗体を同定することはできない。

40

【0022】

例えばFc断片又は他の若しくは追加のタグを含む本明細書に開示されるNMDARタンパク質コンストラクトは、様々な診断アッセイにおいて有用であり得る。例えば、実施例に開示されているELISA様アッセイ形態の診断アッセイは、NMDA受容体自己抗体を検出し、他の自己免疫性脳症における自己抗体を検出する定量可能なハイスループット法を可能にするコンパニオン診断として使用され得る。

【0023】

さらに、NMDARタンパク質コンストラクトは、患者の分類を可能にする異なるNMDA受容体組成に対する自己免疫応答を区別するために使用され得る。

50

【0024】

本明細書に提供される実施例で開示されるように、かかる融合タンパク質によって形成される種々のsrNR-Fc融合タンパク質及び二量体等のNMDARタンパク質コンストラクトは、異なる患者由来の抗体／血清に応答して異なるシグナルを生じ、患者固有の変異体抗体プロファイルを示す。したがって、実施例に記載されるsrNR-Fc融合のセット等のGluN1、GluN2A、GluN2B、GluN2C及びGluN2DのECD及びATDの異なる組合せを含む本発明の異なるNMDARタンパク質コンストラクトを含むセットを、患者固有の抗体プロファイル进行分类するために使用することができ、すなわち、GluN1又はヘテロGluN1/GluN2構造、及び潜在的には特定の組成のGluN1/GluN2構造に主に向けられた抗体を区別する。NMDAR脳炎患者の細分類は、最終的には治療法の改善につながる可能性がある。

10

【0025】

したがって、本発明はまた、GluN1及びGluN2A～GluN2Dの1つ以上、又はそれらの断片の異なる組合せを提供する本発明の2つ以上のNMDARタンパク質コンストラクトを提供するセット又はキットに関する。

【0026】

実施の形態において、本発明は、本発明の2つのNMDARタンパク質コンストラクトに関し、1つのコンストラクトがGluN1及びGluN2AのECD、又はその断片を含み、他方のコンストラクトがGluN1及びGluN2BのECD、又はその断片を含む。

【0027】

実施の形態において、本発明は、本発明の2つのNMDARタンパク質コンストラクトに関し、1つのコンストラクトがGluN1及びGluN2AのECD、又はその断片を含み、他方のコンストラクトがGluN1及びGluN2CのECD、又はその断片を含む。

20

【0028】

実施の形態において、本発明は、本発明の2つのNMDARタンパク質コンストラクトに関し、1つのコンストラクトがGluN1及びGluN2AのECD、又はその断片を含み、他方のコンストラクトがGluN1及びGluN2DのECD、又はその断片を含む。

【0029】

実施の形態において、本発明は、本発明の2つのNMDARタンパク質コンストラクトに関し、1つのコンストラクトがGluN1及びGluN2CのECD、又はその断片を含み、他方のコンストラクトがGluN1及びGluN2BのECD、又はその断片を含む。

30

【0030】

実施の形態において、本発明は、本発明の2つのNMDARタンパク質コンストラクトに関し、1つのコンストラクトがGluN1及びGluN2DのECD、又はその断片を含み、他方のコンストラクトがGluN1及びGluN2BのECD、又はその断片を含む。

【0031】

実施の形態において、本発明は、本発明の2つのNMDARタンパク質コンストラクトに関し、1つのコンストラクトがGluN1及びGluN2CのECD、又はその断片を含み、他方のコンストラクトがGluN1及びGluN2DのECD、又はその断片を含む。

【0032】

本発明のNMDARタンパク質コンストラクトは、NMDARの四量体アセンブリを模倣するGluNサブユニットの4つのECDを含むことができる。例えば、本発明のコンストラクトは、2つのGluN1 ECD又はその断片と、GluN2A、GluN2B、GluN2C及び／又はGluN2Dの2つの等しい又は異なるECDを含むことができる。

40

【0033】

また、NMDA受容体自己抗体を発現するB細胞の標識を可能にするコンストラクトは、診断ツールとして使用することができ、細胞の単離及びIgG配列解析を容易にする。

【0034】

本発明のNMDAR (NMADR) タンパク質コンストラクトは、可溶性NMDAR自己抗体だけでなく、患者の血清及びCSFに存在するB細胞の表面に発現されるNMDAR自己抗体も検出するために使用され得る。NMDA受容体自己抗体を発現するB細胞の標識も診断ツール

50

として使用され得る。

【0035】

さらに、かかるコンストラクトを、患者の血清又はCSFからNMDA受容体に対する抗体を選択的に除去するために使用することができる。

【0036】

現在のアフェレーシスプロトコルは、全てのIgGから血清をほぼ枯渇させる。本発明の（可溶性）NMDARタンパク質コンストラクトは、アガロース／セファロースビーズ又は異なるマトリクス材料に非共有結合又は共有結合され得る。得られたマトリクスは、患者の血清からNMDAR自己抗体を特異的に免疫枯渇するために使用され得る。この手法は効率的であり、重度の感染症又は創傷治癒障害等、完全な免疫枯渇に関連する全ての副作用を回避する。免疫系は、現在の治療選択肢とは対照的に、この方法によって弱められることはない。

【0037】

本発明の以下の更なる好ましい実施の形態はいずれも、上記に記載される各NMDARタンパク質コンストラクトに関する。

【0038】

本発明の実施の形態において、本発明のコンストラクトは、NMDAR膜貫通ドメインを欠いている。

【0039】

さらに、コンストラクトは、二量体化ドメイン及び／又は捕捉ドメインを含むことができる。

【0040】

重要なことに、本発明の特定のコンストラクトでは、二量体化ドメインは捕捉ドメインである。

【0041】

実施の形態において、二量体化ドメインは、ロイシンジッパー及び／又はコイルドコイルドメインを含む。

【0042】

本発明の特定の実施の形態において、二量体化ドメイン及び／又は捕捉ドメインは、抗体Fc断片を含むか、又はそれからなる。実施の形態において、Fc断片はウサギIgG Fcの断片である。

【0043】

二量体化及び／又は捕捉ドメイン、例えばFc断片の存在は、これらのドメインによって可溶性NMDARタンパク質コンストラクトが安定化されることから特に有利であり得る。特に、Fc部分は保存された立体構造を有するコンストラクトの長期保存を可能にする。

【0044】

特に、本発明のNMDARタンパク質コンストラクトでは、GluN1のECD又はその断片は、GluN1のアミノ末端ドメイン（ATD）又はその断片を含むか、又はそれからなる。

【0045】

本発明のコンストラクトに関連して、GluN2A、GluN2B、GluN2C若しくはGluN2Dの少なくとも1つのNMDARサブユニットのECD、又はその断片は、GluN2A、GluN2B、GluN2C若しくはGluN2Dの少なくとも1つのNMDARサブユニットのATD、又はその断片をそれぞれ含むか、又はそれからなる。

【0046】

さらに、GluN2AのECD若しくはその断片及び／又はGluN2BのECD若しくはその断片は、それぞれGluN2AのATD若しくはその断片及び／又はGluN2BのATD若しくはその断片を含み得るか、又はそれからなり得る。

【0047】

本発明の或る特定のNMDARタンパク質コンストラクトでは、GluN1のECDと、GluN2A、GluN2B、GluN2C若しくはGluN2Dの少なくとも1つのNMDARサブユニットのECD

10

20

30

40

50

、又はその断片とが、好ましくは融合タンパク質として共有結合される。その中で、GluN1のECDと、GluN2A、GluN2B、GluN2C若しくはGluN2Dの少なくとも1つのNMDARサブユニットのECD、又はその断片とを、融合タンパク質として直接又はタンパク質リンカーにより連結してもよい。実施の形態において、GluN1のECDと、GluN2AのECD及び／又はGluN2BのECD、又はそれらの断片とが、好ましくは融合タンパク質として共有結合される。その中で、GluN1のECDと、GluN2A及び／又はGluN2BのECD、又はそれらの断片とを、融合タンパク質として、直接又はタンパク質リンカーにより連結してもよい。

【0048】

実施の形態において、GluN1のECDと、GluN2A、GluN2B、GluN2C若しくはGluN2Dの少なくとも1つのNMDARサブユニットのECD、又はそれらの断片とが、アミノ酸配列GGGSの1つ以上の繰り返しを含むか、又はそれからなるタンパク質リンカーにより連結される。

10

【0049】

実施の形態において、GluN1のECDと、GluN2A及び／又はGluN2BのECD、又はそれらの断片とが、アミノ酸配GGGSの1つ以上の繰り返しを含むか、又はそれからなるタンパク質リンカーにより連結される。

【0050】

本発明の特定の実施の形態において、コンストラクトは、GluN1のECD、GluN2A、GluN2B、GluN2C若しくはGluN2Dの少なくとも1つのNMDARサブユニットのECD、又はその断片を含むコンストラクトの一部と、二量体化ドメイン及び／又は捕捉ドメインを含むコンストラクトの一部との間に、TEV切断部位又は当業者に知られている適切なプロテアーゼによって認識される任意の他の切断部位等の1つ以上のプロテアーゼ切断部位を含む。

20

【0051】

実施の形態において、コンストラクトは、GluN1のECD、GluN2AのECD及び／又はGluN2BのECD、又はそれらの断片を含むコンストラクトの一部と、二量体化ドメイン及び／又は捕捉ドメインを含むコンストラクトの一部との間に、TEV切断部位又は当業者に知られている適切なプロテアーゼによって認識される任意の他の切断部位等の1つ以上のプロテアーゼ切断部位を含む。

【0052】

30

本発明のNMDARタンパク質コンストラクトの好ましい実施の形態において、コンストラクトは、非共有結合モノマーのタンパク質二量体であり、該コンストラクトはホモ二量体又はヘテロ二量体であり得る。本発明の或る特定の二量体コンストラクトでは、コンストラクトは、（1つのモノマーとして）GluN1のECD又はその断片と、（1つのモノマーとして）GluN2A、GluN2B、GluN2C若しくはGluN2Dの少なくとも1つのNMDARサブユニットのECD、又はその断片とから形成されるヘテロ二量体であり得る。二量体コンストラクトの実施の形態において、コンストラクトは、（1つのモノマーとして）GluN1のECD又はその断片と、（1つのモノマーとして）GluN2AのECD若しくはその断片、及び／又はGluN2AのECD若しくはその断片とから形成されるヘテロ二量体であってもよい。好ましくは、二量体は、各モノマーで構成される二量体化ドメインにより形成される。更なる実施の形態において、本発明のNMDARタンパク質コンストラクトは、2つのモノマーの二量体であり得て、各モノマーは、2つのNMDARサブユニット、例えばGluN1とGluN2A、GluN1とGluN2B、GluN1とGluN2C、又はGluN1とGluN2Dの2つのECD、又はそれらの断片を含む。したがって、NMDARサブユニットの4つのECD（2つのモノマーによって提供される）又はその断片を含み、したがって、4つのサブユニット、すなわち2つのGluN1サブユニット及び2つのGluN2サブユニットの四量体である天然起源のNMDA受容体（NMDAR、NMDAR受容体）を模倣するNMDARタンパク質コンストラクトを提供することができる。例えば、本明細書に開示される融合タンパク質N1-ATD-N2B-ATD-Fcの二量体化は、4つのATDドメインを含む2つのN1-ATD-N2B-ATD-Fcモノマーによって形成される本発明のNMDARタンパク質コンストラクトの形成をもたらす。

40

50

【0053】

本発明のNMDARタンパク質コンストラクトは、所与のコンストラクトにおいてGluN1、GluN2A、GluN2B、GluN2C及び／又はGluN2DのサブユニットのECD又はATDのアセンブリを可能にするため、既知のNMDARコンストラクトと比較して有利である。或る特定のサブユニット又はサブユニットの組合せに特異的な自己抗体は、本発明のコンストラクトによって効率的に結合され得て、試料中に存在する一連の自己抗体を、その差次的結合プロファイルについて評価することができるため、このリガンド組合せの潜在的可能性は強い利点となる。さらに、GluN1、GluN2A、GluN2B、GluN2C及び／又はGluN2DのサブユニットのECD又はECDの断片を捕捉ドメインと組み合わせることができることで、例えばELISAアッセイの状況でのコンストラクトの柔軟な使用が可能となり、これは技術水準の細胞ベースのELISAアッセイと比較して有利である。

10

【0054】

GluN1とGluN2、特にGluN2A、GluN2B、GluN2C及び／又はGluN2Dからの両方のドメインを含むサブユニットアセンブリは、技術水準のアッセイのようなGluN1サブユニットのみの提示よりも密接に天然の状況を再構成する。リガンド／サブユニットを組み合わせることで、より完全な病原性自己抗体の結合、検出及び／又は除去を達成することができる。例えば、本明細書に開示される実施例に示すように、本発明のNMDARタンパク質コンストラクトにおけるサブユニットの好ましい組合せは、GluN1-ATDとGluN2B-ATD、又はGluN1-ECDとGluN2B-ECDを、単一の融合タンパク質、又はFcドメイン等の二量体化ドメインを介するアセンブリによってヘテロ二量体を形成する2つのタンパク質を含むコンストラクトのいずれかにおいて含み得る。実施例では、融合タンパク質#1（N1-ATD-Fc）と融合タンパク質#6（N2B-ATD-Fc）、融合タンパク質#8（N1-ATD-N2B-ATD-Fc）と融合タンパク質#4（N1ecd-N2Becd-Fc）の組合せが、患者試料に存在する自己抗体の結合に特に有利であることが示された。

20

【0055】

試料中のNMDAR自己抗体を検出するin vitroの方法

さらに、本発明は、試料中のNMDAR自己抗体を検出するin vitroの方法であって、

NMDAR自己抗体を含む疑いのある試料を準備することと、

上述の請求項のいずれか一項に記載のNMDAタンパク質コンストラクトを捕捉分子として準備することと、

30

上記試料と、上記NMDARタンパク質コンストラクトとを接触させ、それによって上記試料からのNMDAR自己抗体を上記NMDARタンパク質コンストラクトに結合させることと、

結合したNMDAR自己抗体の存在、及び任意にその量を決定することと、を含む、方法に関する。

【0056】

本発明のNMDAR自己抗体の検出方法の実施の形態において、上記試料中のNMDAR自己抗体は溶液中又は細胞膜上に存在する。

【0057】

実施の形態において、NMDAR自己抗体の検出方法は、本発明の意味で複数の異なるNMDARタンパク質コンストラクトを用いて実施される。複数の異なるコンストラクトを用いた本発明の方法に関して、該方法は、上記の複数のコンストラクトのどのNMDARタンパク質コンストラクトに対してNMDAR自己抗体が結合するか、又は好ましくは最大量で結合するか及び／又は最も効率的に結合するかを決定する工程を追加的に含んでもよい。したがって、本発明の方法で使用されるNMDARタンパク質コンストラクトに関して決定されたNMDAR自己抗体及びそれらの結合特性に基づいて試料を提供する患者をプロファイル及び分類することができる可能性がある。この状況では、本発明の方法は、複数のコンストラクトのそれぞれについて別々に行われてもよく（並列決定）、又は2以上のNMDARコンストラクトへのNMDAR自己抗体の結合が1回のアッセイで決定される（多重化）。

40

【0058】

50

本発明の方法は、上記試料に存在するNMDAR自己抗体プロファイルを決定する工程を含むことができる。

【0059】

本発明の方法の実施の形態において、上記試料中に存在する細胞表面にNMDAR自己抗体を提示する細胞の存在及び任意にその量を決定してもよい。本発明の方法の大きな利点は、可溶性NMDAR自己抗体と並んで、細胞表面の、特にNMDAR自己抗体を産生するB細胞の表面のNMDAR自己抗体を検出することができることである。

【0060】

実施の形態において、本発明の方法は、NMDARに対する自己抗体に関連する医学的状态、好ましくは抗NMDAR脳炎の診断、予後予測、疾患モニタリング、患者層別化及び／又は治療モニタリングに適用され、NMDAR自己抗体を含む疑いのある該試料は、上記医学的障害を有するという症状を呈するヒト被験体の試料である。

【0061】

NMDARに対する自己抗体に関連する医学的状态、好ましくは抗NMDAR脳炎の診断、予後予測、疾患モニタリング、患者層別化及び／又は治療モニタリングの方法の実施の形態において、結合したNMDAR自己抗体の存在は、好ましくは、健康な対照集団からの量等の適切な対照を上回る結合されたNMDAR自己抗体の量は、NMDARに対する自己抗体に関連する医学的状态、好ましくは抗NMDAR脳炎を発症する被験体の存在又はその可能性を示す。

【0062】

現在の診断は、NMDA受容体のGluN1サブユニットを発現する組織プロファイリング又はCBAに基づく。これらと比較して、本発明のNMDAR (NMADR) タンパク質コンストラクトに基づく本発明の方法は、幾つかの利点を提供する。例えば、本発明の方法は、GluN2サブユニットとの関連で、GluN1に結合する自己抗体の結合又は捕捉を可能にし、したがって重なり合うエピトープ又は立体的に安定化されたエピトープに結合する自己抗体も捕捉する。さらに、本発明の方法は、例えばGluN1とGluN2A対GluN1とGluN2B対個々のサブユニット対GluN1とGluN2C対GluN1とGluN2D、及びGluN1とGluN2サブユニットの2以上のアイソフォームとの更なる組合せに対する自己抗体の優先結合を区別することを可能にする。

【0063】

本明細書に開示される検出方法の更なる利点は、アッセイの堅牢性と、sFIDA等の標準化、更には完全な自動化に対しても適応可能であるという事実である。さらに、アッセイを、単一分子レベルのアッセイ（例えばSIMOA）として機能するように最適化することができ、それによって自己抗体の定量化に到達する。さらに、本発明の方法は、哺乳動物細胞、好ましくはHEK細胞等のヒト細胞の細胞バックグラウンドの低下に起因して、NMDAR自己抗体を検出するための技術水準のアッセイよりも感度が高い。

【0064】

本発明の方法の状況では、NMDARタンパク質コンストラクトを、上記試料と接触する前に固相に固定化することができる。

【0065】

本発明の実施の形態において、本発明の可溶性NMDARタンパク質コンストラクトは固定化された形態で提供される。かかる実施の形態において、本発明の可溶性NMDARタンパク質コンストラクトは、適切な発現系からその可溶性形態で精製された後、固相に固定化されてもよい。したがって、本発明の固定化されたNMDARタンパク質コンストラクトのかかる実施の形態の状況では、「可溶性」は、固定化される前のコンストラクトの以前の状態に関する。

【0066】

さらに、本発明の方法を、酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）として実施することができる。

【0067】

本発明の方法の状況におけるNMDAR自己抗体の決定は、以下の工程：

固体表面に固定化されたNMDARタンパク質コンストラクトへの結合により試料からのNMDAR自己抗体を固定化する工程と、

NMDAR自己抗体に向けられた標識二次親和性試薬を用いて上記固定化されたNMDAR自己抗体を処理する工程と、

NMDAR自己抗体に向けられた上記標識二次親和性試薬から発せられるシグナルを検出する工程と、

上記標識二次親和性試薬から得られたシグナルを、事前に決定されたNMDAR自己抗体濃度の1つ以上の対照試料からのシグナルと比較する工程と、
を含むことができる。

10

【0068】

実施の形態において、シグナルは、二次親和性試薬に共役させた西洋ワサビペルオキシダーゼから得られる。更なる実施の形態において、蛍光標識又は化学発光標識、及び当業者に知られている更なる標識等の二次親和性試薬の他の標識が使用され得る。

【0069】

特定の実施の形態において、本発明の方法は、NMDAR自己抗体に関連する医学的状態を有する及び／又はそれを発症していると疑われる被験体の治療指導に適用され、該方法は、上記被験体の後続する治療に対して本発明の対応する1つ以上のNMDARタンパク質コンストラクトを選択することを含む。

【0070】

20

NMDAR自己抗体を検出するキット

本発明はまた、試料中のNMDAR自己抗体を検出するキットに関し、該キットは、

本発明のNMDARタンパク質コンストラクト及び任意に該NMDARタンパク質コンストラクトを固定化するための固体表面、若しくは、固体表面に固定化された本発明のNMDARタンパク質コンストラクト、並びに、標識抗ヒトIgG抗体等のヒトNMDAR自己抗体に向けられた標識二次親和性試薬、並びに任意に該標識から発せられるシグナルを検出する手段、又は、

本発明の標識NMDARタンパク質コンストラクト、及び任意に該標識から発せられるシグナルを検出する手段と、

任意に、事前に決定されたNMDAR自己抗体濃度の対照試料と、
を備える。

30

【0071】

本発明のキットは、本発明の蛍光標識コンストラクト又はウサギFcに対して向けられた蛍光標識二次抗体を用いて、例えばFACSによって、NMDAR自己抗体発現細胞を検出するために使用され得る。さらに、キットは、試料中に存在するNMDAR自己抗体を検出するELISAを実施するために使用され得る。

【0072】

本発明はまた、NMDAR自己抗体の検出による被験体におけるNMDAR脳炎等のNMDAR自己抗体に関連する自己免疫疾患を診断するキットあって、

本発明のNMDARタンパク質コンストラクト及び任意に前記NMDARタンパク質コンストラクトを固定化するための固体表面、若しくは、固体表面に固定化された本発明のNMDARタンパク質コンストラクト、並びに標識抗ヒトIgG抗体等のヒトNMDAR自己抗体に向けられた標識二次親和性試薬、並びに任意に該標識から発せられるシグナルを検出する手段、又は、

40

本発明の標識NMDARタンパク質コンストラクトと、

任意に、事前に決定されたNMDAR自己抗体濃度の対照試料と、
を備える、キットに関する。

【0073】

NMDARタンパク質コンストラクトを含む血液処理装置

さらに、本発明は、体外血液回路において、処理を必要とする人の血液又は血漿からN

50

MDAR自己抗体を除去するように構成された血液処理装置であって、該装置が、マトリクスの上に固定化された本発明の1つ以上のNMDARタンパク質コンストラクトを有するマトリクスを備える、血液処理装置に関する。

【0074】

実施の形態において、本発明の血液処理装置は、患者の血液が通過する体外血液回路内に置かれ、規定の流量で患者の血管系から血液処理装置に血液を輸送し、処理された血液を患者に戻す手段を備える。

【0075】

本発明の更なる態様

さらに、本発明は、医薬品として使用するための本明細書に開示されるNMDARタンパク質コンストラクトを含む。また、本発明は、NMDAR自己抗体に関連する自己免疫疾患、好ましくはNMDAR脳炎に罹患した被験体の治療において医薬品として使用される本明細書に開示されるNMDARタンパク質コンストラクトに関する。

【0076】

本発明はまた、本発明のNMDARタンパク質コンストラクトを製造するin vitroの方法であって、哺乳動物細胞、好ましくはヒト細胞において本発明のNMDARタンパク質コンストラクトをコードする核酸配列を発現させることと、後続する該NMDARタンパク質コンストラクトの単離とを含む、方法に関する。好ましくは、コンストラクトは、細胞によるタンパク質コンストラクトの分泌後に細胞上清から単離される。

【0077】

本発明の大きな利点は、特にプロテアーゼ切断又は界面活性剤可溶化のいずれかを用いて細胞膜から抗原を最初に単離する必要がある方法と比べて、本発明のNMDARタンパク質コンストラクトをコードする核酸配列を発現するように改変された細胞の細胞培養上清から可溶性NMDARタンパク質コンストラクトを単離できることである。

【0078】

さらに、本発明は、本発明のNMDARタンパク質コンストラクトを製造する開示された方法によって製造される本明細書に開示されるNMDARタンパク質コンストラクトを含む。

【0079】

本明細書に開示されるNMDARタンパク質コンストラクトの様々な実施の形態及び特徴はまた、試料中のNMDAR自己抗体を検出する方法の様々な実施の形態、NMDAR自己抗体を検出するキット、処理を必要とする人の血液又は血漿からNMDAR自己抗体を除去するように構成された血液処理装置、及び本明細書に提示される本発明のNMDARタンパク質コンストラクトを製造する方法に適用され、その逆も同様である。

【0080】

発明の詳細な説明

特許文献及び非特許文献の全ての引用された文書は、引用することによりその全体が本明細書の一部をなす。

【0081】

本発明は、1つ以上のNMDAR自己抗体エピトープを含む可溶性NMDARタンパク質コンストラクトであって、該コンストラクトが、NMDARサブユニットGluN1の細胞外ドメイン（ECD）又はその断片と、GluN2A、GluN2B、GluN2C若しくはGluN2Dの少なくとも1つのNMDARサブユニットのECD、又はその断片とを含む、可溶性NMDARタンパク質コンストラクトに関する。

【0082】

本発明に関連して、「タンパク質コンストラクト」という用語は、単一のアミノ酸鎖によって形成される個々のタンパク質又はペプチドに関連し得る。さらに、本明細書で使用される場合、「タンパク質コンストラクト」という用語は、例えば個々のアミノ酸鎖間のジスルフィド架橋又は他のリンカーによって共有結合される2つ以上のタンパク質、又はペプチド若しくはアミノ酸鎖のコンストラクト又は複合体も含む。さらに、「タンパク質コンストラクト」という用語は、非共有結合又は静電相互作用、ファンデルワールスカ、

10

20

30

40

50

疎水性相互作用、若しくは当業者に知られている他のもの等の非共有結合の相互作用により2つ以上のタンパク質、又はペプチド若しくはアミノ酸鎖によって形成されるタンパク質複合体を含み、例えば、それぞれ、二量体化又は多量体化ドメインを介してアセンブルされ得るタンパク質二量体又はタンパク質多量体の形成につながる。

【0083】

本発明の実施の形態において、タンパク質コンストラクトは、NMDARサブユニットGluN1の細胞外ドメイン（ECD）又はその断片と、GluN2A、GluN2B、GluN2C若しくはGluN2Dの少なくとも1つのNMDARサブユニットのECD、又はその断片とを含む1つ以上のタンパク質である。その中で、1つ以上のタンパク質は、単一のアミノ酸鎖において両方のECD又はその断片を含む単一のタンパク質であり得るか、又は1つ以上のタンパク質は、例えば、2つのタンパク質であり得て、この2つのタンパク質のそれぞれが、GluN1又はGluN2（A、B、C又はD）の1つ以上のECD又はその断片を含み、2つのタンパク質はタンパク質複合体にアセンブルされる。2つの（又はそれ以上の）タンパク質を含む実施形態において、2つの（又はそれ以上の）タンパク質は、タンパク質が、例えばジスルフィド架橋若しくは他のリンカーによって共有結合されるか、又はタンパク質が非共有結合／相互作用によりアセンブルする複合体にアセンブルされ得る。

【0084】

「ペプチド」、「ポリペプチド」、「ポリペプチド断片」、「アミノ酸鎖」、及び「タンパク質」は、特に明記しない限り、互換的に使用され、通常の意味に従って、すなわち、アミノ酸の配列として使用される。ポリペプチドは、特定の長さ限定されず、例えば、それらは全長タンパク質配列又は全長タンパク質の断片を含み得て、ポリペプチドの翻訳後修飾、例えば、グリコシル化、アセチル化、リン酸化等、並びに当該技術分野において既知の天然に存在する他の修飾及び天然に存在しない他の修飾の両方を含み得る。

【0085】

「単離されたペプチド」又は「単離されたポリペプチド」又は「単離されたタンパク質コンストラクト」等は、本明細書で使用される場合、細胞環境又は細胞培養上清から、及び細胞の他の成分との関連からのペプチド若しくはポリペプチド分子、又はタンパク質コンストラクトのin vitro単離及び／又は精製を指し、すなわち、それはin vivoの物質と有意には関連していない。

【0086】

本発明に関連して、二量体化ドメインは、別のタンパク質又はペプチドの別の二量体化ドメイン等の別のドメインに結合することができるタンパク質又はペプチドに含まれるか、又は統合することができる任意のドメインである。抗体の抗体Fc断片、ロイシンジッパードメイン又はコイルドコイルドメインを含む二量体化ドメインの多くの例が当業者に知られている。二量体化は、ホモ及びヘテロ二量体の形成をもたらすことができ、それぞれ2つの同一又は2つの異なるタンパク質のアセンブリを意味する。どちらの場合も、二量体化ドメインは同一であってもよく、ヘテロ二量体の場合には二量体を形成する単量体において異なってもよい。

【0087】

本発明の実施形態において、タンパク質コンストラクトは二量体化ドメインを含む。かかるコンストラクトは、1つ以上のタンパク質で構成され得る。単一のタンパク質で構成される本発明のタンパク質コンストラクトの場合、二量体化ドメインの存在がホモ二量体の形成につながる可能性があることは、当業者には明らかである。さらに、二量体化ドメインを含み、2つ以上のタンパク質で構成されるタンパク質コンストラクトが、それぞれのタンパク質において二量体化ドメインを含み得ることは、当業者にはすぐにわかることである。かかる実施形態において、タンパク質コンストラクトの2つのタンパク質の二量体化は、二量体化ドメインによって優先的に媒介される。言い換えれば、本発明のタンパク質コンストラクトが2つのタンパク質の二量体（ホモ二量体又はヘテロ二量体のいずれか）であるか又はそれを形成する場合、各タンパク質に含まれる二量体化ドメインによって二量体化がもたらされ得る。好ましい実施形態において、二量体化ドメインはFcドメイ

ンである。

【0088】

本明細書で使用される場合、捕捉ドメインという用語は、非共有結合の相互作用又は共有結合のいずれかによって本発明のコンストラクトを固相に結合するために使用することができる本発明のタンパク質コンストラクトのドメイン又は一部を指す。かかる捕捉ドメインの典型的な例は、好ましくは抗体等の捕捉ドメインに結合する一般に入手可能なタンパク質によって認識されるドメイン又はアミノ酸配列である。例えば、抗体のFc断片は、これらのドメインに特異的に結合する高親和性抗体があるため、捕捉ドメインとしての役割を果たすことができる。さらに、Mycタグ、HAタグ、HISタグ等のタンパク質タグを捕捉ドメインとして用いることができる。

10

【0089】

本発明のタンパク質コンストラクトに組み入れられ得る、可能性のある二量体化ドメイン及び捕捉ドメインは多種多様であり、当業者は適切な変異体を同定することができる。さらに、場合によっては、二量体化ドメインが捕捉ドメインとしての役割を果たすことも可能である。これは例えば、二量体を形成することができ、また一般的に入手可能な抗体によって容易に結合することができる抗体Fc断片の場合である。したがって、Fc断片は、捕捉ドメイン及び二量体化ドメインとして同時に機能することができる。更なる例は、当業者によって知られているか、又は過度の努力を伴わずに同定され得る。

【0090】

本発明の実施の形態は、組換え融合タンパク質等の組換えタンパク質に関し、融合遺伝子の遺伝子工学を通じて作製されるタンパク質である。これは典型的には、例えばライゲーション又はオーバーラップエクステンションPCRにより、間に停止コドンを含まずに、第1のタンパク質（断片）のcDNAを有するフレームに第2のタンパク質断片のcDNA配列を付加することを含む。そのDNA配列は、その後、単一のタンパク質として細胞によって発現される。タンパク質は、両方の元のタンパク質の完全な配列、又はどちらかの一部のみを含むように操作することができる。3つ以上のタンパク質又は断片をつないで、複雑な融合タンパク質を形成することができる。融合タンパク質の様々な部分の間には、いわゆるリンカー（又は「スペーサー」）ペプチドがしばしばあり、タンパク質が独立して折り畳まれ、期待どおりに動作する可能性が高くなるようにする。特にリンカーがタンパク質精製を可能にする場合、タンパク質又はペプチド融合においてリンカーは、プロテアーゼ又は化学物質に対する切断部位により操作され、2つの別々のタンパク質の解放を可能にすることがある。この技術は、多くの場合、GSTタンパク質、FLAGペプチド、又はヘキサhisペプチド（6×Hisタグ）を融合させることによって、タンパク質の同定及び精製に使用され、これをニッケル樹脂又はコバルト樹脂を用いる親和性クロマトグラフィーを用いて単離することができる。二量体又は多量体のキメラタンパク質は、人工タンパク質の二量体化又は多量体化を誘導するペプチドドメインの元のタンパク質（例えば、スト렙トアビジン又はロイシンジッパー）に融合することによって遺伝子工学により製造することができる。

20

30

【0091】

タンパク質リンカーは、ドメイン間に適切な間隔を提供することにより融合タンパク質の設計を助け、N末端又はC末端の相互作用が折り畳みに不可欠である場合に正しいタンパク質フォールディングを支援する。一般的に、タンパク質リンカーは重要なドメイン相互作用を可能にし、安定性を強化し、立体障害を低減し、N末端とC末端とを融合することができる場合でも融合タンパク質設計における使用に好ましいものとする。少なくとも3つの主要なタイプのリンカーは、柔軟で剛性があり、（in vivoで）切断可能である。フレキシブルリンカーは、多くの小さなグリシン残基からなることができ、動的で適応可能な形状にカールする能力を与える。剛性リンカーは、大きな環状プロリン残基で形成されることができ、ドメイン間の極めて特異的な間隔を維持する必要がある場合に役立ち得る。（in vivo）切断型リンカーは、特定のpH勾配等の或る特定の反応条件下で、又は細胞内の別の生体分子と接触したときに1つ以上の融合ドメインの放出を可能にするように設計され

40

50

ている点で特有である。適切なリンカー配列の選択及び設計は、当業者に知られている標準的な手順である。切断型リンカー配列の場合、当業者はリンカー切断に適した酵素又は試薬を選択し、対応するリンカーを設計又は選択することもできる。

【0092】

本発明のNMDARコンストラクトによって構成される好ましい配列

本発明のNMDARタンパク質コンストラクト又は本発明のNMDARタンパク質コンストラクトに使用され得る融合タンパク質の実施の形態によって構成される好ましいアミノ酸配列を表1に開示する。本発明のNMDARタンパク質コンストラクト又は本発明のNMDARタンパク質コンストラクトに使用され得る融合タンパク質をコードする核酸分子によって構成される好ましい核酸配列を表2に開示する。

【0093】

表1：本発明の好ましいアミノ酸配列

【表1-1】

SEQ ID NO.	Amino Acid Sequence	Description
SEQ ID NO 1	MSTMRLTLALLFSCSVARAACDPKIVNIGAVLSTR KHEQMFREAVNQANKRHGSWKIQLNATSVTHKPN AIQMALSVCEDLISSQVYAILVSHPTPNDFHTPTPV SYTAGFYRIPVLGLTTRMSIYSDKSIHLSFLRTVPPY SHQSSVWFEMMRVYSWNHIIILLVSDDEGRAAQK RLETLLERESKAEKVLQFDPGTKNVTALLMEAKEL EARVIILSASEDDAATVYRAAAMLNMTGSGYVWL GEREISGNALRYAPDGILGLQLINGKNESAHISDAV GVVAQAVHELLEKENITDPPRGCVGNTNIWKTGPL FKRVLMSISKYADGVTGRVEFNEDGDRKFANYSIM NLQNRKLVQVGIYNGTHVIPNDRKIIWPGGETEKPR GYQMSTRLKIGSSTMVRSSKPTCPPPELLGGPSVFI FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQDDPEVQFTW	protein sequence of fusion protein #1 N1- ATD-Fc

【表 1 - 2】

	YINNEQVRTARPPLEQQFNSTIRVVSTLPIAHQDW LRGKEFKCKVHNKALPAPIEKTISKARGQPLEPKVY TMGPPREELSSRSVSLTCMINGFYPSDISVEWEKN GKAEDNYKTTPAVLDSGYSFLYSKLSVPTSEWQR GDVFTCSVMHEALHNHYTQKSISRSPGK	
SEQ ID NO 2	MSTMRLTLALLFSCSVARAACDPKIVNIGAVLSTR KHEQMFR EAVNQANKRHGSKIQLNATSVTHKPN AIQMALSVCEDLISSQVYAILVSHPTPNDFHTPTPV SYTAGFYRIPVLGLTTRMSIYSDKSIHLSFLRTVPPY SHQSSVWFEMMRVYSWNHIILLVSDDEHGRAAQK RLETLLERESKAQKVLQFDPGKNTALLMEAKEL EARVILSASEDDAATVYRAAAMLNMTGSGYVWL GEREISGNALRYAPDGILGLQLINGKNESAHISDAV GVVAQAVHELLEKENITDPPRGCVGNTNIWKTGPL FKRVLMSKYADGVTGRVEFNEDGDRKFANYSIM NLQNRKLVQVGIYNGTHVIPNDRKIIWPGGETEKPR GYQMSTRKI	Amino terminal domain (ATD) of GluN1 including the signal sequence as in fusion protein #1
SEQ ID NO 3	GSSTMVRS	Linker between NMDAR domain and rabbit Fc to be used in fusion proteins of NMDAR protein constructs of the invention
SEQ ID NO 4	SKPTCPPPELLGGPSVFIFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSDDDPEVQFTWYINNEQVRTARPPLEQ QFNSTIRVVSTLPIAHQDWLRGKEFKCKVHNKALPA PIEKTISKARGQPLEPKVYTMGPPREELSSRSVSLT CMINGFYPSDISVEWEKNGKAEDNYKTTPAVLDS GSYFLYSKLSVPTSEWQRGDVFTCSVMHEALHNH YTQKSISRSPGK	Rabbit Fc from Vector pFuse-rlgG-Fc1 (InvivoGen) as used in fusion proteins #1-#8
SEQ ID NO 5	TLALLFSCSVARAACDPKIVNIGAVLSTRKHEQMFR EAVNQANKRHGSKIQLNATSVTHKPNAIQMALS VCEDLISSQVYAILVSHPTPNDFHTPTPVSYTAGFY RIPVLGLTTRMSIYSDKSIHLSFLRTVPPYSHQSSV WFEMMRVYSWNHIILLVSDDEHGRAAQKRLETLL ERESKAQKVLQFDPGKNTALLMEAKELEARVIL SASEDDAATVYRAAAMLNMTGSGYVWLGEREIS GNALRYAPDGILGLQLINGKNESAHISDAVGVVAQA VHELLEKENITDPPRGCVGNTNIWKTGPLFKRVL MSKYADGVTGRVEFNEDGDRKFANYSIMNLQNRK LVQVGIYNGTHVIPNDRKIIWPG	Amino terminal domain of GluN1 in NM_007327 with domain borders as in cd06379: PBP1_iGluR_NMDA_ NR1 (NCBI)

10

20

30

40

50

【表 1 - 3】

SEQ ID NO 6	MSTMRLTLALLFSCSVARAACDPKIVNIGAVLSTR KHEQMFREAVNQANKRHGSKIQLNATSVTHKPN AIQMALSVCEDLISSQVYAILVSHPTPNDFHTPTPV SYTAGFYRIPVLGLTTRMSIYSDKSIHLSFLRTVPPY SHQSSVWFEMMRVYSWNHILLVSDDEHGRAAQK RLETLLEERESKAQKVLQFDPGKNTALLMEAKEL EARVILSASEDDAATVYRAAAMLNMTGSGYVWL GEREISGNALRYAPDGILGLQLINGKNESAHS DAVGVAQAVHELLEKENITDPPRGCVGNTNIWKTGPL FKRVLMSKYADGVTGRVEFNEDGDRKFANYSIM NLQNRKLVQVGIYNGTHVIPNDRKIIWPGGETEKPR GYQMSTRLKIVTIHQEPFVYVKPTLSDGTCKEFTV NGDPVKKVICTGPNDTSPGSPRHTVPQCCYGF CIDLLIKLARTMNFTYEVHLVADGKFGTQERVN NSNKKEWNGMMGELLSGQADMIVAPLTINNE RAQYIEFSKPFKYQGLTILVKKGTRITGINDP RLRNPSDKFIYATVKQSSVDIYFRRQVELST MYRHMEKHNYESAEEAIQAVRDNKLHAFI WDSAVLEFEASQKCDLVTTGELFFRSGFGI GMRKDSPWKQNVLSILKSHENGFMEDLDK TWVRYQECDSGSSTMVRSSKPTCPPPELLG GPSVFIFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SQDDPEVQFTWYINNEQVRTARPLREQQFN STIRVSTLPIAHQDWLRGKEFKCKVHNKAL PAPIEKTISKARGQPLEPKVYTMGPPREEL SSRSVSLTCMINGFYPSDISVEWEKNGKA EDNYKTTPAVLSDGSYFLYSKLSVPTSEW QRGDVFTCSVMHEALHNHYTQKSISRSPGK	protein seq of fusion protein #2 N1ecd-Fc
SEQ ID NO 7	MSTMRLTLALLFSCSVARAACDPKIVNIGAVLSTR KHEQMFREAVNQANKRHGSKIQLNATSVTHKPN AIQMALSVCEDLISSQVYAILVSHPTPNDFHTPTPV SYTAGFYRIPVLGLTTRMSIYSDKSIHLSFLRTVPPY SHQSSVWFEMMRVYSWNHILLVSDDEHGRAAQK RLETLLEERESKAQKVLQFDPGKNTALLMEAKEL EARVILSASEDDAATVYRAAAMLNMTGSGYVWL GEREISGNALRYAPDGILGLQLINGKNESAHS DAVGVAQAVHELLEKENITDPPRGCVGNTNIWKTGPL FKRVLMSKYADGVTGRVEFNEDGDRKFANYSIM NLQNRKLVQVGIYNGTHVIPNDRKIIWPGGETEKPR GYQM	Amino terminal domain of GluN1 (including signal sequence) as included in fusion proteins #2, #4
SEQ ID NO 8	STRLKIVTIHQEPFVYVKPTLSDGTCKEFTVNGDP VKKVICTGPNDTSPGSPRHTVPQCCYGF CIDLLIKLARTMNFTYEVHLVADGKFGTQERVN NSNKKEWNG	Ligand-binding domain of GluN1 S1, as for example included in fusion proteins #2, #4; corresponds to Ligand- binding domain of GluN1 S1 in

10

20

30

40

50

【表 1 - 4】

	MMGELLSGQADMIVAPLTINNERAQYIEFSKPFKYQ GLTILVKK	NM_007327 with domain borders as in cd13719: PBP2_iGluR_NMDA_ Nr1 (NCBI);
SEQ ID NO 9	GT	Linker between S1 and S2, as for example included in fusion proteins #2, #3, #4
SEQ ID NO 10	RITGINDPRLRNPSDKFIYATVKQSSVDIYFRRQVEL STMYRHMEKHNYESAAEAIQAVRDNKLHAFIWDSA VLEFEASQKCDLVTGELFFRSGFGIGMRKDSPWK QNVSLSILKSHENGFMEDLDKTWVRYQECDS	Ligand-binding domain of GluN1 S2, as for example included in fusion proteins #2, #4
SEQ ID NO 11	RITGINDPRLRNPSDKFIYATVKQSSVDIYFRRQVEL STMYRHMEKHNYESAAEAIQAVRDNKLHAFIWDSA VLEFEASQKCDLVTGELFFRSGFGIGMRKDSPWK QNVSLSILKSHENGFMEDLDKTWVRYQECD	Ligand-binding domain of GluN1 S2 in NM_007327 with domain borders as in cd13719: PBP2_iGluR_NMDA_ Nr1 (NCBI)
SEQ ID NO 12	MKPRAECCSPKFWLVLAFLAVSGSRARSQKSPPSI GIAVILVGTSDEVAIKDAHEKDDFHLSVVRVELVA MNETDPKSIITRICDLMSDRKIQGVVFADDTQEAIA QILDFISAQTLTPILGIHGGSSMIMADKDESSMFFQF GPSIEQQASVMLNIMEEYDWYIFSIVTTYFPGYQDF VNKIRSTIENSFVGWELEEVLLDMSLDDGDSKIQN QLKKLQSPIILLYCTKEEATYIFEVANSVGLTGYGYT WVPSLVAGD TDTPAEFPTGLISVSYDEWDYGLP ARVRDGAITTAASDMLSEHSFIPEPKSSCYNTEK RIYQSNMLNRYLINVTFEGRNLSFSEDGYQMHPKL VIILLNKERKWERVKGWKDKSLQMKYYVWPRMCP ETEEQEDDHLISIVTLEEAPFVIVESVDPLSGTCMRN TVPCQKRIVTENKTDEEPGYIKKCKGFCIDILKKIS KSVKFTYDLYLVTNGKHGKKINGTWNGMIGEVVMK RAYMAVGSLTINEERSEVDFSVPIETGISVMVSR GTQVSGLSDKKFQRPND FSPFRFGTVPNGSTER NIRNNYAEMHAYMGKFNQRGVDDALLSLKTGKLDA FIYDAAVLNYMAGRDEGCKLVTIGSGKVFASTGYGI AIQKDSGWKRQVDLAILQLFGDGEMEELEALWLTG ICHNGSSTMVRSSKPTCPPPELLGGPSVFIFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSQDDPEVQFTWYINNEQ VRTARPLREQQFNSTIRVVSTLPIAHQDWLRGKE FKCKVHNKALPAPIEKTISKARGQPLEPKVYTMGPP REELSSRSVSLTCMINGFYPSDISVEWEKNGKAED NYKTTPAVLDSG SYFLYSKLSVPTSEWQRGDVFT CSVMHEALHNHYTQKSISRSPGK	protein seq of fusion protein #3 N2Becd-Fc

10

20

30

40

50

【表 1 - 5】

SEQ ID NO 13	MKPRAECCSPKFWLVAVLAVSGSRARSQKSPPSI GIAVILVGTSDEVAIKDAHEKDDFHHLSVVPRVELVA MNETDPKSIITRICDLMSDRKIQGVVFADDDQEAIA QILDFISAQTLTPILGIHGGSSMIMADKDESSMFFQF GPSIEQQASVMLNIMEEYDWYIFSIVTTYFPGYQDF VNKIRSTIENSFVGWELEEVLLDMSLDDGDSKIQN QLKKLQSPIILLYCTKEEATYIFEVANSVGLTGYGYT WIVPSLVAGD TDTPAEFPTGLISVS YDEWDYGLP ARVRDGAIIITTAASDMLSEHSFIPEPKSSCYN THEK RIYQSNMLNRYLINVTFEGRNLSFSEDGYQMHPKL VIILLNKERKWERVGVKWKDKSLQMKYYVWPRMCP ETEEQ	Amino terminal domain of GluN2B (including signal sequence), as for example included in fusion protein #3 N2Becd-Fc
SEQ ID NO 14	EDDHLISIVTLEEAPFVIVESVDPLSGTCMRNTVPCQ KRIVTENKTDEEPGYIKCKCKGFCIDILKKISKSVKFT YDLYLVTNGKHGKKINGTWNGMIGEVVMKRAYMA VGSLTINEERSEVVDFSVPFIETGISVMVSR	Ligand-binding domain of GluN2B S1, as for example included in fusion proteins #3, #4
SEQ ID NO 15	QVSGLSDDKKFQRPND FSPFRFGTVPNGSTERNIR NNYAEMHAYMGKFNQRGVDDALLSLKTGKLDAFIY DAAVLNYMAGRDEGCKLVTIGSGKVFAS TGYGIAIQ KDSGWKRQVDLAILQLFGDGEMEELEALWLTGICH N	Ligand-binding domain of GluN2B S2, as for example included in fusion proteins #3, #4
SEQ ID NO 16	PSIGIAVILVGTSDEVAIKDAHEKDDFHHLSVVPRVE LVAMNETDPKSIITRICDLMSDRKIQGVVFADDDQ EAIAQILDFISAQTLTPILGIHGGSSMIMADKDESSMF FQFGPSIEQQASVMLNIMEEYDWYIFSIVTTYFPGY QDFVNKIRSTIENSFVGWELEEVLLDMSLDDGDSK IQNQLKKLQSPIILLYCTKEEATYIFEVANSVGLTGY GYTWIVPSLVAGD TDTPAEFPTGLISVS YDEWDY GLPARVRDGAIIITTAASDMLSEHSFIPEPKSSCYN T HEKRIYQSNMLNRYLINVTFEGRNLSFSEDGYQMH PKLVIILLNKERKWERVGVKWKDKSLQMKYYVWPR	Amino terminal domain of GluN2B in NM_000834 with domain borders as in cd06378: PBP1_iGluR_NMDA_ NR2 (NCBI)
SEQ ID NO 17	DDHLISIVTLEEAPFVIVESVDPLSGTCMRNTVPCQK RIVTENKTDEEPGYIKCKCKGFCIDILKKISKSVKFTY DLYLVTNGKHGKKINGTWNGMIGEVVMKRAYMAV GSLTINEERSEVVDFSVPFIETGISVMVSR	Ligand-binding domain of GluN2B S1 in NM_000834 with domain borders as in cd13718: PBP2_iGluR_NMDA_ Nr2 (NCBI)
SEQ ID NO 18	RITGINDPRLRNPSDKFIYATVKQSSVDIYFRRQVEL STMYRHMEKHNYESAAEAIQAVRDNKLHAFIWDSA	Ligand-binding domain of GluN2B S2 in NM_000834 with domain borders as in cd13718:

10

20

30

40

50

【表 1 - 6】

	VLEFEASQKCDLVTTGELFFRSGFGIGMRKDSPWK QNVSLSILKSHENGFMEDLDKTWVRYQECD	PBP2_iGluR_NMDA_ Nr2 (NCBI)
SEQ ID NO 19	MSTMRLTLALLFSCSVARAACDPKIVNIGAVLSTR KHEQMFREAVNQANKRHGSWKIQLNATSVTHKPN AIQMALSVCEDLISSQVYAILVSHPTPNDFHTPTPV SYTAGFYRIPVLGLTTRMSIYSDKSIHLSFLRTVPPY SHQSSVWFEMMRVYSWNHILLVSDDHEGRAAQK RLETILLEERESKAEKVLQFDPGTKNVTALLMEAKEL EARVILSASEDDAATVYRAAAMLNMTGSGYVWL GEREISGNALRYAPDGILGLQLINGKNESAHSIDAV GVVAQAVHELLEKENITDPPRGCVGNTNIWKTGPL FKRVLMSISKYADGVTGRVEFNEDGDRKFANYSIM NLQNRKLVQVGIYNGTHVIPNDRKIIWPGGETEKPR GYQMSTRLKIVTIHQEPFVYVKPTLSDGTCKEFTV NGDPVKKVICTGPNDTSPGSPRHTVPQCCYGFCID LLIKLARTMNFTYEVHLVADGKFGTQERVNNSNKK EWNGMMGELLSGQADMIVAPLTINNERAQYIEFSK PFKYQGLTILVKKGTRITGINDPRLRNPSDKFIYATV KQSSVDIYFRRQVELSTMYRHMEKHNYESAEEAIQ AVRDNKLHAFIWDSAVLEFEASQKCDLVTTGELFF RSGFGIGMRKDSPWKQNVSLSILKSHENGFMEDLD KTWVRYQECDSGSTGGGGSGGGSGGGSGGAA SRQKSPPSIGIAVILVGTSDVAIKDAHEKDDFHLS VVPVELVAMNETDPKSIITRICDLMSTRKIQGVVFA DDTDQEAIAQILDFISAQTLTPILGIHGGSSMIMADK DESSMFFQFGPSIEQQASVMLNIMEEYDWYIFSIVT TYFPGYQDFVNKIRSTIENSFVGWELEEVLLDMSL DDGDSKIQNLKQLQSPIILLYCTKEEATYIFEVANS VGLTGYGYTWIVPSLVAGDTPVPAEFPTGLISVSY DEWDYGLPARVRDGAITTAASDMLSEHSFIPEPK SSCYNTHKRIYQSNMLNRYLINVTFEGRNLSFSED GYQMHPKLVIILLNKERKWERVGKWKDKSLQMKYY VWPRMCPETEEQEDDHLISIVTLEEAPFVIVESVDPL SGTCMRNTVPCQKRIVTENKTDEEPGYIKCKCKGF CIDILKKISKSVKFTYDLYLVTNGKHGKINGTWNG MIGEVVMKRAYMAVGSLTINEERSEVDFSVPIET GISVMVSRGTQVSGLSDKKFQRPNDFSPFRFGTV PNGSTERNIRNNYAEMHAYMGKFNQRGVDDALLS LKTGKLDAFIYDAAVLNYMAGRDEGCKLVTIGSGKV FASTGYGIAIQKDSGWKRQVDLAILQLFGDGEMEE LEALWLTGICHNGSSTMVRSSKPTCPPPELLGGPS VFIFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQDDPEVQF TWYINNEQVRTARPPLREQQFNSTIRVVSTLPIAHQ DWLRGKEFKCKVHNKALPAIEKTISKARGQPLEPK VYTMGPPREELSSRSVSLTCMINGFYPSDISVEWE	protein seq of fusion protein #4 N1ecd- N2Becd-Fc

10

20

30

40

50

【表 1 - 7】

	KNGKAEDNYKTTPAVLDSGGSYFLYSKLSVPTSEW QRGDVFTCSVMHEALHNHYTQKSISRSPGK	
SEQ ID NO 20	GSTGGGGSGGGGSGGGGSGAASR	Linker between a GluN1-domain and GluN2B-domain in a fusion protein of NMDAR construct of the invention, as for example in fusion protein #4 N1ecd- N2Becd-Fc or in fusion proteins #7, #8
SEQ ID NO 21	QKSPPSIGIAVILVGTSDDEVAIKDAHEKDDFHLSVV PRVELVAMNETDPKSIITRICDLMSDRKIQGVVFAD DTDQEAIQILDFISAQTLTPILGIHGGSSMIMADKD ESSMFFQFGPSIEQQASVMLNIMEEYDWYIFSIVTT YFPGYQDFVNKIRSTIENSFVGWELEEVLLLDMSLD DGDSKIQNQLKKLQSPIILLYCTKEEATYIFEVANSV GLTGYGYTWIVPSLVAGD TDVPAEFPTGLISVSYD EWDYGLPARVRDGIITTAASDMLSEHSFIPEPKSS CYNTHKRIYQSNMLNRYLINVTFEGRNLSFSEDG YQMHPKLVILLNKERKWERVGKWKDKSLQMKYYV WPRMCPETEEQ	Amino terminal domain of GluN2B
SEQ ID NO 22	MGRVGYWTLVLPALLVWRGPAPSAAAEKGPPAL NIAVMLGHSHDVTRELRTLWGPEQAAGLPDVNV VALLMNRTDPKSLITHVCDLMSGARIHGLVFGDDTD QEAVAQMLDFISSHTFVPILGIHGGASMMIMADKDPT STFFQFGASIQQATVMLKIMQDYDWHVFSLVTTIF PGYREFISFVKTTVDNSFVGWDMQNVITLDTSFED AKTQVQLKKIHSSVILLYCSKDEAVLILSEARSLGLT GYDFFWIVPSLVSGNTELPKEFPSGLISVSYDDWD YSLEARVRDGIGILTTAASSMLEKFSYIPEAKASCYQ QMERPEVPMHTLHPFMVNVTVWDGKDLSTEEGYQ VHPRLVVIVLNKDREWEKVGKWHNTLSLRHAWW PRYKSFSDCEPDDNHLSIGSSTMVRSSKPTCPPPE LLGGPSVFIFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQD DPEVQFTWYINNEQVRTARPLREQQFNSTIRVVS TLPIAHQDWLRGKEFKCKVHNKALPAPIEKTISKAR GQPLEPKVYTMGPPREELSSRSVSLTCMINGFYPS DISVEWEKNGKAEDNYKTTPAVLDSGGSYFLYSKLSVPTSEW QRGDVFTCSVMHEALHNHYTQKSISRSPGK	protein seq of fusion protein #5 N2A-ATD- Fc

10

20

30

40

50

【表 1 - 8】

SEQ ID NO 23	MGRVGWYWTLLVLPALLVWRGPAPSAAAEKGPPAL NIAVMLGHSVDTERELRTLWGPEQAAGLPLDVNV VALLMNRTDPKSLITHVCDLMSGARIHGLVFGDDTD QEAVAQMLDFISSHTFVPILGIHGGASMIMADKDPT STFFQFGASIQQQATVMLKIMQDYDWHVFSLVTTIF PGYREFISFVKTTVDNSFVGWDMQNVITLDTSFED AKTQVQLKKIHSSVILLYCSKDEAVLILSEARSLGLT GYDFFWIVPSLVSGNTELPKEFPSGLISVSYDDWD YSLEARVRDGIGILTTAASSMLEKFSYIPEAKASCYQ QMERPEVPMHTLHPFMVNVTDGKDLSTEEGYQ VHPRLVVIVLNKDREWEKVGKWNHTLSLRHAVV PRYKSFSDCEPDDNHLSI	Amino terminal domain of GluN2A (including signal sequence)
SEQ ID NO 24	PALNIAVMLGHSVDTERELRTLWGPEQAAGLPLD VNVVALLMNRTDPKSLITHVCDLMSGARIHGLVFGD DTDQEAVAQMLDFISSHTFVPILGIHGGASMIMADK DPTSTFFQFGASIQQQATVMLKIMQDYDWHVFSLV TTIFPGYREFISFVKTTVDNSFVGWDMQNVITLDT FEDAKTQVQLKKIHSSVILLYCSKDEAVLILSEARSL GLTGYDFFWIVPSLVSGNTELPKEFPSGLISVSYDD WDYSLEARVRDGIGILTTAASSMLEKFSYIPEAKAS CYGQMERPEVPMHTLHPFMVNVTDGKDLSTEE GYQVHPRLVVIVLNKDREWEKVGKWNHTLSLRH AVWPR	Amino terminal domain of GluN2A in NM_001134407 with domain borders as in cd06378: PBP1_iGluR_NMDA_ NR2 (NCBI)
SEQ ID NO 25	MKPRAECCSPKFWLVAVLAVSGSRARSQKSPPSI GIAVILVGTSDVAIKDAHEKDDFHLSVVPVELVA MNETDPKSIITRICDLMSDRKIQGVVFADDTQEAI QILDFISAQTLTPILGIHGGSSMIMADKDESSMFFQF GPSIEQQASVMLNIMEEYDWYIFSIVTTYFPGYQDF VNKIRSTIENSFVGWEEVLLDMSLDDGDSKIQN QLKKLQSPIILLYCTKEEATYIFEVANSVGLTGYGYT WIVPSLVAGD TDVPAEFPTGLISVSYDEWDYGLP ARVRDGI AITTAASDMLSEHSFIPEPKSSCYN THEK RIYQSNMLNRYLINVTFEGRNLSFSEDGYQMHPKL VIILLNKERKWERVGKWKDKSLQMKYYVWPRMCP ETEEQEDDHLSIGSSTMVRSSKPTCPPPELLGGPS VFIFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQDDPEVQF TWYINNEQVRTARPPLEQQFNSTIRVVSTLPIAHQ DWLRGKEFKCKVHNKALPAPIEKTISKARGQPLEPK VYTMGPPREELSSRSVSLTCMINGFYPSDISVEWE KNGKAEDNYKTPAVLSDSGSYFLYSKLSVPTSEW QRGDVFTCSVMHEALHNHYTQKSISRSPGK	protein seq of fusion protein #6 N2B-ATD- Fc

10

20

30

40

50

【表 1 - 9】

SEQ ID NO 26	MKPRAECCSPKFWLVLAFLAVSGSRARSQKSPPSI GIAVILVGTSDVAIKDAHEKDDFHLSVVPVELVA MNETDPKSIITRICDLMSDRKIQQGVVFADDDQEAIA QILDFISAQTLTPILGIHGGSSMIMADKDESSMFFQF GPSIEQQASVMLNIMEEYDWYIFSIVTTYFPGYQDF VNKIRSTIENSFVGWELEEVLLDMSLDDGDSKIQN QLKKLQSPIILLYCTKEEATYIFEVANSVGLTGYGYT WIVPSLVAGD TDTPAEFPTGLISVSYDEWDYGLP ARVRDGI AITTAASDMLSEHSFIPEPKSSCYN THEK RIYQSNMLNRYLINVTFEGRNLSFSEDGYQMHPKL VIILLNKERKWERVGKWKDKSLQMKYVWPRMCP ETEEQEDDHLSI	Amino terminal domain of GluN2B (including signal sequence)
SEQ ID NO 27	MSTMRLTLALLFSCSVARAACDPKIVNIGAVLSTR KHEQMFR EAVNQANKRHGSKWIKLNATSVTHKPN AIQMALSVCEDLISSQVYAILVSHPPTPNDHFTPTPV SYTAGFYRIPVLGLTTRMSIYSDKSIHLSFLRTVPPY SHQSSVWFEMMRVYSWNHILLVSDDEHGRAAQK RLETLL EERESKA EKVLQFDPGTKNVTALLMEAKEL EARVILSASEDDAATVYRAAAMLNMTGSGYVWL GEREISGNALRYAPDGILGLQLINGKNESAHS DAVGVAQAVHELLEKENITDPPRGCVGNTNIWKTGPL FKRVLMSKYADGVTGRVEFNEDGDRKFANYSIM NLQNRKLVQVGIYNGTHVIPNDRKIIWPGGETEKPR GYQMSTRLKIGSTGGGGSGGGSGGGSGGAASR EKGPPALNIAVMLGSHSDVTERELRTLWGPEQAAG LPLDVNVALLMNRTDPKSLITHVCDLMSGARIHGL VFGDDTDQEAVAQMLDFISSHTFVPILGIHGGASMI MADKDPTSTFFQFGASIQQATVMLKIMQDYDWH VFLSVTTIFPGYREFISFVKTVDNSFVGWDMQNV ITLDTSFEDAKTQVQLKKIHSSVILLYCSKDEAVLILS EARSGLTG YDFFWIVPSLVSGNTELPKEFP SGLIS VSYDDWDYSL EAVRVDGIGILTTAASSMLEKFSYIP EAKASCYQMERPEVPMHTLHPFMVNVTDGKD LSFTEEGYQVHPRLWIVLNKDREWEKVGKWHNT LSLRHAVWPRYKSFSDCEPDDNHL SIGSSTMVRSS KPTCPPPELLGGPSVFIFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSQDDPEVQFTWYINNEQVRTARPPLEQQ FNSTIRVVSTLPIAHQDWLRGKEFKCKVHNKALPAP IEKTISKARGQPLEPKVYTMGPPREELSSRSVSLTC MINGFYPSDISVEWEKNGKAEDNYKTTPAVLDSG SYFLYSKLSVPTSEWQRGDVFTCSVMHEALHNHY TQKSISRSPGK	protein seq of fusion protein #7 N1-ATD- N2A-ATD-Fc

10

20

30

40

50

【表 1 - 10】

SEQ ID NO 28	MSTMRLTLALLFSCSVARAACDPKIVNIGAVLSTR KHEQMFREAVNQANKRHGSKWIKLNATSVTHKPN AIQMALSVCEDLISSQVYAILVSHPPTPNDHFTPTPV SYTAGFYRIPVLGLTTRMSIYSDKSIHLSFLRTVPPY SHQSSVWFEMMRVYSWNHIILLVSDDEHGRAAQK RLETLLERESKAIEKVLQFDPGKNTALLMEAKEL EARVILSASEDDAATVYRAAAMLNMTGSGYVWL GEREISGNALRYAPDGILGLQLINGKNESAHISDAV GVVAQAVHELLEKENITDPPRGCVGNTNIWKTGPL FKRVLMSKYADGVTGRVEFNEDGDRKFANYSIM NLQNRKLVQVGIYNGTHVIPNDRKIIWPGGETEKPR GYQMSTRLKI	Amino terminal domain of GluN1 (including signal sequence) as for example used in fusion protein #7
SEQ ID NO 29	EKGPPALNIAVMLGSHSDVTERELRTLWGPEQAAG LPLDVNVVALLMNRTDPKSLITHVCDLMSGARIHGL VFGDDTDQEAVAQMLDFISSHTFVPILGIHGGASMI MADKDPTSTFFQFGASIQQQATVMLKIMQDYDWH VFSLVTTIFPGYREFISFVKTTVDNSFVGWDMQNV TLDTSFEDAKTQVQLKKIHSSVILLYCSKDEAVLILS EARSGLTG YDFFWIVPSLVSGNTELPKEFPSSLIS VSYDDWDYSLEARVRDGIGILTAAASSMLEKFSYIP EAKASCYQGMRPEVPMHTLHPFMVNVTDGKD LSFTEEGYQVHPRLVIVLNKDREWEKVGKWHNT LSLRHAVWPRYKSFSDCEPDDNHLI	Amino terminal domain of GluN2A as for example used in fusion protein #7
SEQ ID NO 30	MSTMRLTLALLFSCSVARAACDPKIVNIGAVLSTR KHEQMFREAVNQANKRHGSKWIKLNATSVTHKPN AIQMALSVCEDLISSQVYAILVSHPPTPNDHFTPTPV SYTAGFYRIPVLGLTTRMSIYSDKSIHLSFLRTVPPY SHQSSVWFEMMRVYSWNHIILLVSDDEHGRAAQK RLETLLERESKAIEKVLQFDPGKNTALLMEAKEL EARVILSASEDDAATVYRAAAMLNMTGSGYVWL GEREISGNALRYAPDGILGLQLINGKNESAHISDAV GVVAQAVHELLEKENITDPPRGCVGNTNIWKTGPL FKRVLMSKYADGVTGRVEFNEDGDRKFANYSIM NLQNRKLVQVGIYNGTHVIPNDRKIIWPGGETEKPR GYQMSTRLKIGSTGGGGSGGGSGGGSGGAASR QKSPPSIGIAVILVGTSDVAIKDAHEKDDFHLSV PRVELVAMNETDPKSIITRICDLMSDRKIQGVVFAD DTDQEAIAQILDFISAQTLTPILGIHGGSSMIMADKD ESSMFFQFGPSIEQQASVMLNIMEEYDWWYIFSIVTT YFPGYQDFVNKIRSTIENSFVGWELEEVLLDMSLD DGDSKIQNQLKKLQSPIILLYCTKEEATYIFEVANSV GLTGYGTWIVPSLVAGDTDTPAEFPTGLISVSYD EWDYGLPARVRDGAIIITAASDMLSEHSFIPEPKSS	protein seq of fusion protein #8 N1-ATD- N2B-ATD-Fc

10

20

30

40

50

【表 1 - 1 1】

	CYNTHKRIYQSNMLNRYLINVTFEGRNLSFSEDG YQMHPKLVIIILNKERKWERVVGKWKDKSLQMKYYV WPRMCPETEEQEDDHLSIGSSTMVRSSKPTCPPP ELLGGPSVFIFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQ DDPEVQFTWYINNEQVRTARPPLREQQFNSTIRVV STLPIAHQDWLRGKEFKCKVHNKALPAIEKTISKA RGQPLEPKVYTMGPPREELSSRSVSLTCMINGFYP SDISVEWEKNGKAEDNYKTTPAVLDSGSGSYFLYSK LSVPTSEWQRGDVFTCSVMHEALHNHYTQKSISR PGK	
SEQ ID NO 31	MSTMRLTLALLFSCSVARAACDPKIVNIGAVLSTR KHEQMFRFQAVNQANKRHGSKWIKLNATSVTHKPN AIQMALSVCEDLISSQVYAILVSHPTPTNDHFTPTPV SYTAGFYRIPVLGLTTRMSIYSDKSIHLSFLRTVPPY SHQSSVWFEMMRVYSWNHIIILLVSDDEHGRAAQK RLETLLERESKAQKVLQFDPGKNTVALLMEAKEL EARVILSASEDDAATVYRAAAMLNMTGSGYVWL GEREISGNALRYAPDGLGLQLINGKNESAHISDAV GVVAQAVHELLENITDPPRGCVGNTNIWKTGPL FKRVLMSKYADGVTGRVEFNEDGDRKFANYSIM NLQNRKLVQVGIYNGTHVIPNDRKIIVPGGETEKPR GYQMSTRKI	Amino terminal domain of GluN1 (including signal sequence) as used for example in fusion protein #8
SEQ ID NO 32	QKSPPSIGIAVILVGTSDVAIKDAHEKDDFHLSV PRVELVAMNETDPKSIITRICDLMSDRKIQGVVFAD DTDQEAIAQILDFISAQTLTPILGIHGGSSMIMADKD ESSMFFQFGPSIEQQASVMLNIMEEYDWYIFSIVTT YFPGYQDFVNKIRSTIENSFVGWELEEVLLDMSLD DGDSKIQNQLKKLQSPIILLYCTKEEATYIFEVANSV GLTGYGYTWIVPSLVAGDTDTPAEFPTGLISVS EWDYGLPARVRDGIATTAASDMLSEHSFIPEPKSS CYNTHKRIYQSNMLNRYLINVTFEGRNLSFSEDG YQMHPKLVIIILNKERKWERVVGKWKDKSLQMKYYV WPRMCPETEEQEDDHLSI	Amino terminal domain of GluN2B as for example used in fusion protein #8
SEQ ID NO 33	MGGALGPALLTSLFGAWAGLGPQGGEQGMTVAV VFSSSGPPQAQFRARLTPQSFLDLPLEIQPLTVGVN TTNPSSLLTQICGLLGAHVHGVIFEDNVDEAVAQI LDFISSQTHVPILSISGGSVVLTPEPGSAFLQLGV SLEQQLQVLFKVL EEYDWSAFVITSLHPGHALFLE GVRAVADASHVSWRLLDVVTLELPGGGPRARTQR LLRQLDAPVFVAYCSREEAEVLF AEAAQAGLVGPG HWWLVPNLALGSTDAPPATFPVGLISVVTESWRLSL RQKVRDGVAILALGAHSYWRQHGTLPAPAGDCRV	Human GluN2C NM_000835

10

20

30

40

50

【表 1 - 1 2】

	HPGPVSPAREAFYRHLLNVTWEGRDFSFSPPGGYL VQPTMVVIALNRHRLWEMVGRWEHGVLYMKYPV WPRYSASLQPVVDSRHLTVATLEERPFIIVIVESPDP GTGGCVPNTVPCRRQSNHTFSSGDVAPYTKLCCK GFCIDILKKLARVVKFSYDLYLVNTNGKHGKRVGRV WNGMIGEVYKVRADMAIGSLTINEERSEIVDFSVPF VETGISVMVARSNGTVSPSAFLEPYSPAVWMMFV MCLTVVAITVFMFEYFSPVSYNQNLTRGKKS GGPA FTIGKSVWLLWALVFNNVPIENPRGTTSKIMVLVW AFFAVIFLASYTANLAAFMIQEYIDTVSGLSDKKFQ RPQDQYPPFRFGTVPNGSTERNIRSNYRDMHTHM VKFNQRSVEDALTSKMGKLDAFIYDAVLNYMAG KDEGCKLVTIGSGKVFATTGYGAMQKDSHWKRAI DLALLQFLGDGETQKLETVWLSGICQNEKNEVMSS KLDIDNMAGVFYMLLVAMGLALLVFAWEHLVYWK RHSVPNSSQLDFLLAFSRGIYSCFSGVQSLASPPR QASPDLTASSAQASVLKMLQAARDMVTAGVSSSL DRATRTIENWGGRRAPPPSPCPTPRSGPSPCLP TPDPPPEPSPTGWGPPDGGRAALVRRAPQPPGRP PTPGPPLSDVSRVSRRPAWEARWPVRTGHCGRH LSASERPLSPARCHYSSFPRAADRSGRPFLPLFPEL EDLPLLGPQLARREALHAAWARGSRPRHASLPS SVAEAFARPSSLPAGCTGPACARPDGHSACRRLA QAQSMCLPIYREACQEGEQAGAPAWQHRQHVC LHAHAHLPCFWGAVCPHLPACASHGWSWLSGAWGP LGHRGRTLGLGTGYRDSGGLDEISRVARGTQGFP GPCTWRRISSESEV	
SEQ ID NO 34	QGMTVAVVFSSSGPPQAQFRARLTPQSFLDPLEI QPLTVGVNTTNPSSLLTQICGLLGAHVHGVFEDN VDTEAVAQILDFISSQTHVPILSISGGSAAVLT PKEPGSAFLQLGVSLQQLQVLFKVL EEDWSAFAVITSL HPGHALFLEGVRAVADASHVSWRLLDVVTLELGP GPRARTQRLLRQLDAPVFVAYCSREEAEVLF AEAQAAGLVGPGHVWLVPNLALGSTDAPPATFPV GLISVVTESWRLSLRQKVRDGVAILALGAHSYWR QHGTLPAPAGDCRVHPGPVSPAREAFYRHLLNVT WEGRDFSFSPPGGYLQPTMVVIALNRHRLWEMVGR WEHGVLYMKYPVWPR	GluN2C ATD
SEQ ID NO 35	SRHLTVATLEERPFIIVIVESPDPGTGGCVPNTVPC RRQSNHTFSSGDVAPYTKLCCKGFCIDILKKLARVVK FSYDLYLVNTNGKHGKRVGRVWNGMIGEVYKVRAD MAIGSLTINEERSEIVDFSVPFVETGISVMVAR	GluN2C S1

10

20

30

40

50

【表 1 - 13】

SEQ ID NO 36	TVSGLSDKKFQRPQDQYPPFRFGTVPNGSTERNIR SNYRDMHMHVMKFNQRSVEDALTSKMGKLDAFIY DAAVLNYMAGKDEGCKLVTIGSGKVFATTGYGIAM QKDSHWKRAIDLALLQFLGDGETQKLETVWLSGIC QN	GluN2C S2
SEQ ID NO 37	MGGALGPALLTSLFGAWAGLPGQGEEQGMTVAV VFSSSGPPQAQFRARLTPQSFLDLPLEIQPLTVGVN TTNPSSLLTQICGLLGAHVHGVFEDNVDTEAVAQI LDFISSQTHVPILSISGGSAAVLTTPKEPGSAFLQLGV SLEQQQLQVLFKVLVEEYDWSAFVITSLHPGHALFLE GVRVADASHVSWRLLDVVTLELPGGGPRARTQR LLRQLDAPVFVAYCSREEAEVLFAEAAQAGLVGPG HVWLVPNLALGSTDAPPATFPVGLISVVTESWRLSL RQKVRDGVAILALGAHSYWRQHGTLPAPAGDCRV HPGPVSPAREAFYRHLLNVTWEGRDFSFSPPGGYL VQPTMVVIALNRHRLWEMVGRWEHGVLYMKYPV WPRYSASLQPVVDSRHLTVATLEERPFVIVESPDP GTGGCVPNTVPCRRQSNHTFSSGDVAPYTKLCK GFCIDILKKLARVVKFSYDLYLVNKGKHGKRVGRV WNGMIGEYVYKRAMAIGSLTINEERSEIVDFSVPF VETGISVMVARGTTVSGLSDKKFQRPQDQYPPFRF GTVPNGSTERNIRSNYRDMHMHVMKFNQRSVEDA LTSKMGKLDAFIYDAAVLNYMAGKDEGCKLVTIGS GKVFATTGYGIAMQKDSHWKRAIDLALLQFLGDGE TQKLETVWLSGICQN	GluN2C ecd incl. signal sequence and GT-linker between S1 and S2
SEQ ID NO 38	MRGAGGPRGPRGPAKMLLLALACASPFPEEAPG PGGAGGPGGGLGGARPLNVALVFSGPAYAAEAAR LGPAAAAVRSPGLDVRPVALVLNGSDPRSLVLQL CDLLSGLRVHGVVFEDDSRAPAVAPILDFLSAQTS PIVAVHGGAAALVLTPEKEGSTFLQLGSSTEQQQLQVI FEVLEEYDWTFSFVAVTTTRAPGHRAFLSYIEVLTGDS LVGWEHRGALTLDPGAGEAVLSAQLRSVSAQIRLL FCAREEAEPVFRAAEEAGLTGSGYVWFVMPQLA GGGGSGAPGEPPLPGGAPLPAGLFAVRSAGWRD DLARRVAAGVAVVARGAQALLRDYGFLELGHDC RAQNRTHRGESLHRYFMNITWDNRDYSFNEDGFL VNPSLVVISLTRDRTWEVVGSWEQQLRLKYPLWS RYGRFLQPVDDTQHLTVATLEERPFVIVEPADPISG TCIRDSVPCRSQNLNRTHSPPDAPRPEKRCCKGFC IDILKRLAHTIGFSYDLYLVNKGKHGKIDGVWNGMI GEVYQRADMAIGSLTINEERSEIVDFSVPFVETGIS VMVARSNGTVSPSAFLEPYSPAVWMMFVMCLTV VAVTVFIFEYLSVPGYNRSLATGKRPGGSTFTIGKSI	Human GluN2D NP_000827 (protein)

10

20

30

40

50

【表 1 - 1 4】

	WLLWALVFNNVPVENPRGTTSKIMVLVWAFFAVI FLASYTANLAAFMIQEEYVDTVSGLSDRKFQRPQE QYPPLKFGTVPNGSTEKNIRSNYPDMHSYMVRYN QPRVEEALTQLKAGKLDAFIYDAAVLNYMARKDEG CKLVTIGSGKVFAATTGYGIALHKGSRWKRPIDLALL QFLGDDEIEMLERLWLSGICHNDKIEVMSSKLDIDN MAGVFYMLLVAMGLSLLVFAWEHLVYWRLRHCLG PTHRMDFLAFAFRGMYSCCSAEAAPPAKPPPPP QPLPSPAYPAPRPAPGPAPFVPRERASVDRWRRT KGAGPPGGAGLADGFHRYYGPIEPQGLGLGLGEA RAAPRGAAGRPLSPAAQPPQKPPPSYFAIVRDKE PAEPPAGAFPGFSPPPAPPAATAVGPPLCRLAF EDESPPAPARWPRSDPESQPLLGPAGGAGGTG GAGGGAPAAPPPCRAAPPPCPYLDLESPSDSED SESLGGASLGGLEPWWFADFPYPAERLGPPPGR YWSVDKLGGRAGSWDYLPPRSGPAAWHCRHC ASLELLPPPRHLSCSHDGLDGGWWAPPPPPWAAG PLPRRRARCGCPRSHPRPRASHRTPAAAAPHHH RHRAAGGWDLPPAPTSTRSLEDLSSCPRAAPAR RLTGPSRHARRCPHAAHWGPPLPTASHRRHRGG DLGTRRGS AHFSSLESEV	
SEQ ID NO 39	MRGAGGPRGPRGPAKMLLLALACASPFEEAPG PGGAGGPGGGLGGARPLNVALVFSGPAYAAEAAR LGPAAAAVRSPGLDVRPVALVLNGSDPRSLVLQL CDLLSGLRVHGVVFEDDSRAPAVAPILDFLSAQTS PIVAVHGGAAALVLTPEKEGSTFLQLGSSTEQLQVI FEVLEEYDWTSTFVAVTTRAPGHRAFLSYIEVLTGDS LVGWEHRGALTDPGAGEAVLSAQLRSVSAQIRLL FCAREEAEPVFRAAEEAGLTGSGYVWFMVGPQLA GGGGSGAPGEPPLPGGAPLPAGLFAVRSAGWRD DLARRVAAGVAVVARGAQALLRDYGFLELGHDC RAQNRTHRGESLHRYFMNITWDNRDYSFNEDGFL VNPSLVVISLTRDRTWEVVGSWEQQLRLKYPLWS RYGRFLQPVDQTQHLTVATLEERPFVIVEPADPISG TCIRDSVPCRSQLNRTHSPPPDAPRPEKRCCKGFC IDILKRLAHTIGFSYDLYLVTNGKHGKKIDGVWNGMI GEVIFYQRADMAIGSLTINEERSEIVDFSVPFVETGIS VMVARSNGTVSPSAFLEPYSPAVWMMFVMCLTV VAVTVFIFEYLSVGYNRSLATGKRPGGSTFTIGKSI WLLWALVFNNVPVENPRGTTSKIMVLVWAFFAVI FLASYTANLAAFMIQEEYVDTVSGLSDRKFQRPQE QYPPLKFGTVPNGSTEKNIRSNYPDMHSYMVRYN QPRVEEALTQLKAGKLDAFIYDAAVLNYMARKDEG CKLVTIGSGKVFAATTGYGIALHKGSRWKRPIDLALL QFLGDDEIEMLERLWLSGICHNDKIEVMSSKLDIDN	Human GluN2D Protein seq U77783

10

20

30

40

50

【表 1 - 15】

	MAGVFYMLLVAMGLSLLVFAWEHLVYWRLRHCLG PTHRMDFLAFSRGMYSCCSAEAAPPAKPPPP QPLSPAYPAPGPAPGPAPFVPRERASVDRWRRT KGAGPPGGAGLADGFHRYYGPIEPQGLGLGLEA RAAPRGAAGRPLSPAAQPPQKPPASYFAIVRDKE PAEPPAGAFPGFSPPPAPAAAATAVGPPLCRLAF EDESPPAPARWPRSDPESQPLLGPAGGAGGTG GAGGGAPAAPPPCCAAPPPCPYLDLESPSDSED SESLGGASLGGLDPWWFADFPYPAERLGPPPGR YWSVDKLGGRAGSWDYLPFRSGPAAWHCRHC ASLELLPPPRHLSCSHDGLDGGWWAPPPPPWAAG PLPRRRARCGCPRSHPHRPRASHRTAAAAAPHHH RHRAAGGWDLPPAPTSTRSLEDLSSCPRAAPAR RLTGPSRHARRCPHAAHWGPPLPTASHRRHRGG DLGTRRGS AHFSSLESEV	
SEQ ID NO 40	RPLNVALVFSGPAYAAEAARLGPAAAAVRSPGLD VRPVALVLNGSDPRSLVLQLCDLLSGLRVHGVVFE DDSRAPAVAPILDFLSAQTSLPIVAVHGGAAALVLT KEKGSTFLQLGSSTEQQLQVIFEVLEEYDWTFSVA VTTRAPGHRAFLSYIEVLTGSLVGWEHRGALTLD PGAGEAVLSAQLRSVSAQIRLLFCAREEAEPVFRA AEEAGLTGSGYVWMVGPQLAGGGGSGAPGEPP LLPGGAPLPAGLFAVRSAGWRDDLARRVAAGVAV VARGAQALLRDYGFPELGHDCRAQNRTHRGESL HRYFMNITWDNRDYSFNEDGFLVNPVLVVISLTRD RTWEVVGSWEQQLRLKYPLWSR	GluN2D ATD
SEQ ID NO 41	TQHLTVATLEERPFIIVEPADPISGTCIRDSVPCRS QLNRTHSPPPDAPRPEKRCCKGFCIDILKRLAHTIG FSYDLYLVNKGKHGKKIDGVWNGMIGEVFYQRAD MAIGSLTINEERSEIVDFSVPFVETGISVMVAR	GluN2D S1
SEQ ID NO 42	TVSGLSDRKFRPQEQYPLKFGTVPNGSTEKNIR SNYPDMHSYMVRYNQPRVEEALTQLKAGKLDAFIY DAAVLNYMARKDEGCKLVTIGSGKVFATTGYGIALH KGSRWKRPIDLALLQLGDDIEMLERLWLSGICHN	GluN2D S2
SEQ ID NO 43	MRGAGGPRGPRGPAKMLLLLALACASPFEEAPG PGGAGGPGGLGGARPLNVALVFSGPAYAAEAAR LGPAAAAVRSPGLDVRPVALVLNGSDPRSLVLQL CDLLSGLRVHGVVFEEDSRAPAVAPILDFLSAQTSL PIVAVHGGAAALVLTPEKEGSTFLQLGSSTEQQLQVI FEVLEEYDWTFSVAVTTRAPGHRAFLSYIEVLTGDS LVGWEHRGALTLDPGAGEAVLSAQLRSVSAQIRLL	GluN2D ecd incl. signal sequence and GT-linker between S1 and S2

10

20

30

40

50

【表 1 - 1 6】

	FCAREEAEPVFRAAEEAGLTGSGYVWFMVGPQLA GGGGSGAPGEPPLPGGAPLPAGLFAVRSAGWRD DLARRVAAGVAVVARGAQALLRDYGFLELGHDC RAQNRTHRGESLHRYFMNITWDNRDYSFNEDGFL VNPSLVVISLTRDRTWEVVGSEQQTLRLKYPLWS RYGRFLQPVDDTQHLLTVATLEERPFVIVEPADPISG TCIRDSVPCRSQNLNRTHSPPPDAPRPEKRCCKGFC IDILKRLAHTIGFSYDLYLVNKGKHGKKIDGVWNGMI GEVYQRADMAIGSLTINEERSEIVDFSVPFVETGIS VMVARGTTVSGLSDRKFQRPQEQYPLKFGTVPN GSTEKNIRSNNYPMHSMVRYNQPRVEEALTQLKA GKLDAFIYDAAVLNYMARKDEGCKLVTIGSGKV FAT TGYGIALHKGSRWKRPIDLALLQFLGDDEIEMLERL WLSGICHN	
SEQ ID NO 44	MGRVGYWTLVLPALLVWRGPAPSAAAEKGPPAL NIAVMLGHSHDVTRELRTLWGPEQAAGLPDENV VALLMNRTDPKSLITHVCDLMSGARIHGLVFGDDTD QEAVAQMLDFISSHTFVPILGIHGGASMIMADKDPT STFFQFGASIQQA TVMLKIMQDYDWHVFSLVTTIF PGYREFISFVKTTVDNSFVGWDMQNVITLDTSFED AKTQVQLKKIHSSVILLYCSKDEAVLILSEARSLGLT GYDFFWIVPSLVSGNTELPKEFPSGLISVSYDDWD YSLEARVRDGIGILTTAASSMLEKFSYIPEAKASCY QMERPEVPMHTLHPFMVNVTWGKDLSFTEEGYQ VHPRLVVIVLNKDREWEKVGKWHNTLSLRHAVW PRYKSFSDCEPDDNHSIVTLEEAPFVIVEDIDPLTE TCVRNTVPCRKFVKINNSTNEGMNVKKCKGFCIDI LKKLSRTVKFTYDLYLVNKGKHGKKVNNVWNGMIG EVVYQRAVMAVGSLTINEERSEVDFSVPFVETGIS VMVSRNGTVSPSAFLEPFASVWMMFVMLLIVS AIAVFVFEYFSPVGYNRNLAKGKAPHGPSFTIGKAI WLLWGLVFNNVSVQNPKGTTSKIMVSWAFFAVI FLASYTANLAAFMIEEFVDQVTGLSDKKFQRPHD YSPPFRTGTVPNGSTERNIRNNYPYMHQYMTKFN QKGVEDALVSLKTGKLDAFIYDAAVLNYKAGRDEG CKLVTIGSGYIFATTGYGIALQKGGSPWKRQIDLALLQ FVG DGEMEELETWLTGICHNEKNEVMSSQLDIDN MAGVFYMLAAAMALSLITFIWEHLFYWKLRFCTGV CSDRPGLLFSISRGYSCIHGVIIEKKKSPDFNLTG SQSNMLKLLRSKNISSMSNMNSSRMDSPKRAAD FIQRGSLIMDMVSDKGNLMSDNRSFQGESIFGD NMNELQTFVANRQKDNLNYYVFQGGHPLTLNESN PNTVEAVSTESKANSRPRQLWKKSVDSIRQDSLS QNPVSQRDEATAENRTHSLKSPRYLPEEMAHSDIS ETSNRATCHREPDNSKNHKTCDNFKRSVASKYPK	Human GluN2A NM_001134407

10

20

30

40

50

【表 1 - 1 7】

	DCSEVERTYLKTKSSSPRDKIYTIDGEEKPGFHLDP PQFVENVTLPENVDFPDYPQDPSENFRKGDSTLP MNRNPLHNEEGLSNNDQYKLYSKHFTLKDKGSPH SETSERYRQNSTHCRSCLSNMPTYSGHFTMRSPF KCDACLRMGNLYDIDEDQMLQETGNPATGEQVYQ QDWAQNNALQLQKNKLRIHQHSYDNIVDKPRELD LSRPSRSISLKDRERLLEGNFYGSLSVPSSKLSGK KSSLFPQGLEDKRSKSLLPDHTSDNPFLHSHRDD QRLVIGRCPSDPYKHSLSQAVNDSYLRSSLRSTA SYCSRDSRGHNDVYISEHVMPYAANKNNMYSTPR VLNSCSNRRVYKMPSESVDV	
SEQ ID NO 45	DNHLSIVTLEEAPFVIVEDIDPLTETCVRNTVPCRKF VKINNSTNEGMNVKKCKCGFCIDILKLSRTVKFTY DLYLVTNGKHGKKVNNVWNGMIGEVVYQRAVMAV GSLTINEERSEVDFSVPFVETGISVMVSR	GluN2A S1
SEQ ID NO 46	QVTGLSDKKFQRPHDYSPFRFGTVPNGSTERNIR NNYPYMHQYMTKFNQKGVEDALVSLKTGKLDAFIY DAAVLNYKAGRDEGCKLVTIGSGYIFATTGYGIALQ KGSPWKRQIDLALLQFVG DGEMEELETWLTGICH N	GluN2A S2
SEQ ID NO 47	MGRVGWYWTLLVLPALLVWRGPAPSAAAEKGPAL NIAVMLGSHSDVTERELRTLWGPEQAAGLPLDVNV VALLMNRTPKSLITHVCDLMSGARIHGLVFGDDTD QEAVAQMLDFISSHTFVPILGIHGGASMIMADKDPT STFFQFGASIQQATVMLKIMQDYDWHVFSLVTTIF PGYREFISFVKTTVDNSFVGWDMQNVITLDTSFED AKTQVQLKKIHSSVILLYCSKDEAVLILSEARSLGLT GYDFFWVPSLVSGNTELPKEFPSGLISVSYYDDWD YSLEARVRDGIGILTTAASSMLEKFSYIPEAKASCYQ QMERPEVPMHTLHPFMVNVTVWDGKDLSTEEGYQ VHPRLVVIVLNKDREWEKVGKWHNHTLSLRHAAVW PRYKSFSDCEPDDNHLSIVTLEEAPFVIVEDIDPLTE TCVRNTVPCRKFVKINNSTNEGMNVKKCKCGFCIDI LKLSRTVKFTYDLYLVTNGKHGKKVNNVWNGMIG EVVYQRAVMAVGSLTINEERSEVDFSVPFVETGIS VMVSRGTQVTGLSDKKFQRPHDYSPFRFGTVPN GSTERNIRNNYPYMHQYMTKFNQKGVEDALVSLKT GKLDAFIYDAAVLNYKAGRDEGCKLVTIGSGYIFAT TGYGIALQKGSPWKRQIDLALLQFVG DGEMEELET LWLTGICHN	GluN2A ecd incl. signal sequence and GT-linker between S1 and S2

10

20

30

40

50

【表 1 - 18】

SEQ ID NO 48	MKPRAECCSPKFWLVLAFLAVSGSRARSQKSPPSI GIAVILVGTSDVAIKDAHEKDDFHHLVSVPRVELVA MNETDPKSIITRICDLMSDRKIQGVVFADDDQEAIA QILDFISAQTLTPILGIHGGSSMIMADKDESSMFFQF GPSIEQQASVMLNIMEEYDWYIFSIVTTYFPGYQDF VNKIRSTIENSFVGWELEEVLLLDMSLDDGDSKIQN QLKQLQSPIILLYCTKEEATYIFEVANSVGLTGYGYT WIVPSLVAGDTDTPAEFPTGLISVSYDEWDYGLP ARVRDGAIIITTAASDMLSEHSFIPEPKSSCYNTHK RIYQSNMLNRYLINVTFEGRNLSFSEDGYQMHPKL VIILLNKERKWERVGKWKDKSLQMKYYVWPRMCP ETEEQEDDHLISIVTLEEAPFVIVESVDPLSGTCMRN TVPCQKRIVTENKTDEEPGYIKKCKGFCIDILKKIS KSVKFTYDLYLVTNGKHGKKINGTWNGMIGEVVMK RAYMAVGSLTINEERSEVVDVSVPIETGISVMVSR SNGTVSPSAFLEPFSADVWMMFMVLLIVSAVAVF VFEYFSPVGYNRCLADGREPGGPSFTIGKAIWLLW GLVFNNVSPVQNPKGTTSKIMVSVWAFFAVIFLAS TANLAAFMIQEEYVDQVSGLSKKFQRPNDSPPF RFGTVPNGSTERNIRNNYAEMHAYMGKFNQRGVD DALLSLKTGKLDAFIYDAVLNYMAGRDEGCKLVTI GSGKVFASTGYGIAIQKDSGWKRQVDLAILQLFGD GEMEELEALWLTGICHNEKNEVMSSQLDIDNMAGV FYMLGAAMALSLITFICEHLFYWQFRHCFMGVCSG KPGMVFSISRGYSCIHGVAIEERQSVMNSTATMN NTHSNILRLLRTAKNMANLSGVNGSPQSALDFIRRE SSVYDISEHRRSFTHSDCKSYNNPPCEENLFSYIS EVERTFGNLQLKDSNVYQDHYHHHHRPHSIGSASS IDGLYDCDNPPFTTQSRISKKPLDIGLPSSKHSQ SDLYGKFSFKSDRYSGHDDLIRSDVSDISTHTVTY NIEGNAAKRRKQYKDSLKKRPASAKSRREFDEIE LAYRRRPPRSPDHKRYFRDKEGLRDFYLDQFRTKE NSPHWEHVDLTDIYKERSDDFKRDSVSGGGPCTN RSHIKHGTGDKHGVVSGVPAPWEKNLTNVEWEDR SGGNFCRSCPSKLHNYSTTVTGQNSGRQACIRCE ACKKAGNLYDISEDNSLQELDQPAAPVAVTSNAST TKYPQSPTNSKAQKKNRNKLRRQHSYDTFVLDLQK EEAALAPRSVSLKDKGRFMDGSPYAHMFEMSAGE STFANNKSSVPTAGHHHHNNPGGGYMLSKSLYPD RVTQNPFIPTFGDDQCLLHGSKSYFFRQPTVAGAS KARPDFRALVTNKPVVSALHGAVPARFQKDICIGN QSNPCVPNNKNPRAFNGSSNGHVYEKLSSIESDV	Human GluN2B NM_000834
-----------------	--	---------------------------

10

20

30

40

50

【表 1 - 19】

SEQ ID NO 49	MKPRAECCSPKFWLVLAFLAVSGSRARSQKSPPSI GIAVILVGTSDDEVAIKDAHEKDDFHHLVSVPRVELVA MNETDPKSIITRICDLMSDRKIQGVVFADDDQEAIA QILDFISAQTLTPILGIHGGSSMIMADKDESSMFFQF GPSIEQQASVMLNIMEEYDWYIFSIVTTYFPGYQDF VNKIRSTIENSFVGWELEEVLLDMSLDDGDSKIQN QLKKLQSPIILLYCTKEEATYIFEVANSVGLTGYGYT WVPSLVAGDTDTPAEFPTGLISVSYDEWDYGLP ARVRDGAITTAASDMLSEHSFIPEPKSSCYNTEK RIYQSNMLNRYLINVTFEGRNLSFSEDGYQMHPKL VILLNKERKWERVGKWKDKSLQMKYYVWRMCP ETEEQEDDHLISIVTLEEAPFVIVESVDPLSGTCMRN TVPCKRIVTENKTDEEPGYIKCKCKGFCIDILKKIS KSVKFTYDLYLVNKGKHGKINGTWNGMIGEVVMK RAYMAVGSLTINEERSEVVDFSVPFIETGISVMVSR GTQVSGLSDKKFQRPNDSPPPFRFGTVPNGSTER NIRNNYAEMHAYMGKFNQRGVDDALLSLKTGKLD FIYDAAVLNYMAGRDEGCKLVITIGSGKVFASTGYGI AIQKDSGWKRQVDLAILQLFGDGEMEELEALWLTG ICHN	GluN2B ecd incl. signal sequence and GT-linker between S1 and S2
SEQ ID NO 98	MGGALGPALLTSLFGAWAGLPGQGGEQGMTVAV VFSSSGPPQAQFRARLTPQSFLDLPLEIQPLTVGVN TTNPSSLLTQICGLLGAHVHGVFEDNVDTEAVAQI LDFISSQTHVPILSISGGSAAVLTPEKPGSAFLQLGV SLEQQLQVLFKVLEEYDWSAFVITSLHPGHALFLE GVRVADASHVSWRLLDVVTLELPGGPRARTQR LLRQLDAPVFVAYCSREEAEVFAEAAQAGLVGPG HVWLVPNLALGSTDAPPATFPVGLISVVTESWRLSL RQKVRDGVAILALGAHSYWRQHGTLPAPAGDCRV HPGPVSPAREAFYRHLLNVTWEGRDFSFSPPGGYL VQPTMVVIALNRHRLWEMVGRWEHGVLYMKYPV WPRYSASLQPVVDSRHLTVGSSTMVRSSKPTCPP PELLGGPSVFIFFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS QDDPEVQFTWYINNEQVRTARPLREQQFNSTIRV VSTLPIAHQDWLRGKEFKCKVHNKALPAPIEKTISK ARGQPLEPKVYTMGPPREELSSRSVSLTCMINGFY PSDISVEWEKNGKAEDNYKTTPAVLSDGSYFLYS KLSVPTSEWQRGDVFTCSVMHEALHNHYTQKSISR SPGK	protein seq of fusion protein #9 N2C-ATD- Fc
SEQ ID NO 99	MGGALGPALLTSLFGAWAGLPGQGGEQGMTVAV VFSSSGPPQAQFRARLTPQSFLDLPLEIQPLTVGVN TTNPSSLLTQICGLLGAHVHGVFEDNVDTEAVAQI LDFISSQTHVPILSISGGSAAVLTPEKPGSAFLQLGV	Amino terminal domain of GluN2C (including signal sequence) as used for example in fusion protein #9

10

20

30

40

50

【表 1 - 20】

	SLEQQLQVLFKVL EEYDWSAFAVITSLHPGHALFLE GVRADASHVSWRLLDVVTLELGP GGPRARTQR LLRQLDAPVFVAYCSREEAEVLF AEAQA GLVGP HWVLV PNLALGSTDAPPATFPVGLISVVTESWRLSL RQKVRDGVAILALGAHSYWRQHGTLPAPAGDCRV HPGPVSPAREAFYRHLLNVTWEGRDFSFSPPGGYL VQPTMVVIALNRHRLWEMVGRWEHGVLYMKYPV WPRYSASLQPVVDSRHLTV	
--	---	--

10

【0094】

表2：本発明の好ましい核酸配列

【表 2 - 1】

SEQ ID NO.	Amino Acid Sequence	Description
SEQ ID NO 50	ATGAGCACCATGCGCCTGCTGACGCTCGCCCTG CTGTTCTCCTGCTCCGTCGCCCGTGCCGCGTGC GACCCCAAGATCGTCAACATTGGCGCGGTGCTG AGCACGCGGAAGCACGAGCAGATGTTCCGCGAG GCCGTGAACCAGGCCAACAAGCGGCACGGCTCC TGGAAGATTCAGCTCAATGCCACCTCCGTACGCG ACAAGCCCAACGCCATCCAGATGGCTCTGTCTGG TGTGCGAGGACCTCATCTCCAGCCAGGTCTACG CCATCCTAGTTAGCCATCCACCTACCCCAACGA CCACTTCACTCCCACCCCTGTCTCCTACACAGCC GGCTTCTACCGCATACCCGTGCTGGGGCTGACC ACCCGCATGTCCATCTACTCGGACAAGAGCATCC ACCTGAGCTTCCTGCGCACCGTGCCGCCCTACT CCCACCAGTCCAGCGTGTGGTTTGAGATGATGC GTGTCTACAGCTGGAACCACATCATCCTGCTGGT CAGCGACGACCACGAGGGCCGGGCGGCTCAGA AACGCCTGGAGACGCTGCTGGAGGAGCGTGAGT CCAAGGCAGAGAAGGTGCTGCAGTTTGACCCAG GGACCAAGAACGTGACGGCCCTGCTGATGGAGG CGAAAGAGCTGGAGGCCCGGGTCATCATCCTTT CTGCCAGCGAGGACGATGCTGCCACTGTATACC GCGCAGCCGCGATGCTGAACATGACGGGCTCCG GGTACGTGTGGCTGGTCGGCGAGCGCGAGATCT CGGGGAACGCCCTGCGCTACGCCCCGGACGGC ATCCTCGGGCTGCAGCTCATCAACGGCAAGAAC GAGTCGGCCACATCAGCGACGCCGTAGGCGTG GTGGCCAGGCCGTGCACGAGCTCCTCAGAAG GAGAACATCACCGACCCGCCGCGGGGCTGCGT GGGCAACACCAACATCTGGAAGACCGGGCCGCT CTTCAAGAGAGTGCTGATGTCTTCCAAGTATGCG GATGGGGTGACTGGTCGCGTGGAGTTCAATGAG	DNA sequence of fusion protein #1 N1- ATD-Fc

20

30

40

50

【表 2 - 2】

	GATGGGGACCGGAAGTTCGCCAACTACAGCATC ATGAACCTGCAGAACCGCAAGCTGGTGCAAGTG GGCATCTACAATGGCACCCACGTCATCCCTAATG ACAGGAAGATCATCTGGCCAGGCGGAGAGACAG AGAAGCCTCGAGGGTACCAGATGTCCACCAGAC TGAAGATTGGGTCGAGCACCATGGTTAGATCTAG CAAGCCCACGTGCCCACCCCCTGAACTCCTGGG GGGACCGTCTGTCTTCATCTTCCCCCAAAACCC AAGGACACCCTCATGATCTCACGCACCCCGAG GTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAT GACCCCGAGGTGCAGTTCACATGGTACATAAACA ACGAGCAGGTGCGCACCGCCCGGCCGCGCTA CGGGAGCAGCAGTTCAACAGCACGATCCGCGTG GTCAGCACCCCTCCCCATCGCGCACCAGGACTGG CTGAGGGGCAAGGAGTTCAAGTGCAAAGTCCAC AACAAGGCACTCCCGGCCCCCATCGAGAAAACC ATCTCCAAAGCCAGAGGGCAGCCCTGGAGCCG AAGGTCTACACCATGGGCCCTCCCGGGAGGAG CTGAGCAGCAGGTGCGTCAGCCTGACCTGCATG ATCAACGGCTTCTACCCCTCCGACATCTCGGTGG AGTGGGAGAAGAACGGGAAGGCAGAGGACAAC ACAAGACCACGCCGGCCGTGCTGGACAGCGAC GGCTCCTACTTCTCTACAGCAAGCTCTCAGTGC CCACGAGTGAGTGGCAGCGGGGCGACGTCTTCA CCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCTTGACAACC ACTACACGCAGAAGTCCATCTCCCGCTCTCCGG GTAAATGA	
SEQ ID NO 51	ATGAGCACCATGCGCCTGCTGACGCTCGCCCTG CTGTTCTCCTGCTCCGTGCGCCGTGCCGCGTGC GACCCCAAGATCGTCAACATTGGCGCGGTGCTG AGCACGCGGAAGCACGAGCAGATGTTCCGCGAG GCCGTGAACCAGGCCAACAAGCGGCACGGCTCC TGGAAGATTCAGCTCAATGCCACCTCCGTACGCG ACAAGCCCAACGCCATCCAGATGGCTCTGTGCG TGTGCGAGGACCTCATCTCCAGCCAGGTCTACG CCATCCTAGTTAGCCATCCACCTACCCCAACGA CCACTTCACTCCCACCCCTGTCTCCTACACAGCC GGCTTCTACCGCATAACCCGTGCTGGGGCTGACC ACCCGCATGTCCATCTACTCGGACAAGAGCATCC ACCTGAGCTTCCTGCGCACCGTGCCGCCCTACT CCCACCACTCCAGCGTGTGGTTTGAGATGATGC GTGTCTACAGCTGGAACCATCATCCTGCTGGT CAGCGACGACCACGAGGGCCGGGCGGCTCAGA AACGCCTGGAGACGCTGCTGGAGGAGCGTGAGT CCAAGGCAGAGAAGGTGCTGCAGTTTGACCCAG	Amino terminal domain (ATD) of GluN1 including the signal sequence as in fusion protein #1

10

20

30

40

50

【表 2 - 3】

	GGACCAAGAACGTGACGGCCCTGCTGATGGAGG CGAAAGAGCTGGAGGCCCGGGTCATCATCCTTT CTGCCAGCGAGGACGATGCTGCCACTGTATACC GCGCAGCCGCGATGCTGAACATGACGGGCTCCG GGTACGTGTGGCTGGTCGGCGAGCGCGAGATCT CGGGGAACGCCCTGCGCTACGCCCCGGACGGC ATCCTCGGGCTGCAGCTCATCAACGGCAAGAAC GAGTCGGCCACATCAGCGACGCCGTAGGCGTG GTGGCCAGGCCGTGCACGAGCTCCTCGAGAAG GAGAACATCACCGACCCGCCCGGGGCTGCGT GGGCAACACCAACATCTGGAAGACCGGGCCGCT CTTCAAGAGAGTGCTGATGTCTTCCAAGTATGCG GATGGGGTGACTGGTCGCGTGGAGTTCAATGAG GATGGGGACCGGAAGTTCGCCAACTACAGCATC ATGAACCTGCAGAACCGCAAGCTGGTGCAAGTG GGCATCTACAATGGCACCCACGTCATCCCTAATG ACAGGAAGATCATCTGGCCAGGCGGAGAGACAG AGAAGCCTCGAGGGTACCAGATGTCCACCAGAC TGAAGATT	
SEQ ID NO 52	GGGTCGAGCACCATGGTTAGATCT	Linker between NMDAR domain and rabbit Fc to be used in fusion proteins of NMDAR protein constructs of the invention
SEQ ID NO 53	AGCAAGCCCACGTGCCCACCCCCTGAACTCCTG GGGGGACCGTCTGTCTTCATCTTCCCCCAAAAC CCAAGGACACCCTCATGATCTCACGCACCCCCG AGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGG ATGACCCCCGAGGTGCAGTTCACATGGTACATAAA CAACGAGCAGGTGCGCACCGCCCGGCCGCCGC TACGGGAGCAGCAGTTCAACAGCACGATCCGCG TGGTGAGCACCCCTCCCCATCGCGCACCAAGGACT GGCTGAGGGGCAAGGAGTTCAAGTGCAAAGTCC ACAACAAGGCACTCCCGGCCCCCATCGAGAAAA CCATCTCCAAAGCCAGAGGGCAGCCCCCTGGAGC CGAAGGTCTACACCATGGGCCCTCCCCGGGAGG AGCTGAGCAGCAGGTGCGTCAGCCTGACCTGCA TGATCAACGGCTTCTACCTTCCGACATCTCGGT GGAGTGGGAGAAGAACGGGAAGGCAGAGGACA ACTACAAGACCACGCCGGCCGTGCTGGACAGCG ACGGCTCCTACTTCTCTACAGCAAGCTCTCAGT GCCCACGAGTGAGTGGCAGCGGGGCGACGTCT TCACCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCTTGACA	Rabbit Fc from Vector pFuse-rlgG-Fc1 (InvivoGen) as used in fusion proteins #1-#8

10

20

30

40

50

【表 2 - 4】

	ACCACTACACGCAGAAGTCCATCTCCCGCTCTCC GGGTAAATGA	
SEQ ID NO 54	ACGCTCGCCCTGCTGTTCTCCTGCTCCGTCGCC CGTGCCGCGTGCGACCCCAAGATCGTCAACATT GGCGCGGTGCTGAGCACGCGGAAGCACGAGCA GATGTTCCGCGAGGCCGTGAACCAGGCCAACAA GCGGCACGGCTCCTGGAAGATTGAGCTCAATGC CACCTCCGTCACGCACAAGCCCAACGCCATCCA GATGGCTCTGTGCGGTGTGCGAGGACCTCATCTC CAGCCAGGTCTACGCCATCCTAGTTAGCCATCCA CCTACCCCCAACGACCACTTCACTCCCACCCCTG TCTCCTACACAGCCGGCTTCTACCGCATACCCGT GCTGGGGCTGACCACCCGCATGTCCATCTACTC GGACAAGAGCATCCACCTGAGCTTCTGCGCAC CGTGCCGCGCTACTCCCACAGTCCAGCGTGTG GTTTGAGATGATGCGTGTCTACAGCTGGAACCAC ATCATCCTGCTGGTCAGCGACGACCACGAGGGC CGGGCGGCTCAGAAACGCCTGGAGACGCTGCT GGAGGAGCGTGAGTCCAAGGCAGAGAAGGTGCT GCAGTTTGACCCAGGGACCAAGAACGTGACGGC CCTGCTGATGGAGGCGAAAGAGCTGGAGGCC GGGTCATCATCCTTTCTGCCAGCGAGGACGATG CTGCCACTGTATACCGCGCAGCCGCGATGCTGA ACATGACGGGCTCCGGGTACGTGTGGCTGGTCG GCGAGCGCGAGATCTCGGGGAACGCCCTGCGC TACGCCCCAGACGGCATCCTCGGGCTGCAGCTC ATCAACGGCAAGAACGAGTCGGCCACATCAGC GACGCCGTGGGCGTGGTGGCCAGGCCGTGCA CGAGCTCCTCGAGAAGGAGAACATCACCGACCC GCCGCGGGGCTGCGTGGGCAACACCAACATCTG GAAGACCGGGCGCTCTTCAAGAGAGTGCTGAT GTCTTCCAAGTATGCGGATGGGGTGAAGTGGTCG CGTGGAGTTCAATGAGGATGGGGACCGGAAGTT CGCCAACTACAGCATCATGAACCTGCAGAACCG CAAGCTGGTGCAAGTGGGCATCTACAATGGCAC CCACGTCATCCCTAATGACAGGAAGATCATCTGG CCAGGC	Amino terminal domain of GluN1 in NM_007327 with domain borders as in cd06379: PBP1_iGluR_NMDA_ NR1 (NCBI)
SEQ ID NO 55	ATGAGCACCATGCGCCTGCTGACGCTCGCCCTG CTGTTCTCCTGCTCCGTCGCCCCGTGCCGCGTGC GACCCCAAGATCGTCAACATTGGCGCGGTGCTG AGCACGCGGAAGCACGAGCAGATGTTCCGCGAG GCCGTGAACCAGGCCAACAAAGCGGCACGGCTCC TGGAAGATTGAGTCAATGCCACCTCCGTCACGC	DNA seq of fusion protein #2 N1ecd-Fc

10

20

30

40

50

【表 2 - 5】

	ACAAGCCCAACGCCATCCAGATGGCTCTGTCGG TGTGCGAGGACCTCATCTCCAGCCAGGTCTACG CCATCCTAGTTAGCCATCCACCTACCCCCAACGA CCACTTCACTCCCACCCCTGTCTCCTACACAGCC GGCTTCTACCGCATACCCGTGCTGGGGCTGACC ACCCGCATGTCCATCTACTCGGACAAGAGCATCC ACCTGAGCTTCTGCGCACCGTGCCGCCCTACT CCCACCAGTCCAGCGTGTGGTTTGAGATGATGC GTGTCTACAGCTGGAACCACATCATCCTGCTGGT CAGCGACGACCACGAGGGCCGGGCGGCTCAGA AACGCCTGGAGACGCTGCTGGAGGAGCGTGAGT CCAAGGCAGAGAAGGTGCTGCAGTTTGACCCAG GGACCAAGAACGTGACGGCCCTGCTGATGGAGG CGAAAGAGCTGGAGGCCCGGGTCATCATCCTTT CTGCCAGCGAGGACGATGCTGCCACTGTATACC GCGCAGCCGCGATGCTGAACATGACGGGCTCCG GGTACGTGTGGCTGGTCGGCGAGCGCGAGATCT CGGGGAACGCCCTGCGCTACGCCCCGGACGGC ATCCTCGGGCTGCAGCTCATCAACGGCAAGAAC GAGTCGGCCACATCAGCGACGCCGTAGGCGTG GTGGCCAGGCCGTGCACGAGCTCCTCGAGAAG GAGAACATCACCGACCCGCCGCGGGGCTGCGT GGGCAACACCAACATCTGGAAGACCGGGCCGCT CTTCAAGAGAGTGCTGATGTCTTCCAAGTATGCG GATGGGGTGACTGGTCGCGTGAGTTCAATGAG GATGGGGACCGGAAGTTCGCCAACTACAGCATC ATGAACCTGCAGAACCGCAAGCTGGTGCAAGTG GGCATCTACAATGGCACCCACGTCATCCCTAATG ACAGGAAGATCATCTGGCCAGGCGGAGAGACAG AGAAGCCTCGAGGGTACCAGATGTCCACCAGAC TGAAGATTGTGACGATCCACCAGGAGCCCTTCGT GTACGTCAAGCCCACGCTGAGTGATGGGACATG CAAGGAGGAGTTCACAGTCAACGGCGACCCAGT CAAGAAGGTGATCTGCACCGGGCCCAACGACAC GTCGCCGGGCAGCCCCCGCCACACGGTGCCTC AGTGTTGCTACGGCTTTTGCATCGACCTGCTCAT CAAGCTGGCACGGACCATGAAC TTCACCTACGA GGTGACCTGGTGGCAGATGGCAAGTTCGGCAC ACAGGAGCGGGTGAACAACAGCAACAAGAAGGA GTGGAATGGGATGATGGGCGAGCTGCTCAGCGG GCAGGCAGACATGATCGTGGCGCCGCTAACCAT AAACAACGAGCGCGCGCAGTACATCGAGTTTTC CAAGCCCTTCAAGTACCAGGGCCTGACTATTCTG GTCAAGAAGGGCACCCGCATCACGGGCATCAAC GACCCCCGGCTGAGGAACCCCTCGGACAAGTTT ATCTACGCCACGGTGAAGCAGAGCTCCGTGGAT	10 20 30 40
--	--	---

【表 2 - 6】

	ATCTACTTCCGGCGCCAGGTGGAGCTGAGCACC ATGTACCGGCATATGGAGAAGCACAACTACGAG AGTGCGGCGGAGGCCATCCAGGCCGTGAGAGA CAACAAGCTGCATGCCTTCATCTGGGACTCGGC GGTGCTGGAGTTCGAGGCCTCGCAGAAGTGCGA CCTGGTGACGACTGGAGAGCTGTTTTCCGCTC GGGCTTCGGCATAGGCATGCGCAAAGACAGCCC CTGGAAGCAGAACGTCTCCCTGTCCATCCTCAAG TCCCACGAGAATGGCTTCATGGAAGACCTGGAC AAGACGTGGGTTCCGTATCAGGAATGTGACTCG GGGTCGAGCACCATGGTTAGATCTAGCAAGCCC ACGTGCCCACCCCCTGAACTCCTGGGGGGACCG TCTGTCTTCATCTTCCCCCAAAACCCAAAGACA CCCTCATGATCTCACGCACCCCGAGGTCACAT GCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGATGACCCC GAGGTGCAGTTCACATGGTACATAAACAACGAGC AGGTGCGCACCGCCCGGCCGCGCTACGGGAG CAGCAGTTCAACAGCACGATCCGCGTGGTCAGC ACCTCCCCATCGCGCACCAGGACTGGCTGAGG GGCAAGGAGTTCAAGTGCAAAGTCCACAACAAG GCACTCCCGGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAGAGGGCAGCCCCCTGGAGCCGAAGGT CTACACCATGGGCCCTCCCCGGGAGGAGCTGAG CAGCAGGTCGGTCAGCCTGACCTGCATGATCAA CGGCTTCTACCTTCCGACATCTCGGTGGAGTG GGAGAAGAACGGGAAGGCAGAGGACAACCTACAA GACCACGCCGGCCGTGCTGGACAGCGACGGCT CCTACTTCCTCTACAGCAAGCTCTCAGTGCCAC GAGTGAGTGGCAGCGGGGCGACGTCTTCACCTG CTCCGTGATGCACGAGGCCTTGACAACCACTA CACGCAGAAGTCCATCTCCCGCTCTCCGGGTAA ATGA		10
			20
SEQ ID NO 56	ATGAGCACCATGCGCCTGCTGACGCTCGCCCTG CTGTTCTCCTGCTCCGTGCCCCGTGCCGCGTGC GACCCCAAGATCGTCAACATTGGCGCGGTGCTG AGCACGCGGAAGCACGAGCAGATGTTCCGCGAG GCCGTGAACCAGGCCAACAAGCGGCACGGCTCC TGGAAGATTCAGCTCAATGCCACCTCCGTACGC ACAAGCCCAACGCCATCCAGATGGCTCTGTCGG TGTGCGAGGACCTCATCTCCAGCCAGGTCTACG CCATCCTAGTTAGCCATCCACCTACCCCAACGA CCACTTCACTCCCACCCCTGTCTCCTACACAGCC GGCTTCTACCGCATACCCGTGCTGGGGCTGACC ACCCGCATGTCCATCTACTCGGACAAGAGCATCC ACCTGAGCTTCTGCGCACCGTGCCGCCCTACT	Amino terminal domain of GluN1 (including signal sequence) as included in fusion proteins #2, #4	30
			40

10

20

30

40

50

【表 2 - 7】

	CCCACCAGTCCAGCGTGTGGTTTGAGATGATGC GTGTCTACAGCTGGAACCACATCATCCTGCTGGT CAGCGACGACCACGAGGGCCGGGCGGCTCAGA AACGCCTGGAGACGCTGCTGGAGGAGCGTGAGT CCAAGGCAGAGAAGGTGCTGCAGTTTGACCCAG GGACCAAGAACGTGACGGCCCTGCTGATGGAGG CGAAAGAGCTGGAGGCCCGGGTCATCATCCTTT CTGCCAGCGAGGACGATGCTGCCACTGTATACC GCGCAGCCGCGATGCTGAACATGACGGGCTCCG GGTACGTGTGGCTGGTCGCGAGCGCGAGATCT CGGGGAACGCCCTGCGCTACGCCCCGGACGGC ATCCTCGGGCTGCAGCTCATCAACGGCAAGAAC GAGTCGGCCACATCAGCGACGCCGTAGGCGTG GTGGCCCAGGCCGTGCACGAGCTCCTCGAGAAG GAGAACATCACCGACCCGCCGCGGGGCTGCGT GGGCAACACCAACATCTGGAAGACCGGGCCGCT CTTCAAGAGAGTGCTGATGTCTTCCAAGTATGCG GATGGGGTGACTGGTCGCGTGGAGTTCAATGAG GATGGGGACCGGAAGTTCGCCAACTACAGCATC ATGAACCTGCAGAACCGCAAGCTGGTGCAAGTG GGCATCTACAATGGCACCCACGTCATCCCTAATG ACAGGAAGATCATCTGGCCAGGCGGAGAGACAG AGAAGCCTCGAGGGTACCAGATGTCCACCAGAC TGAAGATT	
SEQ ID NO 57	TCCACCAGACTGAAGATTGTGACGATCCACCAG GAGCCCTTCGTGTACGTCAAGCCACGCTGAGT GATGGGACATGCAAGGAGGAGTTCACAGTCAAC GGCGACCCAGTCAAGAAGGTGATCTGCACCGGG CCCAACGACACGTGCGCGGGCAGCCCCCGCCA CACGGTGCCTCAGTGTTGCTACGGCTTTTGCATC GACCTGCTCATCAAGCTGGCACGGACCATGAAC TTCACCTACGAGGTGCACCTGGTGGCAGATGGC AAGTTCGGCACACAGGAGCGGGTGAACAACAGC AACAAGAAGGAGTGGAATGGGATGATGGGCGAG CTGCTCAGCGGGCAGGCAGACATGATCGTGGCG CCGCTAACCATAAACAACGAGCGCGCGAGTAC ATCGAGTTTTCCAAGCCCTTCAAGTACCAGGGCC TGACTATTCTGGTCAAGAAG	Ligand-binding domain of GluN1 S1, as for example included in fusion proteins #2, #4; corresponds to Ligand- binding domain of GluN1 S1 in NM_007327 with domain borders as in cd13719: PBP2_iGluR_NMDA_ Nr1 (NCBI)
SEQ ID NO 58	GGCACC	Linker between S1 and S2, as for example included in fusion proteins #2, #3, #4

10

20

30

40

50

【表 2 - 8】

SEQ ID NO 59	CGCATCACGGGCATCAACGACCCCCGGCTGAGG AACCCCTCGGACAAGTTTATCTACGCCACGGTGA AGCAGAGCTCCGTGGATATCTACTTCGGCGCC AGGTGGAGCTGAGCACCATGTACCGGCATATGG AGAAGCACAACTACGAGAGTGC GGCGGAGGCCA TCCAGGCCGTGAGAGACAACAAGCTGCATGCCT TCATCTGGGACTCGGCGGTGCTGGAGTTCGAGG CCTCGCAGAAGTGCGACCTGGTGACGACTGGAG AGCTGTTTTTCCGCTCGGGCTTCGGCATAGGCAT GCGCAAAGACAGCCCCTGGAAGCAGAACGTCTC CCTGTCCATCCTCAAGTCCCACGAGAATGGCTTC ATGGAAGACCTGGACAAGACGTGGGTTCCGGTAT CAGGAATGTGACTCG	Ligand-binding domain of GluN1 S2, as for example included in fusion proteins #2, #4
SEQ ID NO 60	CGCATCACGGGCATCAACGACCCTCGGCTGAGG AACCCCTCGGACAAGTTTATCTACGCCACGGTGA AGCAGAGCTCCGTGGATATCTACTTCGGCGCC AGGTGGAGCTGAGCACCATGTACCGGCATATGG AGAAGCACAACTACGAGAGTGC GGCGGAGGCCA TCCAGGCCGTGAGAGACAACAAGCTGCATGCCT TCATCTGGGACTCGGCGGTGCTGGAGTTCGAGG CCTCGCAGAAGTGCGACCTGGTGACGACTGGAG AGCTGTTTTTCCGCTCGGGCTTCGGCATAGGCAT GCGCAAAGACAGCCCCTGGAAGCAGAACGTCTC CCTGTCCATCCTCAAGTCCCACGAGAATGGCTTC ATGGAAGACCTGGACAAGACGTGGGTTCCGGTAT CAGGAATGTGAC	Ligand-binding domain of GluN1 S2 in NM_007327 with domain borders as in cd13719: PBP2_iGluR_NMDA_ Nr1 (NCBI)
SEQ ID NO 61	ATGAAGCCCAGAGCGGAGTGCTGTTCTCCCAAG TTCTGTTGGTGGTGGCCGTCTCGGCCGTGCA GGCAGCAGAGCTCGTTCTCAGAAGAGCCCCCCC AGCATTGGCATTGCTGTCTCCTCGTGGGCACTT CCGACGAGGTGGCCATCAAGGATGCCACGAGA AAGATGATTTCCACCATCTCTCCGTGGTACCCCG GGTGGAAGTGGTAGCCATGAATGAGACCGACCC AAAGAGCATCATCACCCGCATCTGTGATCTCATG TCTGACCGGAAGATCCAGGGGGTGGTGTGTTGCT GATGACACAGACCAGGAAGCCATCGCCCAGATC CTCGATTTCAATTCAGCACAGACTCTCACCCCGA TCCTGGGCATCCACGGGGGCTCCTCTATGATAAT GGCAGATAAGGATGAATCCTCCATGTTCTTCCAG TTTGCCCATCAATTGAACAGCAAGCTTCCGTAA TGCTCAACATCATGGAAGAATATGACTGGTACAT CTTTTCTATCGTCACCACTATTTCCCTGGCTACC AGGACTTTGTAAACAAGATCCGCAGCACCATTGA	DNA seq of fusion protein #3 N2Becd-Fc

10

20

30

40

50

【表 2 - 9】

	GAATAGCTTTGTGGGCTGGGAGCTAGAGGAGGT CCTCCTACTGGACATGTCCCTGGACGATGGAGA TTCTAAGATCCAGAATCAGCTCAAGAACTTCAA AGCCCCATCATTCTTCTTTACTGTACCAAGGAAG AAGCCACCTACATCTTTGAAGTGGCCAACTCAGT AGGGCTGACTGGCTATGGCTACACGTGGATCGT GCCCAGTCTGGTGGCAGGGGATACAGACACAGT GCCTGCGGAGTTCCCCACTGGGCTCATCTCTGT ATCATATGATGAATGGGACTATGGCCTCCCCGCC AGAGTGAGAGATGGAATTGCCATAATCACCCTG CTGCTTCTGACATGCTGTCTGAGCACAGCTTCAT CCCTGAGCCCCAAAAGCAGTTGTTACAACCCAC GAGAAGAGAATCTACCAGTCCAATATGCTAAATA GGTATCTGATCAATGTCACTTTTGAGGGGAGGAA TTTGTCCCTTCAGTGAAGATGGCTACCAGATGCAC CCGAAACTGGTGATAATTCTTCTGAACAAGGAGA GGAAGTGGGAAAGGGTGGGGAAGTGGAAGAC AAGTCCCTGCAGATGAAGTACTATGTGTGGCCCC GAATGTGTCCAGAGACTGAAGAGCAGGAGGATG ACCATCTGAGCATTGTGACCCTGGAGGAGGCAC CATTTGTCAATTGTGGAAGTGTGGACCCTCTGAG TGGAACCTGCATGAGGAACACAGTCCCCTGCCA AAAACGCATAGTCACTGAGAATAAACAGACGAG GAGCCGGGTACATCAAAAAATGCTGCAAGGGG TTCTGTATTGACATCCTTAAGAAAATTTCTAAATC TGTGAAGTTCACCTATGACCTTTACCTGGTTACC AATGGCAAGCATGGGAAGAAAATCAATGGAACCT GGAATGGTATGATTGGAGAGGTGGTCATGAAGA GGGCCTACATGGCAGTGGGCTCACTCACCATCA ATGAGGAACGATCGGAGGTGGTCGACTTCTCTG TGCCCTTCATAGAGACAGGCATCAGTGTCTGCTG GTCACGCGGCACCCAGGTTTCTGGCCTGAGCGA CAAAAAGTTCCAGAGACCTAATGACTTCTCACC CCTTTCCGCTTTGGGACCGTGCCCAACGGCAGC ACAGAGAGAAATATTCGCAATAACTATGCAGAAA TGCATGCCTACATGGGAAAGTTCAACCAGAGGG GTGTAGATGATGCATTGCTCTCCCTGAAAACAGG GAAACTGGATGCCTTCATCTATGATGCAGCAGTG CTGAACTATATGGCAGGCAGAGATGAAGGCTGC AAGCTGGTGACCATTGGCAGTGGGAAGGTCTTT GCTTCCACTGGCTATGGCATTGCCATCCAAAAAG ATTCTGGGTGGAAGCGCCAGGTGGACCTTGCTA TCCTGCAGCTCTTTGGAGATGGGGAGATGGAAG AACTGGAAGCTCTCTGGCTCACTGGCATTGTCA CAATGGCTCGAGCACCATGGTTAGATCTAGCAAG CCCACGTGCCACCCCTGAACCTCTGGGGGA	
		10
		20
		30
		40

【表 2 - 1 0】

	CCGTCTGTCTTCATCTTCCCCCAAAACCCAAGG ACACCCCTCATGATCTCACGCACCCCGAGGTCA CATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGATGACC CCGAGGTGCAGTTCACATGGTACATAAACACGA GCAGGTGCGCACCGCCCGCCGCGCTACGGG AGCAGCAGTTCAACAGCACGATCCGCGTGGTCA GCACCCCTCCCCATCGCGCACCAAGGACTGGCTGA GGGGCAAGGAGTTCAAGTGCAAAGTCCACAACA AGGCACTCCCGGCCCCCATCGAGAAAACCATCT CCAAAGCCAGAGGGCAGCCCTGGAGCCGAAG GTCTACACCATGGGCCCTCCCGGGAGGAGCTG AGCAGCAGGTGCGTCAGCCTGACCTGCATGATC AACGGCTTCTACCTTCCGACATCTCGGTGGAGT GGGAGAAGAACGGGAAGGCAGAGGACAATAACA AGACCACGCCGGCCGTGCTGGACAGCGACGGC TCCTACTTCCTCTACAGCAAGCTCTCAGTGCCCA CGAGTGAGTGGCAGCGGGGCGACGTCTTACCT GCTCCGTGATGCACGAGGCCTTGACAACCACT ACACGCAGAAGTCCATCTCCCGCTCTCCGGGTA AATGA	
SEQ ID NO 62	ATGAAGCCCAGAGCGGAGTGCTGTTCTCCCAAG TTCTGGTTGGTGGTGGCCGTCTGGCCGTGTCA GGCAGCAGAGCTCGTTCTCAGAAGAGCCCCCCC AGCATTGGCATTGCTGTCTATCCTCGTGGGCACTT CCGACGAGGTGGCCATCAAGGATGCCACAGAGA AAGATGATTTCCACCATCTCTCCGTGGTACCCCG GGTGGAAGTGGTAGCCATGAATGAGACCGACCC AAAGAGCATCATCACCCGCATCTGTGATCTCATG TCTGACCGGAAGATCCAGGGGGTGGTGTGTTGCT GATGACACAGACCAGGAAGCCATCGCCAGATC CTCGATTTCAATTCAGCACAGACTCTCACCCCGA TCCTGGGCATCCACGGGGGCTCCTCTATGATAAT GGCAGATAAGGATGAATCCTCCATGTTCTTCCAG TTTGGCCCATCAATTGAACAGCAAGCTTCCGTAA TGCTCAACATCATGGAAGAATATGACTGGTACAT CTTTTCTATCGTCACCACCTATTTCCCTGGCTACC AGGACTTTGTAAACAAGATCCGCAGCACCAATTGA GAATAGCTTTGTGGGCTGGGAGCTAGAGGAGGT CCTCCTACTGGACATGTCCCTGGACGATGGAGA TTCTAAGATCCAGAATCAGCTCAAGAACTTCAA AGCCCCATCATTTCTTTACTGTACCAAGGAAG AAGCCACCTACATCTTTGAAGTGGCCAACTCAGT AGGGCTGACTGGCTATGGCTACACGTGGATCGT GCCCAGTCTGGTGGCAGGGGATACAGACACAGT GCCTGCGGAGTCCCCACTGGGCTCATCTCTGT	Amino terminal domain of GluN2B (including signal sequence), as for example included in fusion protein #3 N2Becd-Fc

10

20

30

40

50

【表 2 - 1 1】

	ATCATATGATGAATGGGACTATGGCCTCCCCGCC AGAGTGAGAGATGGAATTGCCATAATCACCCTG CTGCTTCTGACATGCTGTCTGAGCACAGCTTCAT CCCTGAGCCCCAAAAGCAGTTGTTACAACACCCAC GAGAAGAGAATCTACCAGTCCAATATGCTAAATA GGTATCTGATCAATGTCACTTTTGAGGGGAGGAA TTTGTCTTCAGTGAAGATGGCTACCAGATGCAC CCGAACTGGTGATAATTCTTCTGAACAAGGAGA GGAAGTGGGAAAGGGTGGGGAAGTGGAAAGAC AAGTCCCTGCAGATGAAGTACTATGTGTGGCCCC GAATGTGTCCAGAGACTGAAGAGCAG	
SEQ ID NO 63	GAGGATGACCATCTGAGCATTGTGACCCTGGAG GAGGCACCATTTGTCATTGTGGAAAGTGTGGACC CTCTGAGTGGAACTGCATGAGGAACACAGTCC CCTGCCAAAAACGCATAGTCACTGAGAATAAAAC AGACGAGGAGCCGGGTACATCAAAAAATGCTG CAAGGGGTCTGTATTGACATCCTTAAGAAAATTT CTAAATCTGTGAAGTTCACCTATGACCTTTACCTG GTTACCAATGGCAAGCATGGGAAGAAAATCAATG GAACCTGGAATGGTATGATTGGAGAGGTGGTCA TGAAGAGGGCCTACATGGCAGTGGGCTCACTCA CCATCAATGAGGAACGATCGGAGGTGGTCTGACT TCTCTGTGCCCTTCATAGAGACAGGCATCAGTGT CATGGTGTACGC	Ligand-binding domain of GluN2B S1, as for example included in fusion proteins #3, #4
SEQ ID NO 64	AGGTTTCTGGCCTGAGCGACAAAAAGTTCCAGA GACCTAATGACTTCTACCCCCCTTTCCGCTTTGG GACCGTGCCCAACGGCAGCACAGAGAGAAATAT TCGCAATAACTATGCAGAAATGCATGCCTACATG GGAAAGTTCAACCAGAGGGGTGTAGATGATGCA TTGCTCTCCCTGAAAACAGGGAACTGGATGCCT TCATCTATGATGCAGCAGTGCTGAACTATATGGC AGGCAGAGATGAAGGCTGCAAGCTGGTGACCAT TGGCAGTGGGAAGGTCTTTGCTTCCACTGGCTAT GGCATTGCCATCCAAAAAGATTCTGGGTGGAAG CGCCAGGTGGACCTTGCTATCCTGCAGCTCTTTG GAGATGGGGAGATGGAAGAACTGGAAGCTCTCT GGCTCACTGGCATTGTGCACAAT	Ligand-binding domain of GluN2B S2, as for example included in fusion proteins #3, #4
SEQ ID NO 65	CCCAGCATTGGCATTGCTGTCATCCTCGTGGGC ACTTCCGACGAGGTGGCCATCAAGGATGCCAC GAGAAAGATGATTTCCACCATCTCTCCGTGGTAC CCCGGGTGGAACTGGTAGCCATGAATGAGACCG ACCCAAAGAGCATCATCACCCGCATCTGTGATCT	Amino terminal domain of GluN2B in NM_000834 with domain borders as in cd06378: PBP1_iGluR_NMDA_ NR2 (NCBI)

10

20

30

40

50

【表 2 - 1 2】

	CATGTCTGACCGGAAGATCCAGGGGGTGGTGT TGCTGATGACACAGACCAGGAAGCCATCGCCCA GATCCTCGATTTTCATTTGAGCACAGACTCTCACC CCCATCCTGGGCATCCACGGGGGCTCCTCTATG ATAATGGCAGATAAGGATGAATCCTCCATGTTCT TCCAGTTTGGCCCATCAATTGAACAGCAAGCTTC CGTAATGCTCAACATCATGGAAGAATATGACTGG TACATCTTTTCTATCGTCACCACCTATTTCCCTGG CTACCAGGACTTTGTAAACAAGATCCGCAGCACC ATTGAGAATAGCTTTGTGGGCTGGGAGCTAGAG GAGGTCCCTCCTACTGGACATGTCCTTGACGAT GGAGATTCTAAGATCCAGAATCAGCTCAAGAAAC TTCAAAGCCCCATCATTCTTCTTTACTGTACCAAG GAAGAAGCCACCTACATCTTTGAAGTGGCCAACT CAGTAGGGCTGACTGGCTATGGCTACACGTGGA TCGTGCCCAGTCTGGTGGCAGGGGATACAGACA CAGTGCCTGCGGAGTTCCCCACTGGGCTCATCT CTGTATCATATGATGAATGGGACTATGGCCTCCC CGCCAGAGTGAGAGATGGAATTGCCATAATCAC CACTGCTGCTTCTGACATGCTGTCTGAGCACAGC TTCATCCCTGAGCCCAAAAGCAGTTGTTACAACA CCCACGAGAAGAGAATCTACCAGTCCAATATGCT AAATAGGTATCTGATCAATGTCACTTTTGAGGGG AGGAATTTGTCCTCAGTGAAGATGGCTACCAGA TGCACCCGAACTGGTGATAATTCTTCTGAACAA GGAGAGGAAGTGGGAAAGGTGGGGAAGTGGA AAGACAAGTCCCTGCAGATGAAGTACTATGTGTG GCCCCGA		10
SEQ ID NO 66	GATGACCATCTGAGCATTGTGACCCTGGAGGAG GCACCATTGTGATTGTGAAAGTGTGGACCCTC TGAGTGGAACTGCATGAGGAACACAGTCCCCT GCCAAAAACGCATAGTCACTGAGAATAAACAGA CGAGGAGCCGGGTACATCAAAAAATGCTGCAA GGGGTTCTGTATTGACATCCTTAAGAAAATTTCTA AATCTGTGAAGTTCACCTATGACCTTTACCTGGTT ACCAATGGCAAGCATGGGAAGAAAATCAATGGAA CCTGGAATGGTATGATTGGAGAGGTGGTCATGA AGAGGGCCTACATGGCAGTGGGCTCACTACCA TCAATGAGGAACGATCGGAGGTGGTCGACTTCT CTGTGCCCTTCATAGAGACAGGCATCAGTGTCAT GGTGTCACGC	Ligand-binding domain of GluN2B S1 in NM_000834 with domain borders as in cd13718; PBP2_iGluR_NMDA_ Nr2 (NCBI)	20 30
SEQ ID NO 67	CAGGTTTCTGGCCTGAGCGACAAAAAGTTCCAGA GACCTAATGACTTCTCACCCCTTTCCGCTTTGG	Ligand-binding domain of GluN2B S2 in NM_000834 with domain borders as in	40

【表 2 - 1 3】

	GACCGTGCCCAACGGCAGCACAGAGAGAAATAT TCGCAATAACTATGCAGAAATGCATGCCTACATG GGAAAGTTCAACCAGAGGGGTGTAGATGATGCA TTGCTCTCCCTGAAAACAGGGAACTGGATGCCT TCATCTATGATGCAGCAGTGCTGAACTATATGGC AGGCAGAGATGAAGGCTGCAAGCTGGTGACCAT TGGCAGTGGGAAGGTCTTTGCTTCCACTGGCTAT GGCATTGCCATCCAAAAAGATTCTGGGTGGAAG CGCCAGGTGGACCTTGCTATCCTGCAGCTCTTTG GAGATGGGGAGATGGAAGAACTGGAAGCTCTCT GGCTCACTGGCATTGTGCACAAT	cd13718: PBP2_iGluR_NMDA_ Nr2 (NCBI)
SEQ ID NO 68	ATGAGCACCATGCGCCTGCTGACGCTCGCCCTG CTGTTCTCCTGCTCCGTCGCCCCGTGCCGCGTG GACCCCAAGATCGTCAACATTGGCGCGGTGCTG AGCACGCGGAAGCACGAGCAGATGTTCCGCGAG GCCGTGAACCAGGCCAACAAGCGGCACGGCTCC TGGAAGATTCAGCTCAATGCCACCTCCGTCACGC ACAAGCCCAACGCCATCCAGATGGCTCTGTCTGG TGTGCGAGGACCTCATCTCCAGCCAGGTCTACG CCATCCTAGTTAGCCATCCACCTACCCCCAACGA CCACTTCACTCCCACCCCTGTCTCCTACACAGCC GGCTTCTACCGCATACCCGTGCTGGGGCTGACC ACCCGCATGTCCATCTACTCGGACAAGAGCATCC ACCTGAGCTTCTGCGCACCGTGCCGCCCTACT CCCACAGTCCAGCGTGTGTTTGAGATGATGC GTGTCTACAGCTGGAACCACATCATCCTGCTGGT CAGCGACGACCACGAGGGCCGGGCGGCTCAGA AACGCCTGGAGACGCTGCTGGAGGAGCGTGAGT CCAAGGCAGAGAAGGTGCTGCAGTTTGACCCAG GGACCAAGAACGTGACGGCCCTGCTGATGGAGG CGAAAGAGCTGGAGGCCCGGGTCATCATCCTTT CTGCCAGCGAGGACGATGCTGCCACTGTATACC GCGCAGCCGCGATGCTGAACATGACGGGCTCCG GGTACGTGTGGCTGGTCGGCGAGCGCGAGATCT CGGGGAACGCCCTGCGCTACGCCCCGGACGGC ATCCTCGGGCTGCAGCTCATCAACGGCAAGAAC GAGTCGGCCACATCAGCGACGCCGTAGGCGTG GTGGCCAGGGCCGTGCACGAGCTCCTCGAGAAG GAGAACATCACCGACCCGCCGCGGGGCTGCGT GGGCAACACCAACATCTGGAAGACCGGGCCGCT CTTCAAGAGAGTGCTGATGTCTTCAAGTATGCG GATGGGGTGACTGGTCGCGTGGAGTTCAATGAG GATGGGGACCGGAAGTTCGCCAACTACAGCATC ATGAACCTGCAGAACCGCAAGCTGGTGCAAGTG GGCATCTACAATGGCACCCACGTCATCCCTAATG	DNA seq of fusion protein #4 N1ecd- N2Becd-Fc

10

20

30

40

50

【表 2 - 1 4】

ACAGGAAGATCATCTGGCCAGGCGGAGAGACAG AGAAGCCTCGAGGGTACCAGATGTCCACCAGAC TGAAGATTGTGACGATCCACCAGGAGCCCTTCGT GTACGTCAAGCCCACGCTGAGTGATGGGACATG CAAGGAGGAGTTCACAGTCAACGGCGACCCAGT CAAGAAGGTGATCTGCACCGGGCCCAACGACAC GTCGCCGGGCAGCCCCCGCCACACGGTGCCTC AGTGTTGCTACGGCTTTTGCATCGACCTGCTCAT CAAGCTGGCACGGACCATGAACTTCACCTACGA GGTGACCTGGTGGCAGATGGCAAGTTCGGCAC ACAGGAGCGGGTGAACAACAGCAACAAGAAGGA GTGGAATGGGATGATGGGCGAGCTGCTCAGCGG GCAGGCAGACATGATCGTGGCGCCGCTAACCAT AAACAACGAGCGCGCGCAGTACATCGAGTTTTT CAAGCCCTTCAAGTACCAGGGCCTGACTATTCTG GTCAAGAAGGGCACC CGCATCACGGGCATCAAC GACCCCCGGCTGAGGAACCCCTCGGACAAGTTT ATCTACGCCACGGTGAAGCAGAGCTCCGTGGAT ATCTACTTCCGGCGCCAGGTGGAGCTGAGCACC ATGTACCGGCATATGGAGAAGCACAACTACGAG AGTGCGGCGGAGGCCATCCAGGCCGTGAGAGA CAACAAGCTGCATGCCTTCATCTGGGACTCGGC GGTGCTGGAGTTCGAGGCCCTCGCAGAAGTGCGA CCTGGTGACGACTGGAGAGCTGTTTTTCCGCTC GGGCTTCGGCATAGGCATGCGCAAAGACAGCCC CTGGAAGCAGAACGTCTCCCTGTCCATCCTCAAG TCCCACGAGAATGGCTTCATGGAAGACCTGGAC AAGACGTGGGTTCGGTATCAGGAATGTGACTCG GGGTCGACTGGTGGAGGAGGGTCTGGCGGAGG TGGTTCCGGGGGCGGAGGATCTGGGGCCGCTT CTAGACAGAAGAGCCCCCCCAGCATTGGCATTG CTGTCATCCTCGTGGGCACTTCCGACGAGGTGG CCATCAAGGATGCCACGAGAAAGATGATTTCCA CCATCTCTCCGTGGTACCCCGGGTGAACTGGT AGCCATGAATGAGACCGACCCAAAGAGCATCAT CACCCGCATCTGTGATCTCATGTCTGACCGGAAG ATCCAGGGGGTGGTGTGCTGATGACACAGAC CAGGAAGCCATCGCCCAGATCCTCGATTTTCATT CAGCACAGACTCTCACCCCGATCCTGGGCATCC ACGGGGGCTCCTCTATGATAATGGCAGATAAGG ATGAATCCTCCATGTTCTTCCAGTTTGGCCCATC AATTGAACAGCAAGCTTCCGTAATGCTCAACATC ATGGAAGAATATGACTGGTACATCTTTTCTATCGT CACCACCTATTTCCCTGGCTACCAGGACTTTGTA AACAAAGATCCGCAGCACCATTGAGAATAGCTTTG TGGGCTGGGAGCTAGAGGAGTCCCTCTACTGG	
--	--

10

20

30

40

50

【表 2 - 1 5】

	ACATGTCCCTGGACGATGGAGATTCTAAGATCCA GAATCAGCTCAAGAACTTCAAAGCCCCATCATT CTTCTTTACTGTACCAAGGAAGAAGCCACCTACA TCTTTGAAGTGGCCAACTCAGTAGGGCTGACTG GCTATGGCTACACGTGGATCGTGCCAGTCTGG TGGCAGGGGATACAGACACAGTGCCTGCGGAGT TCCCCACTGGGCTCATCTCTGTATCATATGATGA ATGGGACTATGGCCTCCCCGCCAGAGTGAGAGA TGGAATTGCCATAATCACCAGTCTGCTTCTGAC ATGCTGTCTGAGCACAGCTTCATCCCTGAGCCCA AAAGCAGTTGTTACAACACCCACGAGAAGAGAAT CTACCAGTCCAATATGCTAAATAGGTATCTGATC AATGTCACTTTTGAGGGGAGGAATTTGTCCTTCA GTGAAGATGGCTACCAGATGCACCCGAACTGG TGATAATTCTTCTGAACAAGGAGAGGAAGTGGGA AAGGGTGGGAAGTGGAAAGACAAGTCCCTGCA GATGAAGTACTATGTGTGGCCCCGAATGTGTCCA GAGACTGAAGAGCAGGAGGATGACCATCTGAGC ATTGTGACCCTGGAGGAGGCACCATTTGTCATTG TGGAAGTGTGGACCCTCTGAGTGGAACCTGCA TGAGGAACACAGTCCCCTGCCAAAAACGCATAGT CACTGAGAAATAAACAGACGAGGAGCCGGGTTA CATCAAAAAATGCTGCAAGGGGTTCTGTATTGAC ATCCTTAAGAAAATTTCTAAATCTGTGAAGTTCAC CTATGACCTTTACCTGGTTACCAATGGCAAGCAT GGGAAGAAAATCAATGGAACCTGGAATGGTATGA TTGGAGAGGTGGTCATGAAGAGGGCCTACATGG CAGTGGGCTCACTACCATCAATGAGGAACGAT CGGAGGTGGTCGACTTCTCTGTGCCCTTCATAGA GACAGGCATCAGTGTGATGGTGTACGCGGCAC CCAGGTTTCTGGCCTGAGCGACAAAAAGTTCCA GAGACCTAATGACTTCTCACCCCTTTCCGCTTT GGGACCGTGCCCAACGGCAGCACAGAGAGAAAT ATTGCAATAACTATGCAGAAATGCATGCCTACA TGGGAAAGTTCAACCAGAGGGGTGTAGATGATG CATTGCTCTCCCTGAAAACAGGGAACTGGATGC CTTCATCTATGATGCAGCAGTGTGAACTATATG GCAGGCAGAGATGAAGGCTGCAAGCTGGTGACC ATTGGCAGTGGGAAGGTCTTTGCTTCCACTGGCT ATGGCATTGCCATCCAAAAAGATTCTGGGTGGAA GCGCCAGGTGGACCTTGCTATCCTGCAGCTCTTT GGAGATGGGGAGATGGAAGAACTGGAAGCTCTC TGGCTCACTGGCATTGTGACAATGGCTCGAGCA CCATGGTTAGATCTAGCAAGCCCACGTGCCAC CCCCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCTGTCTTCA TCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGAT	
		10
		20
		30
		40

【表 2 - 1 6】

	CTCACGCACCCCCGAGGTCACATGCGTGGTGGT GGACGTGAGCCAGGATGACCCCGAGGTGCAGTT CACATGGTACATAAACACGAGCAGGTGCGCAC CGCCCGGCCGCCGCTACGGGAGCAGCAGTTCA ACAGCACGATCCGCGTGGTCAGCACCCCTCCCCA TCGCGCACCCAGGACTGGCTGAGGGGCAAGGAG TTCAAGTGCAAAGTCCACAACAAGGCACTCCCG GCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAGA GGGCAGCCCCCTGGAGCCGAAGGTCTACACCATG GGCCCTCCCCGGGAGGAGCTGAGCAGCAGGTC GGTCAGCCTGACCTGCATGATCAACGGCTTCTAC CCTTCCGACATCTCGGTGGAGTGGGAGAAGAAC GGGAAGGCAGAGGACAACCTACAAGACCACGCCG GCCGTGCTGGACAGCGACGGCTCCTACTTCCTC TACAGCAAGCTCTCAGTGCCACGAGTGAGTGG CAGCGGGGCGACGTCTTCACCTGCTCCGTGATG CACGAGGCCTTGACACAACCACTACACGCAGAAG TCCATCTCCCGCTCTCCGGGTAATGA	
SEQ ID NO 69	GGGTCGACTGGTGGAGGAGGGTCTGGCGGAGG TGGTTCGGGGGCGGAGGATCTGGGGCCGCTT CTAGA	Linker between a GluN1-domain and GluN2B-domain in a NMDAR construct of the invention, as for example in fusion protein #4 N1ecd- N2Becd-Fc or in fusion proteins #7, #8
SEQ ID NO 70	CAGAAGAGCCCCCCCAGCATTGGCATTGCTGTC ATCCTCGTGGGCACTTCCGACGAGGTGGCCATC AAGGATGCCACGAGAAAAGATGATTTCCACCATC TCTCCGTGGTACCCCGGGTGGAAGTGGTAGCCA TGAATGAGACCGACCCAAAGAGCATCATCAGCC GCATCTGTGATCTCATGTCTGACCGGAAGATCCA GGGGGTGGTGTGTTGCTGATGACACAGACCAGGA AGCCATCGCCAGATCCTCGATTTCAATTCAGCA CAGACTCTACCCCGATCCTGGGCATCCACGGG GGCTCCTCTATGATAATGGCAGATAAGGATGAAT CCTCCATGTTCTCCAGTTTGGCCCATCAATTGA ACAGCAAGCTTCCGTAATGCTCAACATCATGGAA GAATATGACTGGTACATCTTTTCTATCGTCACCAC CTATTTCCCTGGCTACCAGGACTTTGTAAACAAG ATCCGCAGCACCATTGAGAAAGCTTTGTGGGCT GGGAGCTAGAGGAGGTCCTCCTACTGGACATGT CCCTGGACGATGGAGATTCTAAGATCCAGAATCA GCTCAAGAACTTCAAAGCCCCATCATTTCTTTT ACTGTACCAAGGAAGAAGCCACCTACATCTTTGA	Amino terminal domain of GluN2B as for example used in fusion protein #4 N1ecd- N2Becd-Fc

10

20

30

40

50

【表 2 - 1 7】

	AGTGGCCAACTCAGTAGGGCTGACTGGCTATGG CTACACGTGGATCGTGCCAGTCTGGTGGCAGG GGATACAGACACAGTGCCTGCGGAGTTCCCCAC TGGGCTCATCTCTGTATCATATGATGAATGGGAC TATGGCCTCCCCGCCAGAGTGAGAGATGGAATT GCCATAATCACCCTGCTGCTTCTGACATGCTGT CTGAGCACAGCTTCATCCCTGAGCCCAAAGCA GTTGTTACAACACCCACGAGAAGAGAATCTACCA GTCCAATATGCTAAATAGGTATCTGATCAATGTCA CTTTTGAGGGGAGGAATTTGTCCTTCAGTGAAGA TGGCTACCAGATGCACCCGAACTGGTGATAATT CTTCTGAACAAGGAGAGGAAGTGGGAAAGGGTG GGGAAGTGGAAAGACAAGTCCCTGCAGATGAAG TACTATGTGTGGCCCCGAATGTGTCCAGAGACTG AAGAGCAG	
SEQ ID NO 71	ATGGGCAGAGTGGGCTATTGGACCCTGCTGGTG CTGCCGGCCCTTCTGGTCTGGCGCGGTCCGGC GCCGAGCGCGGCGGCGGAGAAGGGTCCCCCG CGCTAAATATTGCGGTGATGCTGGGTCACAGCC ACGACGTGACAGAGCGCGAACTTCGAACACTGT GGGGCCCCGAGCAGGCGGCGGGCTGCCCTG GACGTGAACGTGGTAGCTCTGCTGATGAACCGC ACCGACCCCAAGAGCCTCATCACGCACGTGTGC GACCTCATGTCCGGGGCACGCATCCACGGCCTC GTGTTTGGGACGACACGGACCAGGAGGCCGTA GCCCAGATGCTGGATTTTATCTCTCCACACCT TCGTCCCCTATTGGGCATTGATGGGGGCGCAT CTATGATCATGGCTGACAAGGATCCGACGTCTAC CTTCTCCAGTTTGGAGCGTCCATCCAGCAGCAA GCCACGGTCATGCTGAAGATCATGCAGGATTATG ACTGGCATGTCTTCTCCCTGGTGACCACTATCTT CCCTGGCTACAGGGAATTCATCAGCTTCGTCAAG ACCACAGTGGACAACAGCTTTGTGGGCTGGGAC ATGCAGAATGTGATCACACTGGACACTTCCTTTG AGGATGCAAAGACACAAGTCCAGCTGAAGAAGA TCCACTCTTCTGTATCTTGCTCTACTGTTCCAAA GACGAGGCTGTTCTCATTCTGAGTGAGGCCCGC TCCCTTGGCCTCACCGGGTATGATTTCTTCTGGA TTGTCCCAGCTTGGTCTCTGGGAACACGGAGC TCATCCCAAAGAGTTTCCATCGGGACTCATTTT TGTCTCTACGATGACTGGGACTACAGCCTGGA GGCGAGAGTGAGGGACGGCATTGGCATCCTAAC CACCGCTGCATCTTCTATGCTGGAGAAGTTCTCC TACATCCCCGAGGCCAAGGCCAGCTGCTACGGG CAGATGGAGAGGCCAGAGGTCCCGATGCACACC	DNA seq of fusion protein #5 N2A-ATD- Fc

10

20

30

40

50

【表 2 - 1 8】

	TTGCACCCATTTATGGTCAATGTTACATGGGATG GCAAAGACTTATCCTTCACTGAGGAAGGCTACCA GGTGCACCCCAGGCTGGTGGTGATTGTGCTGAA CAAAGACCGGGAATGGGAAAAGGTGGGCAAGTG GGAGAACCATACGCTGAGCCTGAGGCACGCCGT GTGGCCCAGGTACAAGTCCTTCTCCGACTGTGA GCCGGATGACAACCATCTCAGCATCGGCTCGAG CACCATGGTTAGATCTAGCAAGCCACGTGCCC ACCCCCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCTGTCTT CATCTTCCCCC AAAACCAAGGACACCCTCATG ATCTCACGCACCCCCGAGGTACATGCGTGGTG GTGGACGTGAGCCAGGATGACCCCGAGGTGCA GTTACATGGTACATAAACAACGAGCAGGTGCG CACCGCCCGGCCGCGCTACGGGAGCAGCAGT TCAACAGCACGATCCGCGTGGTCAGCACCCCTCC CCATCGCGCACCAGGACTGGCTGAGGGGCAAG GAGTTCAAGTGCAAAGTCCACAACAAGGCACTCC CGGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCA GAGGGCAGCCCCTGGAGCCGAAGGTCTACACCA TGGGCCCTCCCCGGGAGGAGCTGAGCAGCAGG TCGGTCAGCCTGACCTGCATGATCAACGGCTTCT ACCCCTTCGACATCTCGGTGGAGTGGGAGAAGA ACGGGAAGGCAGAGGACAACCTACAAGACCACGC CGGCCGTGCTGGACAGCGACGGCTCCTACTTCC TCTACAGCAAGCTCTCAGTGCCACGAGTGAGT GGCAGCGGGGCGACGTCTTCACTGCTCCGTGA TGCACGAGGCCTTGACAACCACTACACGCAGA AGTCCATCTCCGCTCTCCGGGTAATGA	
SEQ ID NO 72	ATGGGCAGAGTGGGCTATTGGACCCTGCTGGTG CTGCCGGCCCTTCTGGTCTGGCGCGGTCCGGC GCCGAGCGCGGCGGCGGAGAAGGGTCCCCCG CGCTAAATATTGCGGTGATGCTGGGTACAGCC ACGACGTGACAGAGCGCGAACTTCGAACACTGT GGGGCCCCGAGCAGGCGGCGGGCTGCCCTG GACGTGAACGTGGTAGCTCTGCTGATGAACCGC ACCGACCCAAGAGCCTCATCACGCACGTGTGC GACCTCATGTCCGGGGCACGCATCCACGGCCTC GTGTTTGGGACGACACGGACCAGGAGGCCGTA GCCCAGATGCTGGATTTATCTCCTCCACACCT TCGTCCCCTCTTGGGCATTGATGGGGGCGCAT CTATGATCATGGCTGACAAGGATCCGACGTCTAC CTTCTTCCAGTTTGGAGCGTCCATCCAGCAGCAA GCCACGGTCATGCTGAAGATCATGCAGGATTATG ACTGGCATGTCTTCTCCCTGGTGACCACTATCTT CCCTGGCTACAGGGAATTCATCAGCTTCGTCAAG	Amino terminal domain of GluN2A (including signal sequence)

10

20

30

40

50

【表 2 - 1 9】

	ACCACAGTGGACAACAGCTTTGTGGGCTGGGAC ATGCAGAATGTGATCACACTGGACACTTCCTTTG AGGATGCAAAGACACAAGTCCAGCTGAAGAAGA TCCACTCTTCTGTCATCTTGCTCTACTGTTCCAAA GACGAGGCTGTTCTCATTCTGAGTGAGGCCCGC TCCCTTGGCCTCACCAGGTATGATTTCTTCTGGA TTGTCCCCAGCTTGGTCTCTGGGAACACGGAGC TCATCCCCAAAGAGTTTCCATCGGGACTCATTTT TGTCTCTACGATGACTGGGACTACAGCCTGGA GGCGAGAGTGAGGGACGGCATTGGCATCCTAAC CACCGCTGCATCTTCTATGCTGGAGAAGTTCTCC TACATCCCCGAGGCCAAGGCCAGCTGCTACGGG CAGATGGAGAGGCCAGAGGTCCCGATGCACACC TTGCACCCATTTATGGTCAATGTTACATGGGATG GCAAAGACTTATCCTTCACTGAGGAAGGCTACCA GGTGCACCCAGGCTGGTGGTGATTGTGCTGAA CAAAGACCGGGAATGGGAAAAGGTGGGCAAGTG GGAGAACCATACGCTGAGCCTGAGGCACGCCGT GTGGCCCAGGTACAAGTCCTTCTCCGACTGTGA GCCGGATGACAACCATCTCAGCATC	
SEQ ID NO 73	CCCGCGCTAAATATTGCGGTGATGCTGGGTCA AGCCACGACGTGACAGAGCGCGAACTTCGAACA CTGTGGGGCCCCGAGCAGGCGCGGGGCTGCC CCTGGACGTGAACGTGGTAGCTCTGCTGATGAA CCGCACCGACCCCAAGAGCCTCATCACGCACGT GTGCGACCTCATGTCCGGGGCACGCATCCACGG CCTCGTGTTTGGGGACGACACGGACCAGGAGGC CGTAGCCCAGATGCTGGATTTTATCTCCTCCAC ACCTTCGTCCCCATCTTGGGCATTCATGGGGGC GCATCTATGATCATGGCTGACAAGGATCCGACGT CTACCTTCTTCCAGTTTGGAGCGTCCATCCAGCA GCAAGCCACGGTCATGCTGAAGATCATGCAGGA TTATGACTGGCATGTCTTCTCCCTGGTGACCACT ATCTTCCCTGGCTACAGGGAATTCATCAGCTTCG TCAAGACCACAGTGGACAACAGCTTTGTGGGCT GGGACATGCAGAATGTGATCACACTGGACACTTC CTTTGAGGATGCAAAGACACAAGTCCAGCTGAAG AAGATCCACTCTTCTGTCATCTTGCTCTACTGTT CAAAGACGAGGCTGTTCTCATTCTGAGTGAGGC CCGCTCCCTTGGCCTCACCAGGTATGATTTCTT TGGATTGTCCCCAGCTTGGTCTCTGGGAACACG GAGCTCATCCCCAAAGAGTTTCCATCGGGACTCA TTTCTGTCTCTACGATGACTGGGACTACAGCCT GGAGGCGAGAGTGAGGGACGGCATTGGCATCCT AACCACCGCTGCATCTTCTATGCTGGAGAAGTTC	Amino terminal domain of GluN2A in NM_001134407 with domain borders as in cd06378; PBP1_iGluR_NMDA_ NR2 (NCBI)

10

20

30

40

50

【表 2 - 2 0】

	TCCTACATCCCCGAGGCCAAGGCCAGCTGCTAC GGGCAGATGGAGAGGCCAGAGGTCCCGATGCA CACCTTGACCCATTATGGTCAATGTTACATGG GATGGCAAAGACTTATCCTTCACTGAGGAAGGCT ACCAGGTGCACCCAGGCTGGTGGTGATTGTGC TGAACAAAGACCGGAATGGGAAAAGGTGGGCA AGTGGGAGAACCATACGCTGAGCCTGAGGCACG CCGTGTGGCCAGGACGCTCGCCCTGCTGTTCT CCTGCTCCGTGCCCCGTGCCGCGTGCGACCCCA AGATCGTCAACATTGGCGCGGTGCTGAGCACGC GGAAGCACGAGCAGATGTTCCGCGAGGCCGTGA ACCAGGCCAACAAGCGGCACGGCTCCTGGAAGA TTCAGCTCAATGCCACCTCCGTACGCACAAGCC CAACGCCATCCAGATGGCTCTGTCCGTGTGCGA GGACCTCATCTCCAGCCAGGTCTACGCCATCCTA GTTAGCCATCCACCTACCCCAACGACCACTTCA CTCCACCCCTGTCTCCTACACAGCCGGCTTCTA CCGCATACCCGTGCTGGGGCTGACCACCCGCAT GTCCATCTACTCGGACAAGAGCATCCACCTGAG CTTCCTGCGCACCGTGCCGCCCTACTCCCACCA GTCCAGCGTGTGGTTTGAGATGATGCGTGTCTAC AGCTGGAACCACATCATCCTGCTGGTCAGCGAC GACCACGAGGGCCGGGCGGCTCAGAAACGCCT GGAGACGCTGCTGGAGGAGCGTGAGTCCAAGG CAGAGAAGGTGCTGCAGTTTGACCCAGGGACCA AGAACGTGACGGCCCTGCTGATGGAGGCGAAAG AGCTGGAGGCCCCGGGTATCATCCTTTCTGCCA GCGAGGACGATGCTGCCACTGTATACCGCGCAG CCGCGATGCTGAACATGACGGGCTCCGGGTACG TGTGGCTGGTCGGCGAGCGCGAGATCTCGGGG AACGCCCTGCGCTACGCCCCAGACGGCATCCTC GGGCTGCAGCTCATCAACGGCAAGAACGAGTCG GCCCACATCAGCGACGCCGTGGGCGTGGTGGC CCAGGCCGTGCACGAGCTCCTCGAGAAGGAGAA CATCACCGACCCGCCGCGGGGCTGCGTGGGCA ACACCAACATCTGGAAGACCGGGCCGCTCTTCA AGAGAGTGCTGATGTCTTCCAAGTATGCGGATG GGGTGACTGGTCGCGTGGAGTTCAATGAGGATG GGGACCGGAAGTTCCGCAACTACAGCATCATGA ACCTGCAGAACCGCAAGCTGGTGCAAGTGGGCA TCTACAATGGCACCCACGTATCCCTAATGACAG GAAGATCATCTGGCCAGGC	
SEQ ID NO 74	ATGAAGCCCAGAGCGGAGTGCTGTTCTCCCAAG TTCTGGTTGGTGTGGCCGTCTGGCCGTGTCA GGCAGCAGAGCTCGTTCTCAGAAGAGCCCCCCC	DNA seq of fusion protein #6 N2B-ATD- Fc

10

20

30

40

50

【表 2 - 2 1】

AGCATTGGCATTGCTGTCATCCTCGTGGGCACTT CCGACGAGGTGGCCATCAAGGATGCCCACGAGA AAGATGATTTCCACCATCTCTCCGTGGTACCCCG GGTGGAACTGGTAGCCATGAATGAGACCGACCC AAAGAGCATCATCACCCGCATCTGTGATCTCATG TCTGACCGGAAGATCCAGGGGGTGGTGTGTTGCT GATGACACAGACCAGGAAGCCATCGCCCAGATC CTCGATTTCATTTACGACAGACTCTCACCCCGA TCCTGGGCATCCACGGGGGCTCCTCTATGATAAT GGCAGATAAGGATGAATCCTCCATGTTCTTCCAG TTTGGCCCATCAATTGAACAGCAAGCTTCCGTAA TGCTCAACATCATGGAAGAATATGACTGGTACAT CTTTTCTATCGTCACCACCTATTTCCCTGGCTACC AGGACTTTGTAAACAAGATCCGCAGCACCATTGA GAATAGCTTTGTGGGCTGGGAGCTAGAGGAGGT CCTCCTACTGGACATGTCCCTGGACGATGGAGA TTCTAAGATCCAGAATCAGCTCAAGAACTTCAA AGCCCCATCATTCTTCTTTACTGTACCAAGGAAG AAGCCACCTACATCTTTGAAGTGGCCAACTCAGT AGGGCTGACTGGCTATGGCTACACGTGGATCGT GCCCAGTCTGGTGGCAGGGGATACAGACACAGT GCCTGCGGAGTTCCTCCACTGGGCTCATCTCTGT ATCATATGATGAATGGGACTATGGCCTCCCCGCC AGAGTGAGAGATGGAATTGCCATAATCACCCTG CTGCTTCTGACATGCTGTCTGAGCACAGCTTCAT CCCTGAGCCCCAAAAGCAGTTGTTACAACACCCAC GAGAAGAGAATCTACCAGTCCAATATGCTAAATA GGTATCTGATCAATGTCACTTTTGAGGGGAGGAA TTTGTCTTCAGTGAAGATGGCTACCAGATGCAC CCGAAACTGGTGATAATTCTTCTGAACAAGGAGA GGAAGTGGGAAAGGGTGGGGAAGTGGAAAGAC AAGTCCCTGCAGATGAAGTACTATGTGTGGCCCC GAATGTGTCCAGAGACTGAAGAGCAGGAGGATG ACCATCTGAGCATTGGCTCGAGCACCATGGTTAG ATCTAGCAAGCCCACGTGCCACCCCTGAACT CCTGGGGGGACCGTCTGTCTTCATCTTCCCCC AAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCACGCACC CCCGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGC CAGGATGACCCCGAGGTGCAGTTCACATGGTAC ATAAACAACGAGCAGGTGCGCACCGCCCGGCCG CCGCTACGGGAGCAGCAGTTCAACAGCACGATC CGCGTGGTCAGCACCTCCCCATCGCGCACCAG GACTGGCTGAGGGGCAAGGAGTTCAAGTGCAA GTCCACAACAAGGCACTCCCGGCCCCCATCGAG AAAACCATCTCAAAGCCAGAGGGCAGCCCTG GAGCCGAAGGTCTACACCATGGGCCCTCCCCGG	
--	--

10

20

30

40

50

【表 2 - 2 2】

	GAGGAGCTGAGCAGCAGGTCGGTCAGCCTGACC TGCATGATCAACGGCTTCTACCCCTCCGACATCT CGGTGGAGTGGGAGAAGAACGGGAAGGCAGAG GACAAC TACAAGACCACGCCGGCCGTGCTGGAC AGCGACGGCTCCTACTTCTCTACAGCAAGCTCT CAGTGCCACGAGTGAGTGGCAGCGGGGCGAC GTCTTACCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCTTG CACAACCACTACACGCAGAAGTCCATCTCCCGCT CTCCGGGTAAATGA	
SEQ ID NO 75	ATGAAGCCCAGAGCGGAGTGCTGTTCTCCCAAG TTCTGGTTGGTGTGGCCGTCCTGGCCGTGTCA GGCAGCAGAGCTCGTTCTCAGAAGAGCCCCCCC AGCATTGGCATTGCTGTCATCCTCGTGGGCACTT CCGACGAGGTGGCCATCAAGGATGCCACGAGA AAGATGATTTCCACCATCTCTCCGTGGTACCCCG GGTGGAAGTGGTAGCCATGAATGAGACCGACCC AAAGAGCATCATCACCCGCATCTGTGATCTCATG TCTGACCGGAAGATCCAGGGGGTGGTGTGTTGCT GATGACACAGACCAGGAAGCCATCGCCAGATC CTCGATTTCATTTACGACAGACTCTCACCCCGA TCCTGGGCATCCACGGGGGCTCCTCTATGATAAT GGCAGATAAGGATGAATCCTCCATGTTCTTCCAG TTTGGCCCATCAATTGAACAGCAAGCTTCCGTAA TGCTCAACATCATGGAAGAATATGACTGGTACAT CTTTTCTATCGTCACCACCTATTTCCCTGGCTACC AGGACTTTGTAAACAAGATCCGCAGCACCATTGA GAATAGCTTTGTGGGCTGGGAGCTAGAGGAGGT CCTCCTACTGGACATGTCCCTGGACGATGGAGA TTCTAAGATCCAGAATCAGCTCAAGAACTTCAA AGCCCCATCATTCTTCTTTACTGTACCAAGGAAG AAGCCACCTACATCTTTGAAGTGGCCAACTCAGT AGGGCTGACTGGCTATGGCTACACGTGGATCGT GCCCAGTCTGGTGGCAGGGGATACAGACACAGT GCCTGCGGAGTTCCCCACTGGGCTCATCTCTGT ATCATATGATGAATGGGACTATGGCCTCCCCGCC AGAGTGAGAGATGGAATTGCCATAATCACCCTG CTGCTTCTGACATGCTGTCTGAGCACAGCTTCAT CCCTGAGCCCCAAAAGCAGTTGTTACAACACCCAC GAGAAGAGAATCTACCAGTCCAATATGCTAAATA GGTATCTGATCAATGTCACTTTTGAGGGGAGGAA TTTGTCCCTCAGTGAAGATGGCTACCAGATGCAC CCGAAACTGGTGATAATTCTTCTGAACAAGGAGA GGAAGTGGGAAAGGGTGGGGAAGTGGAAAGAC AAGTCCCTGCAGATGAAGTACTATGTGTGGCCCC	Amino terminal domain of GluN2B (including signal sequence) as for example used in fusion protein #6

10

20

30

40

50

【表 2 - 2 3】

	GAATGTGTCCAGAGACTGAAGAGCAGGAGGATG ACCATCTGAGCATT	
SEQ ID NO 76	ATGAGCACCATGCGCCTGCTGACGCTCGCCCTG CTGTTCTCCTGCTCCGTGCCCCGTGCCGCGTGC GACCCCAAGATCGTCAACATTGGCGCGGTGCTG AGCACGCGGAAGCACGAGCAGATGTTCCGCGAG GCCGTGAACCAGGCCAACAAGCGGCACGGCTCC TGGAAGATTCAGCTCAATGCCACCTCCGTACGCG ACAAGCCCAACGCCATCCAGATGGCTCTGTCGG TGTGCGAGGACCTCATCTCCAGCCAGGTCTACG CCATCCTAGTTAGCCATCCACCTACCCCCAACGA CCACTTCACTCCCACCCCTGTCTCCTACACAGCC GGCTTCTACCGCATACCCGTGCTGGGGCTGACC ACCCGCATGTCCATCTACTCGGACAAGAGCATCC ACCTGAGCTTCCTGCGCACCGTGCCGCCCTACT CCCACCAGTCCAGCGTGTGGTTTGAGATGATGC GTGTCTACAGCTGGAACCACATCATCCTGCTGGT CAGCGACGACCACGAGGGCCGGGCGGCTCAGA AACGCCTGGAGACGCTGCTGGAGGAGCGTGAGT CCAAGGCAGAGAAGGTGCTGCAGTTTGACCCAG GGACCAAGAACGTGACGGCCCTGCTGATGGAGG CGAAAGAGCTGGAGGCCCGGGTCATCATCCTTT CTGCCAGCGAGGACGATGCTGCCACTGTATACC GCGCAGCCGCGATGCTGAACATGACGGGCTCCG GGTACGTGTGGCTGGTCGGCGAGCGCGAGATCT CGGGGAACGCCCTGCGCTACGCCCCGGACGGC ATCCTCGGGCTGCAGCTCATCAACGGCAAGAAC GAGTCGGCCACATCAGCGACGCCGTAGGCGTG GTGGCCAGGCCGTGCACGAGCTCCTCGAGAAG GAGAACATCACCGACCCGCCGCGGGGCTGCGT GGGCAACACCAACATCTGGAAGACCGGGCCGCT CTTCAAGAGAGTGCTGATGTCTTCCAAGTATGCG GATGGGGTGACTGGTCGCGTGGAGTTCAATGAG GATGGGGACCGGAAGTTCGCCAACTACAGCATC ATGAACCTGCAGAACCGCAAGCTGGTGCAAGTG GGCATCTACAATGGCACCCACGTCATCCCTAATG ACAGGAAGATCATCTGGCCAGGCGGAGAGACAG AGAAGCCTCGAGGGTACCAGATGTCCACCAGAC TGAAGATTGGGTCGACTGGTGGAGGAGGGTCTG GCGGAGGTGGTTCCGGGGGCGGAGGATCTGGG GCCGCTTCTAGAGAGAAGGGTCCCCCGCGCTA AATATTGCGGTGATGCTGGGTCACAGCCACGAC GTGACAGAGCGCGAACTTCGAACACTGTGGGGC CCCGAGCAGGCGGCGGGGCTGCCCTGGACGT GAACGTGGTAGCTCTGCTGATGAACCGCACCGA	DNA seq of fusion protein #7 N1-ATD- N2A-ATD-Fc

10

20

30

40

50

CCCCAAGAGCCTCATCAGCAGCTGCGACCT CATGTCCGGGGACGCATCCACGGCCTCGTGTT TGGGGACGACACGGACCAGGAGCCGTAGCCC AGATGCTGGATTTTATCTCCTCCCACACCTTCGT CCCCATCTTGGGCATTTCATGGGGGCGCATCTAT GATCATGGCTGACAAGGATCCGACGTCTACCTTC TTCCAGTTTGGAGCGTCCATCCAGCAGCAAGCC ACGGTCATGCTGAAGATCATGCAGGATTATGACT GGCATGTCTTCTCCCTGGTGACCACTATCTTCCC TGGCTACAGGGAATTCATCAGCTTCGTCAAGACC ACAGTGGACAACAGCTTTGTGGGCTGGGACATG CAGAATGTGATCACACTGGACACTTCCTTTGAGG ATGCAAAGACACAAGTCCAGCTGAAGAAGATCCA CTCTTCTGTATCTTGCTCTACTGTTCCAAAGAC GAGGCTGTTCTCATTCTGAGTGAGGCCCGCTCC CTTGGCCTCACCGGGTATGATTTCTTCTGGATTG TCCCCAGCTTGGTCTCTGGGAACACGGAGCTCA TCCCAAAGAGTTTCCATCGGGACTCATTTCTGT CTCCTACGATGACTGGGACTACAGCCTGGAGGC GAGAGTGAGGGACGGCATTGGCATCCTAACCAC CGCTGCATCTTCTATGCTGGAGAAGTTCTCCTAC ATCCCCGAGGCCAAGGCCAGCTGCTACGGGCAG ATGGAGAGGCCAGAGGTCCCGATGCACACCTTG CACCCATTTATGGTCAATGTTACATGGGATGGCA AAGACTTATCCTTCACTGAGGAAGGCTACCAGGT GCACCCCAGGCTGGTGGTGATTGTGCTGAACAA AGACCGGGAATGGGAAAAGGTGGGCAAGTGGG AGAACCATACGCTGAGCCTGAGGCACGCCGTGT GGCCCAGGTACAAGTCCTTCTCCGACTGTGAGC CGGATGACAACCATCTCAGCATCGGCTCGAGCA CCATGGTTAGATCTAGCAAGCCCACGTGCCAC CCCCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCTGTCTTCA TCTTCCCCC AAAACCC AAGGACACCCTCATGAT CTCACGCACCCCCGAGGTTCATGCGTGGTGGT GGACGTGAGCCAGGATGACCCCGAGGTGCAGTT CACATGGTACATAAACCAACGAGCAGGTGCGCAC CGCCCGGCCGCGCTACGGGAGCAGCAGTTCA ACAGCACGATCCGCGTGGTCAGCACCCCTCCCCA TCGCGCACCAAGGACTGGCTGAGGGGCAAGGAG TTCAAGTGCAAAGTCCACAACAAGGCACTCCCG GCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAGA GGGCAGCCCCTGGAGCCGAAGGTCTACACCATG GGCCCTCCCCGGGAGGAGCTGAGCAGCAGGTC GGTCAGCCTGACCTGCATGATCAACGGCTTCTAC CCTTCCGACATCTCGGTGGAGTGGGAGAAGAAC GGGAAGGCAGAGGACAAC TACAAGACCACGCCG
--

40

【表 2 - 2 5】

	GCCGTGCTGGACAGCGACGGCTCCTACTTCCTC TACAGCAAGCTCTCAGTGCCACGAGTGAGTGG CAGCGGGGCGACGTCTTCACCTGCTCCGTGATG CACGAGGCCTTGACACAACCACTACACGCAGAAG TCCATCTCCCGCTCTCCGGGTAAATGA	
SEQ ID NO 77	ATGAGCACCATGCGCCTGCTGACGCTCGCCCTG CTGTTCTCCTGCTCCGTGCCCCGTGCCGCGTGC GACCCCAAGATCGTCAACATTGGCGCGGTGCTG AGCACGCGGAAGCACGAGCAGATGTTCCGCGAG GCCGTGAACCAGGCCAACAAAGCGGCACGGCTCC TGGAAGATTCAGCTCAATGCCACCTCCGTACGCG ACAAGCCCCAACGCCATCCAGATGGCTCTGTCCG TGTGCGAGGACCTCATCTCCAGCCAGGTCTACG CCATCCTAGTTAGCCATCCACCTACCCCCAACGA CCACTTCACTCCCACCCCTGTCTCCTACACAGCC GGCTTCTACCGCATACCCGTGCTGGGGCTGACC ACCCGCATGTCCATCTACTCGGACAAGAGCATCC ACCTGAGCTTCCTGCGCACCGTGCCGCCCTACT CCCACCACTCCAGCGTGTGGTTTGAGATGATGC GTGTCTACAGCTGGAACCACATCATCCTGCTGGT CAGCGACGACCACGAGGGCCGGGCGGCTCAGA AACGCCTGGAGACGCTGCTGGAGGAGCGTGAGT CCAAGGCAGAGAAGGTGCTGCAGTTTGACCCAG GGACCAAGAACGTGACGGCCCTGCTGATGGAGG CGAAAGAGCTGGAGGCCCGGGTCATCATCCTTT CTGCCAGCGAGGACGATGCTGCCACTGTATACC GCGCAGCCGCGATGCTGAACATGACGGGCTCCG GGTACGTGTGGCTGGTCGGCGAGCGCGAGATCT CGGGGAACGCCCTGCGCTACGCCCCGGACGGC ATCCTCGGGCTGCAGCTCATCAACGGCAAGAAC GAGTCGGCCACATCAGCGACGCCGTAGGCGTG GTGGCCCAAGGCCGTGCACGAGCTCCTCGAGAAG GAGAACATCACCGACCCGCCGCGGGGCTGCGT GGGCAACACCAACATCTGGAAGACCGGGCCGCT CTTCAAGAGAGTGCTGATGTCTTCCAAGTATGCG GATGGGGTGA CTGGTCGCGTGGAGTTCAATGAG GATGGGGACCGAAGTTCGCCAACTACAGCATC ATGAACCTGCAGAACCGCAAGCTGGTGCAAGTG GGCATCTACAATGGCACCCACGTCATCCCTAATG ACAGGAAGATCATCTGGCCAGGCGGAGAGACAG AGAAGCCTCGAGGGTACCAGATGTCCACCAGAC TGAAGATT	Amino terminal domain of GluN1 (including signal sequence) as for example used in fusion protein #7

10

20

30

40

50

【表 2 - 2 6】

SEQ ID NO 78	GAGAAGGGTCCCCCGCGCTAAATATTGCGGTG ATGCTGGGTACAGCCACGACGTGACAGAGCGC GAACTTCGAACACTGTGGGGCCCCGAGCAGGCG GCGGGGCTGCCCCCTGGACGTGAACGTGGTAGCT CTGCTGATGAACCGCACCGACCCCAAGAGCCTC ATCACGCACGTGTGCGACCTCATGTCCGGGGCA CGCATCCACGGCCTCGTGTGGGGACGACACG GACCAGGAGGCCGTAGCCCAGATGCTGGATTTT ATCTCCTCCACACCTTCGTCCCCATCTTGGGCA TTCATGGGGGCGCATCTATGATCATGGCTGACAA GGATCCGACGTCTACCTTCTCCAGTTTGGAGCG TCCATCCAGCAGCAAGCCACGGTCATGCTGAAG ATCATGCAGGATTATGACTGGCATGTCTTCTCCC TGGTGACCACTATCTTCCCTGGCTACAGGGAATT CATCAGCTTCGTCAAGACCACAGTGGACAACAG CTTTGTGGGCTGGGACATGCAGAATGTGATCACA CTGGACACTTCCTTTGAGGATGCAAAGACACAAG TCCAGCTGAAGAAGATCCACTCTTCTGTCTATT GCTCTACTGTTCAAAGACGAGGCTGTTCTCATT CTGAGTGAGGCCCGCTCCCTTGGCCTCACCGGG TATGATTTCTTCTGGATTGTCCCCAGCTTGGTCT CTGGGAACACGGAGCTCATCCCAAAAGAGTTTC CATCGGGACTCATTTCTGTCTCCTACGATGACTG GGACTACAGCCTGGAGGCGAGAGTGAGGGACG GCATTGGCATCCTAACCACCGCTGCATCTTCTAT GCTGGAGAAGTTCTCCTACATCCCCGAGGCCAA GGCCAGCTGCTACGGGCAGATGGAGAGGCCAG AGGTCCCGATGCACACCTTGACCCATTATGGT CAATGTTACATGGGATGGCAAAGACTTATCCTTC ACTGAGGAAGGCTACCAGGTGCACCCCAGGCTG GTGGTGATTGTGCTGAACAAAGACCGGGAATGG GAAAAGGTGGGCAAGTGGGAGAACCATACGCTG AGCCTGAGGCACGCCGTGTGGCCAGGTACAAG TCCTTCTCCGACTGTGAGCCGGATGACAACCATC TCAGCATC	Amino terminal domain of GluN2A as for example used in fusion protein #7
SEQ ID NO 79	ATGAGCACCATGCGCCTGCTGACGCTCGCCCTG CTGTTCTCCTGCTCCGTCGCCCCGTGCCGCGTGC GACCCCAAGATCGTCAACATTGGCGCGGTGCTG AGCACGCGGAAGCACGAGCAGATGTTCCGCGAG GCCGTGAACCAGGCCAACAAGCGGCACGGCTCC TGGAAGATTCAGCTCAATGCCACCTCCGTACACGC ACAAGCCCAACGCCATCCAGATGGCTCTGTCTGG TGTGCGAGGACCTCATCTCCAGCCAGGTCTACG CCATCCTAGTTAGCCATCCACCTACCCCCAACGA	DNA seq of fusion protein #8 N1-ATD- N2B-ATD-Fc

10

20

30

40

50

【表 2 - 2 7】

	CCACTTCACTCCCACCCCTGTCTCCTACACAGCC GGCTTCTACCGCATACCCGTGCTGGGGCTGACC ACCCGCATGTCCATCTACTCGGACAAGAGCATCC ACCTGAGCTTCTGCGCACCGTGCCGCCCTACT CCCACCAGTCCAGCGTGTGGTTTGAGATGATGC GTGTCTACAGCTGGAACCACATCATCCTGCTGGT CAGCGACGACCACGAGGGCCGGGCGGCTCAGA AACGCCTGGAGACGCTGCTGGAGGAGCGTGAGT CCAAGGCAGAGAAGGTGCTGCAGTTTGACCCAG GGACCAAGAACGTGACGGCCCTGCTGATGGAGG CGAAAGAGCTGGAGGCCCGGGTCATCATCCTTT CTGCCAGCGAGGACGATGCTGCCACTGTATACC GCGCAGCCGCGATGCTGAACATGACGGGCTCCG GGTACGTGTGGCTGGTCGGCGAGCGCGAGATCT CGGGGAACGCCCTGCGCTACGCCCCGGACGGC ATCCTCGGGCTGCAGCTCATCAACGGCAAGAAC GAGTCGGCCACATCAGCGACGCCGTAGGCGTG GTGGCCAGGCCGTGCACGAGCTCCTCGAGAAG GAGAACATCACCGACCCGCCGCGGGGCTGCGT GGGCAACACCAACATCTGGAAGACCGGGCCGCT CTTCAAGAGAGTGCTGATGTCTTCCAAGTATGCG GATGGGGTGACTGGTCGCGTGAGTTCAATGAG GATGGGGACCGGAAGTTCGCCAACTACAGCATC ATGAACCTGCAGAACCGCAAGCTGGTGCAAGTG GGCATCTACAATGGCACCCACGTCATCCCTAATG ACAGGAAGATCATCTGGCCAGGCGGAGAGACAG AGAAGCCTCGAGGGTACCAGATGTCCACCAGAC TGAAGATTGGGTCGACTGGTGGAGGAGGGTCTG GCGGAGGTGGTTCCGGGGGCGGAGGATCTGGG GCCGCTTCTAGACAGAAGAGCCCCCCCAGCATT GGCATTGCTGTCATCCTCGTGGGCACTTCCGAC GAGGTGGCCATCAAGGATGCCACGAGAAAGAT GATTTCACCATCTCTCCGTGGTACCCCGGGTG GAACTGGTAGCCATGAATGAGACCGACCCAAAG AGCATCATCACCCGCATCTGTGATCTCATGTCTG ACCGGAAGATCCAGGGGGTGGTGTGTTGCTGATG ACACAGACCAGGAAGCCATCGCCAGATCCTCG ATTTCAATTCAGCACAGACTCTCACCCCGATCCT GGGCATCCACGGGGGCTCCTCTATGATAATGGC AGATAAGGATGAATCCTCCATGTTCTTCCAGTTT GGCCCATCAATTGAACAGCAAGCTTCGTAATGC TCAACATCATGGAAGAATATGACTGGTACATCTTT TCTATCGTCACCACCTATTTCCCTGGCTACCAGG ACTTTGTAACAAGATCCGACGACCATTGAGAA TAGCTTTGTGGGCTGGGAGCTAGAGGAGGTCCT CCTACTGGACATGTCCCTGGACGATGGAGATTCT	
--	---	--

10

20

30

40

50

【表 2 - 2 8】

	AAGATCCAGAATCAGCTCAAGAACTTCAAAGCC CCATCATTCTTCTTTACTGTACCAAGGAAGAAGC CACCTACATCTTTGAAGTGGCCAACCTCAGTAGGG CTGACTGGCTATGGCTACACGTGGATCGTGCCC AGTCTGGTGGCAGGGGATACAGACACAGTGCCT GCGGAGTTCCCCACTGGGCTCATCTCTGTATCAT ATGATGAATGGGACTATGGCCTCCCCGCCAGAG TGAGAGATGGAATTGCCATAATCACCAGTGTGC TTCTGACATGCTGTCTGAGCACAGCTTCATCCCT GAGCCCAAAAGCAGTTGTTACAACACCCACGAG AAGAGAATCTACCAGTCCAATATGCTAAATAGGT ATCTGATCAATGTCACTTTTGAGGGGAGGAATTT GTCCTTCAGTGAAGATGGCTACCAGATGCACCC GAAACTGGTGATAATTCTTCTGAACAAGGAGAGG AAGTGGGAAAGGGTGGGGAAGTGGAAAGACAAG TCCCTGCAGATGAAGTACTATGTGTGGCCCCGAA TGTGTCCAGAGACTGAAGAGCAGGAGGATGACC ATCTGAGCATTGGCTCGAGCACCATGGTTAGATC TAGCAAGCCACGTGCCACCCCTGAACTCCT GGGGGGACCGTCTGTCTTCATCTTCCCCCAAA ACCCAAGGACACCCTCATGATCTCACGCACCCC CGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCA GGATGACCCCGAGGTGCAGTTCACATGGTACAT AAACAACGAGCAGGTGCGCACCGCCCGGCCGC CGCTACGGGAGCAGCAGTTCAACAGCACGATCC GCGTGGTCAGCACCCCTCCCCATCGCGCACCCAGG ACTGGCTGAGGGGCAAGGAGTTCAAGTGCAAAG TCCACAACAAGGCACTCCCGGCCCCCATCGAGA AAACCATCTCCAAAGCCAGAGGGCAGCCCCTGG AGCCGAAGGTCTACACCATGGGCCCTCCCCGGG AGGAGCTGAGCAGCAGGTGCGTCAGCCTGACCT GCATGATCAACGGCTTCTACCCCTCCGACATCTC GGTGGAGTGGGAGAAGAACGGGAAGGCAGAGG ACAACCTACAAGACCACGCCGGCCGTGCTGGACA GCGACGGCTCCTACTTCTCTACAGCAAGCTCTC AGTCCCCACGAGTGAGTGGCAGCGGGGCGACG TCTTCACCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCTTGCA CAACCACTACACGCAGAAGTCCATCTCCCGCTCT CCGGGTAAATGA	
SEQ ID NO 80	ATGAGCACCATGCGCCTGCTGACGCTCGCCCTG CTGTTCTCCTGCTCCGTGCGCCGTGCCGCGTGC GACCCCAAGATCGTCAACATTGGCGCGGTGCTG AGCACGCGGAAGCACGAGCAGATGTTCCGCGAG GCCGTGAACCAGGCCAACAAGCGGCACGGCTCC TGGAAGATTCAGCTCAATGCCACCTCCGTCACGC	Amino terminal domain of GluN1 (including signal sequence) as used for example in fusion protein #8

10

20

30

40

50

【表 2 - 2 9】

	ACAAGCCCAACGCCATCCAGATGGCTCTGTCGG TGTGCGAGGACCTCATCTCCAGCCAGGTCTACG CCATCCTAGTTAGCCATCCACCTACCCCCAACGA CCACTTCACTCCCACCCCTGTCTCCTACACAGCC GGCTTCTACCGCATACCCGTGCTGGGGCTGACC ACCCGCATGTCCATCTACTCGGACAAGAGCATCC ACCTGAGCTTCCTGCGCACCGTGCCGCCCTACT CCCACCAGTCCAGCGTGTGGTTTGAGATGATGC GTGTCTACAGCTGGAACCACATCATCCTGCTGGT CAGCGACGACCACGAGGGCCGGGCGGCTCAGA AACGCCTGGAGACGCTGCTGGAGGAGCGTGAGT CCAAGGCAGAGAAGGTGCTGCAGTTTGACCCAG GGACCAAGAACGTGACGGCCCTGCTGATGGAGG CGAAAGAGCTGGAGGCCCGGGTCATCATCCTTT CTGCCAGCGAGGACGATGCTGCCACTGTATACC GCGCAGCCGCGATGCTGAACATGACGGGCTCCG GGTACGTGTGGCTGGTGGCGAGCGCGAGATCT CGGGGAACGCCCTGCGCTACGCCCCGACGGC ATCCTCGGGCTGCAGCTCATCAACGGCAAGAAC GAGTCGGCCCACATCAGCGACGCCGTAGGCGTG GTGGCCAGGCCGTGCACGAGCTCCTCGAGAAG GAGAACATCACCGACCCGCCGCGGGGCTGCGT GGGCAACACCAACATCTGGAAGACCGGGCCGCT CTTCAAGAGAGTGCTGATGTCTTCCAAGTATGCG GATGGGGTGACTGGTCGCGTGGAGTTCAATGAG GATGGGGACCGGAAGTTCGCCAACTACAGCATC ATGAACCTGCAGAACCGCAAGCTGGTGCAAGTG GGCATCTACAATGGCACCCACGTCATCCCTAATG ACAGGAAGATCATCTGGCCAGGCGGAGAGACAG AGAAGCCTCGAGGGTACCAGATGTCCACCAGAC TGAAGATT	
SEQ ID NO 81	CAGAAGAGCCCCCCCAGCATTGGCATTGCTGTC ATCCTCGTGGGCACTTCCGACGAGGTGGCCATC AAGGATGCCACGAGAAAGATGATTTCCACCATC TCTCCGTGGTACCCCGGGTGGAAGTGGTAGCCA TGAATGAGACCGACCCAAAGAGCATCATCACCC GCATCTGTGATCTCATGTCTGACCGGAAGATCCA GGGGGTGGTGTGTTGCTGATGACACAGACCAGGA AGCCATCGCCCAGATCCTCGATTTCAATTCAGCA CAGACTCTACCCCGATCCTGGGCATCCACGGG GGCTCCTCTATGATAATGGCAGATAAGGATGAAT CCTCCATGTTCTTCCAGTTTGGCCCATCAATTGA ACAGCAAGCTTCCGTAATGCTCAACATCATGGAA GAATATGACTGGTACATCTTTTCTATCGTCACCAC CTATTTCCCTGGCTACCAGGACTTTGTAAACAAG	Amino terminal domain of GluN2B as for example used in fusion protein #8

10

20

30

40

50

【表 2 - 3 0】

	ATCCGCAGCACCATTGAGAATAGCTTTGTGGGCT GGGAGCTAGAGGAGGTCCCTACTGGACATGT CCTGGACGATGGAGATTCTAAGATCCAGAATCA GCTCAAGAACTTCAAAGCCCCATCATTCTCTTT ACTGTACCAAGGAAGAAGCCACCTACATCTTTGA AGTGGCCAACTCAGTAGGGCTGACTGGCTATGG CTACACGTGGATCGTGCCAGTCTGGTGGCAGG GGATACAGACACAGTGCCTGCGGAGTTCCCCAC TGGGCTCATCTCTGTATCATATGATGAATGGGAC TATGGCCTCCCCGCCAGAGTGAGAGATGGAATT GCCATAATCACCAGTCTGCTTCTGACATGCTGT CTGAGCACAGCTTCATCCCTGAGCCCCAAAGCA GTTGTTACAACACCCACGAGAAGAGAATCTACCA GTCCAATATGCTAAATAGGTATCTGATCAATGTCA CTTTGTAGGGGAGGAATTTGTCCTTCAGTGAAGA TGGCTACCAGATGCACCCGAACTGGTGATAATT CTTCTGAACAAGGAGAGGAAGTGGGAAAGGGTG GGGAAAGTGGAAAGACAAGTCCCTGCAGATGAAG TACTATGTGTGGCCCCGAATGTGTCCAGAGACTG AAGAGCAGGAGGATGACCATCTGAGCATT	
SEQ ID NO 82	ATGGGTGGGGCCCTGGGGCCGGCCCTGTTGCT CACCTCGCTCTTCGGTGCCCTGGGCAGGGCTGGG TCCGGGGCAGGGCGAGCAGGGCATGACGGTGG CCGTGGTGTTAGCAGCTCAGGGCCGCCCCAGG CCCAGTTCCGTGCCCCGCTCACCCCCCAGAGCT TCCTGGACCTACCCCTGGAGATCCAGCCGCTCA CAGTTGGGGTCAACACCACCAACCCAGCAGCC TCCTACCCAGATCTGCGGCCTCCTGGGTGCTG CCCACGTCCACGGCATTGTCTTTGAGGACAACGT GGACACCGAGGCGGTGGCCCAGATCCTTGAATT CATCTCCTCCCAGACCCATGTGCCATCCTCAGC ATCAGCGGAGGCTCTGCTGTGGTCTCACCCCC AAGGAGCCGGGCTCCGCCTTCTGCAGCTGGGC GTGTCCCTGGAGCAGCAGCTGCAGGTGCTGTTT AAGGTGCTGGAAGAGTACGACTGGAGCGCCTTC GCCGTATCACCAGCCTGCACCCGGGCCACGCG CTCTTCTGGAGGGCGTGCGCGCCGTGCGCGAC GCCAGCCACGTGAGTTGGCGGCTGCTGGACGTG GTCACGCTGGAGCTGGGCCCCGGAGGGCCGCG CGCGCGCACGCAGCGCCTGCTGCGCCAGCTCG ACGCGCCCCGTGTTTGTGGCCTACTGCTGCGCG AGGAGGCCGAGGTGCTTTCGCCGAGGCGGCG CAGGCCGGTCTGGTGGGGCCCCGGCCACGTGTG GCTGGTGCCCCAACCTGGCGCTGGGCAGCACCG ATGCGCCCCCGCCACCTCCCCGTGGGCCTCA	Human GluN2C NM_000835

10

20

30

40

50

TCAGCGTCGTCACCGAGAGCTGGCGCCTCAGCC TGCGCCAGAAGGTGCGCGACGGCGTGCCATTG TGGCCCTGGGCGCCCACAGCTACTGGCGCCAG CATGGAACCCCTGCCAGCCCCGGCCGGGACTG CCGTGTTACCCCTGGGCCCCTCAGCCCTGCCCG GGAGGCCTTCTACAGGCACCTACTGAATGTCAC CTGGGAGGGCCGAGACTTCTCCTTCAGCCCTGG TGGGTACCTGGTCCAGCCCACCATGGTGGTGAT CGCCCTCAACCGGCACCGCCTCTGGGAGATGGT GGGGCGCTGGGAGCATGGCGTCTTATACATGAA GTACCCCGTGTGGCCTCGCTACAGTGCCTCTCT GCAGCCTGTGGTGGACAGTCGGCACCTGACGGT GGCCACGCTGGAAGAGCGGCCCTTTGTCATCGT GGAGAGCCCTGACCCTGGCACAGGAGGCTGTGT CCCCAACACCGTGCCCTGCCGCAGGCAGAGCAA CCACACCTTCAGCAGCGGGGACGTGGCCCCCTA CACCAAGCTCTGCTGTAAGGGATTCTGCATCGAC ATCCTCAAGAAGCTGGCCAGAGTGGTCAAATTCT CCTACGACCTGTACCTGGTGACCAACGGCAAGC ATGGCAAGCGGGTGC GCGGCGTATGGAACGGC ATGATTGGGGAGGTGTACTACAAGCGGGCAGAC ATGGCCATCGGCTCCCTCACCATCAATGAGGAA CGCTCCGAGATCGTAGACTTCTCTGTACCCTTTG TGGAGACGGGCATCAGTGTGATGGTGGCTCGCA GCAATGGCACCGTCTCCCCCTCGGCCCTCTTGG AGCCATATAGCCCTGCAGTGTGGGTGATGATGTT TGTCATGTGCCTCACTGTGGTGGCCATCACCCTC TTCATGTTGAGTACTTCAGCCCTGTCAGCTACA ACCAGAACCTCACCAGAGGCAAGAAGTCCGGGG GCCCAGCTTTCACTATCGGCAAGTCCGTGTGGC TGCTGTGGGCGCTGGTCTTCAACAACCTCAGTGC CCATCGAGAACCCGCGGGGCACCAACAGCAAGA TCATGGTTCTGGTCTGGGCCCTTCTTTGCTGTCAT CTTCCTCGCCAGCTACACGGCCAACCTGGCCGC CTTCATGATCCAAGAGCAATACATCGACACTGTG TCGGGCCTCAGTGACAAGAAGTTTCAGCGGCCT CAAGATCAGTACCCACCTTTCCGCTTCGGCACG GTGCCCAACGGCAGCACGGAGCGGAACATCCG CAGTAACTACCGTGACATGCACACCCACATGGTC AAGTTCAACCAGCGCTCGGTGGAGGACGCGCTC ACCAGCCTCAAGATGGGGAAGCTGGATGCCTTC ATCTATGATGCTGCTGTCTCAACTACATGGCAG GCAAGGACGAGGGCTGCAAGCTGGTCACCATTG GGTCTGGCAAGGTCTTTGCTACCACTGGCTACG GCATCGCCATGCAGAAGGACTCCCCTGGAAGC GGGCCATAGACCTGGCGCTCTTGCAAGTTCCTGG
--

40

【表 2 - 3 2】

	GGGACGGAGAGACACAGAACTGGAGACAGTGT GGCTCTCAGGGATCTGCCAGAATGAGAAGAACG AGGTGATGAGCAGCAAGCTGGACATCGACAACA TGGCAGGCGTCTTCTACATGCTGCTGGTGGCCA TGGGGCTGGCCCTGCTGGTCTTCGCCTGGGAGC ACCTGGTCTACTGGAAGCTGCGCCACTCGGTGC CCAACTCATCCCAGCTGGACTTCCTGCTGGCTTT CAGCAGGGGCATCTACAGCTGCTTCAGCGGGGT GCAGAGCCTCGCCAGCCCACCGCGGCAGGCCA GCCCCGACCTCACGGCCAGCTCGGCCAGGCC AGCGTGCTCAAGATGCTGCAGGCAGCCCGCGAC ATGGTGACCACGGCGGGCGTAAGCAGCTCCCTG GACCGCGCCACTCGCACCATCGAGAATTGGGGT GGCGGCCGCCGTGCGCCCCCACCCTCCCCCTG CCCGACCCCGCGGTCTGGCCCCAGCCCATGCCT GCCCCACCCCGACCCGCCCCCAGAGCCGAGCC CCACGGGCTGGGGACCGCCAGACGGGGGTGCG GCGGCGCTTGTCGCGAGGGCTCCGCAGCCCCC GGGCCGCCCCCGACGCGGGGGCGCCCCCTGT CCGACGTCTCCCGAGTGTCGCGCCGCCCAGCCT GGGAGGCGCGGTGGCCGGTGCAGACCGGGCAC TGCGGGAGGCACCTCTCGGCCTCCGAGCGGCC CCTGTCGCCCCGCGCTGTCACTACAGCTCCTT TCCTCGAGCCGACCGATCCGGCCGCCCTTCCT CCCGCTCTTCCCGGAGCTGGAGGACCTGCCGT GCTCGGTCCGGAGCAGCTGGCCCGCGGGAGG CCCTGCTGCACGCGGCCCTGGGCCCGGGGCTCG CGCCCGCGTCACGCTTCCTGCCAGCTCCGTG GCCGAGGCCTTCGCTCGGCCAGCTCGCTGCC GCTGGGTGCACCGGCCCGCCTGCGCCCGCCC CGACGGCCACTCGGCCTGCAGGCGCTTGCGC AGGCGCAGTCGATGTGCTTGCCGATCTACCGG AGGCCTGCCAGGAGGGCGAGCAGGCAGGGGCC CCCGCTGGCAGCACAGACAGCACGTCTGCCTG CACGCCCACGCCCACCTGCCATTTTGCTGGGG GCTGTCTGCTCCTCACCTTCCACCCTGTGCCAGCC ACGGCTCCTGGCTCTCCGGGGCCTGGGGGCCT CTGGGGCACAGGGGCAGGACTCTGGGGCTGGG CACAGGCTACAGAGACAGTGGGGGACTGGACGA GATCAGCAGGGTAGCCCGTGGGACGCAAGGCTT CCCGGGACCCTGCACCTGGAGACGGATCTCCAG TCTGGAGTCAGAAGTGTGA	
SEQ ID NO 83	CAGGGCATGACGGTGGCCGTGGTGTTTAGCAGC TCAGGGCCGCCCCAGGCCAGTTCCGTGCCCG CCTACCCCCCAGAGCTTCTTGACCTACCCCT	GluN2C ATD

10

20

30

40

50

【表 2 - 3 3】

	GGAGATCCAGCCGCTCACAGTTGGGGTCAACAC CACCAACCCCAGCAGCCTCCTCACCCAGATCTG CGGCCTCCTGGGTGCTGCCCACGTCCACGGCAT TGTCTTTGAGGACAACGTGGACACCGAGGCGGT GGCCCAGATCCTTGACTTCATCTCCTCCCAGACC CATGTGCCCATCCTCAGCATCAGCGGAGGCTCT GCTGTGGTCCTCACCCCCAAGGAGCCGGGCTCC GCCTTCCTGCAGCTGGGCGTGTCCCTGGAGCAG CAGCTGCAGGTGCTGTTCAAGGTGCTGGAAGAG TACGACTGGAGCGCCTTCGCCGTATCACCAGC CTGCACCCGGGCCACGCGCTCTCCTGGAGGGC GTGCGCGCCGTGCGCGACGCCAGCCACGTGAG TTGGCGGCTGCTGGACGTGGTCACGCTGGAGCT GGGCCCCGGGAGGGCCGCGCGCGCACGCAG CGCCTGCTGCGCCAGCTCGACGCGCCCGTGTTT GTGGCCTACTGCTCGCGCAGGAGGCCGAGGT GCTCTTCGCCGAGGCGGCGCAGGCCGGTCTGG TGGGGCCCCGGCCACGTGTGGCTGGTGCCCAAC CTGGCGCTGGGCAGCACCGATGCGCCCCCGC CACCTTCCCCGTGGGCCTCATCAGCGTCGTCAC CGAGAGCTGGCGCCTCAGCCTGCGCCAGAAGGT GCGCGACGGCGTGGCCATTCTGGCCCTGGGCG CCCACAGCTACTGGCGCCAGCATGGAACCCTGC CAGCCCCGGCCGGGGACTGCCGTGTTACCCCTG GGCCCGTCAGCCCTGCCCGGGAGGCCCTTCTACA GGCACCTACTGAATGTCACCTGGGAGGGCCGAG ACTTCTCCTTCAGCCCTGGTGGGTACCTGGTCCA GCCCACCATGGTGGTGATCGCCCTCAACCGGCA CCGCCTCTGGGAGATGGTGGGGCGCTGGGAGC ATGGCGTCCTATACATGAAGTACCCCGTGTGGC CTCGC	
SEQ ID NO 84	AGTCGGCACCTGACGGTGGCCACGCTGGAAGAG CGGCCCTTTGTCATCGTGGAGAGCCCTGACCCT GGCACAGGAGGCTGTGTCCCAACACCGTGCCC TGCCGCAGGCAGAGCAACCACACCTTCAGCAGC GGGGACGTGGCCCCCTACACCAAGCTCTGCTGT AAGGGATTCTGCATCGACATCCTCAAGAAGCTGG CCAGAGTGGTCAAATTCTCCTACGACCTGTACCT GGTGACCAACGGCAAGCATGGCAAGCGGGTGC GCGGCGTATGGAACGGCATGATTGGGGAGGTGT ACTACAAGCGGGCAGACATGGCCATCGGCTCCC TCACCATCAATGAGGAACGCTCCGAGATCGTAGA CTTCTCTGTACCCTTTGTGGAGACGGGCATCAGT GTGATGGTGGCTCGC	GluN2C S1

10

20

30

40

50

【表 2 - 3 4】

SEQ ID NO 85	ACTGTGTCGGGCCTCAGTGACAAGAAGTTTCAG CGGCCTCAAGATCAGTACCCACCTTTCCGCTTCG GCACGGTGCCCAACGGCAGCACGGAGCGGAAC ATCCGCAGTAACTACCGTGACATGCACACCCACA TGGTCAAGTTCAACCAGCGCTCGGTGGAGGACG CGCTCACCAGCCTCAAGATGGGGAAGCTGGATG CCTTCATCTATGATGCTGCTGTCTCAACTACAT GGCAGGCAAGGACGAGGGCTGCAAGCTGGTCA CCATTGGGTCTGGCAAGGTCTTTGCTACCACTGG CTACGGCATCGCCATGCAGAAGGACTCCCCTG GAAGCGGGCCATAGACCTGGCGCTCTTGCAATT CCTGGGGGACGGAGAGACACAGAACTGGAGAC AGTGTGGCTCTCAGGGATCTGCCAGAAT	GluN2C S2
SEQ ID NO 86	ATGGGTGGGGCCCTGGGGCCGGCCCTGTTGCT CACCTCGCTCTTCGGTGCTGGGCAGGGCTGGG TCCGGGGCAGGGCGAGCAGGGCATGACGGTGG CCGTGGTGTTCAGCAGCTCAGGGCCGCCCAGG CCCAGTTCCGTGCCCCGCTCACCCCCCAGAGCT TCCTGGACCTACCCCTGGAGATCCAGCCGCTCA CAGTTGGGGTCAACACCACCAACCCAGCAGCC TCCTACCCAGATCTGCGGCCTCCTGGGTGCTG CCCACGTCCACGGCATTGTCTTTGAGGACAACGT GGACACCGAGGCGGTGGCCAGATCCTTGACTT CATCTCCTCCCAGACCCATGTGCCCATCCTCAGC ATCAGCGGAGGCTCTGCTGTGGTCTCACCCCC AAGGAGCCGGGCTCCGCCCTCCTGCAGCTGGGC GTGTCCCTGGAGCAGCAGCTGCAGGTGCTGTTT AAGGTGCTGGAAGAGTACGACTGGAGCGCCTTC GCCGTATCACCAGCCTGCACCCGGGCCACGCG CTTCTCCTGGAGGGCGTGCGCGCCGTCGCCGAC GCCAGCCACGTGAGTTGGCGGCTGCTGGACGTG GTCACGCTGGAGCTGGGCCCCGGAGGGCCGCG CGCGCGCACGCAGCGCCTGCTGCGCCAGCTCG ACGCGCCCCGTGTTTGTGGCCTACTGCTCGCGCG AGGAGGCCGAGGTGCTCTTCGCCGAGGCGGCG CAGGCCGGTCTGGTGGGGCCCCGGCCACGTGTG GCTGGTGCCCCAACCTGGCGCTGGGCAGCACCG ATGCGCCCCCGCCACCTTCCCCGTGGGCCTCA TCAGCGTCGTACCGAGAGCTGGCGCCTCAGCC TGCGCCAGAAGGTGCGCGACGGCGTGGCCATT TGGCCCTGGGCGCCACAGCTACTGGCGCCAG CATGGAACCCTGCCAGCCCCGGCCGGGACTG CCGTGTTACCCCTGGGCCCCGTAGCCCTGCCCC GGAGGCCCTTACAGGCACCTACTGAATGTCAC	GluN2C ecd incl. signal sequence and GT-linker between S1 and S2

10

20

30

40

50

【表 2 - 3 5】

	CTGGGAGGGCCGAGACTTCTCCTTCAGCCCTGG TGGGTACCTGGTCCAGCCCACCATGGTGGTGAT CGCCCTCAACCGGCACCGCCTCTGGGAGATGGT GGGGCGCTGGGAGCATGGCGTCCTATACATGAA GTACCCCGTGTGGCCTCGCTACAGTGCCTCTCT GCAGCCTGTGGTGGACAGTCGGCACCTGACGGT GGCCACGCTGGAAGAGCGGCCCTTTGTCATCGT GGAGAGCCCTGACCTGGCACAGGAGGCTGTGT CCCCAACACCGTGCCCTGCCGCAGGCAGAGCAA CCACACCTTCAGCAGCGGGGACGTGGCCCCCTA CACCAAGCTCTGCTGTAAGGGATTCTGCATCGAC ATCCTCAAGAAGCTGGCCAGAGTGGTCAAATTCT CCTACGACCTGTACCTGGTGACCAACGGCAAGC ATGGCAAGCGGGTGCGCGGCGTATGGAACGGC ATGATTGGGGAGGTGTACTACAAGCGGGCAGAC ATGGCCATCGGCTCCCTCACCATCAATGAGGAA CGCTCCGAGATCGTAGACTTCTCTGTACCCTTTG TGGAGACGGGCATCAGTGTGATGGTGGCTCGCg gcaccACTGTGTGCGGGCCTCAGTGACAAGAAGTTT CAGCGGCCTCAAGATCAGTACCCACCTTTCCGCT TCGGCACGGTGCCCAACGGCAGCACGGAGCGG AACATCCGCAGTAACTACCGTGACATGCACACCC ACATGGTCAAGTTCAACCAGCGCTCGGTGGAGG ACGCGCTCACCAGCCTCAAGATGGGGAAGCTGG ATGCCCTCATCTATGATGCTGCTGTCTCAACTA CATGGCAGGCAAGGACGAGGGCTGCAAGCTGGT CACCATTGGGTCTGGCAAGGTCTTTGCTACCACT GGCTACGGCATCGCCATGCAGAAGGACTCCCAC TGGAAGCGGGCCATAGACCTGGCGCTCTTGACAG TTCCTGGGGGACGGAGAGACACAGAACTGGAG ACAGTGTGGCTCTCAGGGATCTGCCAGAAT	
SEQ ID NO 87	ATGCGCGGCGCCGGTGGCCCCCGCGGCCCTCG GGGCCCCGCTAAGATGCTGCTGCTGCTGGCGCT GGCCTGCGCCAGCCCGTTCCCGGAGGAGGCGC CGGGGCGGGCGGGGCGGGTGGGCCCCGCGG CGGCCTCGGCGGGGCGCGGCCGCTAACGTGG CGCTCGTGTCTCGGGGCCCCGCTACGCGGCC GAGGCGGCACGCCTGGGCCCCGGCCGTGGCGGC GGCGGTGCGCAGCCCGGGCCTAGACGTGCGGC CCGTGGCGCTGGTGTCAACGGCTCGGACCCG CGCAGCCTCGTGCTGCAGCTCTGCGACCTGCTG TCGGGGTTGCGCGTGACGCGGTGGTCTTCGAA GACGACTCGCGCGCGCCCCGCGTCGCGCCCAT CCTCGACTTCTGTGCGCGCAGACCTCGCTGCC CATCGTGGCCGTGCACGGCGGCGCCGCGCTCG	Human GluN2D U77783 (DNA)

10

20

30

40

50

TGCTCACGCCCAAGGAGAAGAGGCTCCACCTTCC TGCAGCTGGGCTCTTCCACCGAGCAACAGCTTC AGGTCATCTTTGAGGTGCTGGAGGAGTATGACT GGACGTCCCTTTGTAGCCGTGACCACTCGTGCCC CTGGCCACCAGGGCCTTCTGTCTACATTGAGG TGCTGACTGACGGTAGTCTGGTGGGCTGGGAGC ACCGCGGAGCGCTGACGCTGGACCCTGGGGCG GGCGAGGCCGTGCTCAGTGCCCAGCTCCGCACT GTCAGCGCGCAGATCCGCCTGCTCTTCTGCGCC CGAGAGGAGGCCGAGCCCCGTGTTCCGCGCAGC TGAGGAGGCTGGCCTCACTGGATCTGGCTACGT CTGGTTCATGGTGGGGCCCCAGCTGGCTGGAGG CGGGGGCTCTGGGGCCCCCTGGTGAGCCCCCTC TTCTGCCAGGAGGCGCCCCCTGCCTGCCGGG CTGTTTGCACTGCGCTCGGCTGGCTGGCGGGAT GACCTGGCTCGGCGAGTGGCAGCTGGCGTGGC CGTAGTGGCCAGAGGTGCCAGGCCCTGCTGC GTGATTATGGTTTCCTTCTGAGCTCGGCCACGA CTGTCGCGCCCAGAACCAGCAACCCAGCGGCG AGAGTCTGCATAGGTACTTCATGAACATCACGTG GGATAACCGGGATTACTCCTTCAATGAGGACGG CTTCTAGTGAACCCCTCCCTGGTGGTCATCTCC CTCACCAGAGACAGGACGTGGGAGGTGGTGGG CAGCTGGGAGCAGCAGACGCTCCGCCTCAAGTA CCCGCTGTGGTCCCGCTATGGTCGCTTCTGCA GCCAGTGGACGACACGCAGCACCTCACGGTGGC CACGCTGGAGGAAAGGCCGTTTGTATCGTGGA GCCTGCAGACCCTATCAGCGGCACCTGCATCCG AGACTCCGTCCCCCTGCCGGAGCCAGCTCAACCG AACCCACAGCCCTCCACCGGATGCCCCCGCCC GGAAAAGCGCTGCTGCAAGGGTTTCTGCATCGA CATTCTGAAGCGGCTGGCGCATACCATCGGCTT CAGCTACGACCTCTACCTGGTCACCAATGGCAA GCACGGAAAGAAGATCGATGGCGTCTGGAACGG CATGATCGGGGAGGTGTTCTACCAGCGCGCAGA CATGGCCATCGGCTCCCTCACCATCAACGAGGA GCGCTCCGAGATCGTGGACTTCTCCGTCCCCTT CGTGGAGACCGGCATCAGCGTCATGGTGGCGC GCAGCAATGGCACGGTGTCCCCCTCGGCCCTTC TCGAGCCCTACAGCCCCGCCGTGTGGGTGATGA TGTTCTCATCTTCGAGTACCTCAGTCCTGTTGGTT ACAACCGCAGCCTGGCCACGGGCAAGCGCCCT GGCGGTTCAACCTTCACCATTGGGAAATCCATCT GGCTGCTCTGGGCCCTGGTGTTCAATAATTCGGT GCCCCGTGGAGAACCCCCGGGGAACCAACAGCA	
--	--

40

【表 2 - 3 7】

	AAATCATGGTGCTGGTGTGGGCCTTCTTCGCCGT CATCTTCCTCGCCAGCTACACAGCCAACCTGGC CGCCTTCATGATCCAGGAGGAGTACGTGGATAC TGTGTCTGGGCTCAGTGACCGCAAGTTCCAGAG GCCCCAGGAGCAGTACCCGCCCTGAAGTTTGG GACCGTGCCCAACGGCTCCACGGAGAAGAACAT CCGCAGCAACTATCCCGACATGCACAGCTACAT GGTGCCTACAACCAGCCCCGCTAGAGGAAGC GCTCACTCAGCTCAAGGCAGGGAAGCTGGACGC CTTCATCTACGATGCTGCAGTGCTCAATTACATG GCCCCAAGGACGAGGGCTGCAAGCTTGTCACC ATCGGCTCCGGCAAGGTCTTCGCCACGACAGGC TATGGCATCGCCCTGCACAAGGGCTCCCGCTGG AAGCGGCCCATCGACCTGGCGTTGCTGCAGTTC CTGGGGGATGATGAGATCGAGATGCTGGAGCGG CTGTGGCTCTCTGGGATCTGCCACAATGACAAA TCGAGGTGATGAGCAGCAAGCTGGACATCGACA ACATGGCGGGCGTCTTCTACATGCTCCTGGTGG CCATGGGCCTGTCCCTGCTGGTCTTCGCCTGGG AGCACCTGGTGTACTGGCGCCTGCGGCACTGCC TGGGGCCCAACCACCGCATGGACTTCTGCTGG CCTTCTCCAGGGGCATGTACAGCTGCTGCAGCG CTGAGGCCGCCCAACCGCCCGCCAAGCCCCCG CCGCCGCCACAGCCCTGCCAGCCCCGCGTA CCCCGCGCCGGGGCCGGCTCCCGGGCCCGCAC CTTTCGTGCCCCGCGAGCGCGCCTCAGTGACC GCTGGCGCCGGACCAAGGGCGCGGGGCCGCCG GGGGCGCGGGCCTGGCCGACGGCTTCCACCG CTACTACGGCCCCATCGAGCCGCAGGGCCTAGG CCTCGGCCGTTGGCGAAGCGCGCGCGGCACCGC GGGGCGCAGCCGGCGCCCGCTGTCCCCGCCG GCCGCTCAGCCCCCGCAGAAGCCGCCGGCCTC CTATTTGCCATCGTACGCGACAAGGAGCCAGC CGAGCCCCCGCGCGCGCCTTCCCCGGCTTCC CGTCGCCGCCCGCGCCCCCGCGCCGCGGCC ACCGCCGTGCGGCCGCCACTCTGCCGCTTGCC TTCGAGGACGAGAGCCCGCGCGCCCGCGCG GTGGCCGCGCTCGGACCCGAGAGCCAACCCC TGCTGGGGCCAGGCGCGGGCGCGCGGGGG CACGGGGGGCGCAGGCGGAGGAGCCCCGGCC GCTCCGCCCCGTGCTGCGCCGCGCCGCCCCC GTGCCCTTACCTCGATCTCGAGCCGTCGCCGTC GGACTCGGAGGACTCGGAGAGCCTGGGCGGCG CGTCGCTGGGCGGCCTGGATCCCTGGTGGTTCG CCGACTTCCCTTACCCGTATGCCGAGCGCCTCG GGCCGCCGCCCGGCCGCTACTGGTCGGTCGAC	
		10
		20
		30
		40

【表 2 - 3 8】

	AAGCTCGGGGGCTGGCGCGCCGGGAGCTGGGA CTACCTGCCCCCGCGCAGCGGTCCGGCCGCCT GGCACTGTCGGCACTGCGCCAGCCTGGAGCTGC TGCCGCGCGCGGCCATCTCAGCTGCTCGCACG ATGGCCTGGACGGCGGCTGGTGGGCGCCACCG CCTCCACCCTGGGCCGCCGGGCCCTGCCCG ACGCCGGGCGCGCTGCGGGTGCCCGCGGTGCG ACCCGCACCGCCCGCGGGCCTCGCACCGCACG CCCGCGCTGCGCGCCCCACCACACAGGCA CCGGCGCGCGCTGGGGGCTGGGACCTCCCGC CGCCCGCGCCACCTCGCGCTCGCTCGAGGAC CTCAGCTCGTGCCCTCGCGCGCCCTGCGCGC AGGCTTACCGGGCCCTCCCGCCACGCTCGCAGG TGTCGCGACCGCGCGCACTGGGGGCGCGCGCT GCCCACAGCTTCCACCGGAGACACCGGGGCG GGGACCTGGGCACCGCAGGGGCTCGGCGCAC TTCTCTAGCCTCGAGTCCGAGGTATGA	
SEQ ID NO 88	CGGCCGCTCAACGTGGCGCTCGTGTTCTCGGGG CCCGCGTACGCGGCCGAGGCGGCACGCCTGGG CCCGGCCGTGGCGGCGGCGGTGCGCAGCCCGG GCCTAGACGTGCGGCCCGTGGCGCTGGTGCTCA ACGGCTCGGACCCGCGCAGCCTCGTGCTGCAG CTCTGCGACCTGCTGTGCGGGGTTGCGCGTGAC GGCGTGCTTTCGAAGACGACTCGCGCGCGCCC GCCGTGCGGCCCATCCTCGACTTCCTGTGCGCG CAGACCTCGCTGCCCATCGTGCCGTGCACGGC GGCGCCGCGCTCGTGCTCACGCCCAAGGAGAA GGGCTCCACCTTCCTGCAGCTGGGCTCTTCAC CGAGCAACAGCTTCAGGTCATCTTGAGGTGCTG GAGGAGTATGACTGGACGTCTTTGTAGCCGTG ACCACTCGTGCCCTGGCCACCGGGCCTTCCTG TCCTACATTGAGGTGCTGACTGACGGTAGTCTGG TGGGCTGGGAGCACCGCGGAGCGCTGACGCTG GACCCTGGGGCGGGCGAGGCCGTGCTCAGTGC CCAGCTCCGCAGTGTCAGCGCGCAGATCCGCCT GCTCTTCTGCGCCCGAGAGGAGGCCGAGCCCGT GTTCCGCGCAGCTGAGGAGGCTGGCCTCACTGG ATCTGGCTACGTCTGTTTATGGTGGGGCCCCA GCTGGCTGGAGGCGGGGCTCTGGGGCCCCCTG GTGAGCCCCCTCTCTGCCAGGAGGCGCCCCC TGCCCTGCCGGGCTGTTTGCAGTGCGCTCGGCTG GCTGGCGGGATGACCTGGCTCGGCGAGTGGCA GCTGGCGTGGCCGTAGTGGCCAGAGGTGCCCA GGCCCTGCTGCGTGATTATGGTTTCCTTCCTGAG CTCGGCCACGACTGTCGCGCCCAGAACCGCAC	GluN2D ATD

10

20

30

40

50

【表 2 - 3 9】

	CACCGCGGCGAGAGTCTGCATAGGTAATTCATG AACATCACGTGGGATAACCGGGATTACTCCTTCA ATGAGGACGGCTTCCTAGTGAACCCCTCCCTGG TGGTCATCTCCCTCACCAGAGACAGGACGTGGG AGGTGGTGGGCAGCTGGGAGCAGCAGACGCTC CGCCTCAAGTACCCGCTGTGGTCCCCGC	
SEQ ID NO 89	ACGCAGCACCTCACGGTGGCCACGCTGGAGGAA AGGCCGTTTGTATCGTGGAGCCTGCAGACCCT ATCAGCGGCACCTGCATCCGAGACTCCGTCCCC TGCCGGAGCCAGCTCAACCGAACCCACAGCCCT CCACCGGATGCCCCCGCCCGGAAAAGCGCTG CTGCAAGGGTTTCTGCATCGACATTCTGAAGCGG CTGGCGCATACCATCGGCTTCAGCTACGACCTCT ACCTGGTCACCAATGGCAAGCACGGAAAGAAGA TCGATGGCGTCTGGAACGGCATGATCGGGGAGG TGTTCTACCAGCGCGCAGACATGGCCATCGGCT CCCTCACCATCAACGAGGAGCGCTCCGAGATCG TGGACTTCTCCGTCCCTTCGTGGAGACCGGCA TCAGCGTCATGGTGGCGCGC	GluN2D S1
SEQ ID NO 90	ACTGTGTCTGGGCTCAGTGACCGCAAGTTCCAG AGGCCCCAGGAGCAGTACCCGCCCTGAAGTTT GGGACCGTGCCCAACGGCTCCACGGAGAAGAAC ATCCGCAGCAACTATCCCGACATGCACAGCTACA TGGTGGCTACAACAGCCCCGCGTAGAGGAAG CGCTCACTCAGCTCAAGGCAGGGAAGCTGGACG CCTTCATCTACGATGCTGCAGTGTCAATTACAT GGCCCCGAAGGACGAGGGCTGCAAGCTTGTAC CATCGGCTCCGGCAAGGTCTTCGCCACGACAGG CTATGGCATCGCCCTGCACAAGGGCTCCCGCTG GAAGCGGCCCATCGACCTGGCGTTGCTGCAGTT CCTGGGGGATGATGAGATCGAGATGCTGGAGCG GCTGTGGCTCTCTGGGATCTGCCACAAT	GluN2D S2
SEQ ID NO 91	ATGCGCGGCGCCGGTGGCCCCCGCGGCCCTCG GGGCCCCGCTAAGATGCTGCTGCTGGCGCT GGCCTGCGCCAGCCGTTCCCGGAGGAGGCGC CGGGGCCGGGCGGGGCGGTGGGCCCCGGCGG CGGCCTCGGCGGGGCGCGGCCGCTCAACGTGG CGCTCGTGTCTCGGGGCCGCGTACGCGGCC GAGGCGGCACGCCTGGGCCCGGCCGTGGCGGC GGCGGTGCGCAGCCCGGGCCTAGACGTGCGGC CCGTGGCGCTGGTGCTCAACGGCTCGGACCCG CGCAGCCTCGTGCTGCAGCTCTGCGACCTGCTG	GluN2D ecd incl. signal sequence and GT-linker between S1 and S2

10

20

30

40

50

【表 2 - 4 0】

TCGGGGTTGCGCGTGACGCGGTGGTCTTCGAA GACGACTCGCGCGCGCCCGCCGTCGCGCCCAT CCTCGACTTCTGTGCGCGCAGACCTCGCTGCC CATCGTGGCCGTGACGCGCGCGCCGCGCTCG TGCTACGCCCCAAGGAGAAGGGCTCCACCTTCC TGCAGCTGGGCTCTTCCACCGAGCAACAGCTTC AGGTCATCTTTGAGGTGCTGGAGGAGTATGACT GGACGTCTTTGTAGCCGTGACCACTCGTGCCC CTGGCCACCGGGCCTTCTGTCTACATTGAGG TGCTGACTGACGGTAGTCTGGTGGGCTGGGAGC ACCGCGAGCGCTGACGCTGGACCCCTGGGGCG GGCGAGGCCGTGCTCAGTGCCCACTCCGCAGT GTCAGCGCGCAGATCCGCCTGCTCTTCTGCGCC CGAGAGGAGGCCGAGCCCGTGTCCGCGCAGC TGAGGAGGCTGGCCTCACTGGATCTGGCTACGT CTGGTTTATGGTGGGGCCCCAGCTGGCTGGAGG CGGGGGCTCTGGGGCCCCCTGGTGAGCCCCCTC TTCTGCCAGGAGGCGCCCCCTGCCTGCCGGG CTGTTTGCAGTGCGCTCGGCTGGCTGGCGGGAT GACCTGGCTCGGCGAGTGGCAGCTGGCGTGGC CGTAGTGGCCAGAGGTGCCAGGCCCTGCTGC GTGATTATGGTTTCTTCTGAGCTCGGCCACGA CTGTCGCGCCCAGAACCGCACCCACCGCGGCG AGAGTCTGCATAGGTACTTCATGAACATCACGTG GGATAACCGGGATTACTCCTCAATGAGGACGG CTTCTAGTGAACCCCTCCCTGGTGGTCATCTCC CTCACCAGAGACAGGACGTGGGAGGTGGTGGG CAGCTGGGAGCAGCAGACGCTCCGCCTCAAGTA CCCGCTGTGGTCCCGCTATGGTCGCTTCTGCA GCCAGTGGACGACACGCAGCACCTCACGGTGGC CACGCTGGAGGAAAGGCCGTTTGTATCGTGGA GCCTGCAGACCCTATCAGCGGCACCTGCATCCG AGACTCCGTCCCTGCGCGGAGCCAGCTCAACCG AACCCACAGCCCTCCACCGGATGCCCCCGCCC GGAAAAGCGCTGCTGCAAGGGTTTCTGCATCGA CATTCTGAAGCGGCTGGCGCATACCATCGGCTT CAGCTACGACCTCTACCTGGTCACCAATGGCAA GCACGGAAGAAGATCGATGGCGTCTGGAACGG CATGATCGGGGAGGTGTTCTACCAGCGCGCAGA CATGGCCATCGGCTCCCTCACCATCAACGAGGA GCGCTCCGAGATCGTGGACTTCTCCGTCCCCTT CGTGGAGACCGGCATCAGCGTCATGGTGGCGC GCGGCACCACTGTGTCTGGGCTCAGTGACCGCA AGTTCCAGAGGCCCCAGGAGCAGTACCCGCCCC TGAAGTTTGGGACCGTGCCCAACGGCTCCACGG AGAAGAACATCCGCAGCAACTATCCCGACATGCA	
--	--

10

20

30

40

50

【表 2 - 4 1】

	CAGCTACATGGTGCGCTACAACCAGCCCCGCGT AGAGGAAGCGCTCACTCAGCTCAAGGCAGGGAA GCTGGACGCCCTTCATCTACGATGCTGCAGTGCT CAATTACATGGCCCGCAAGGACGAGGGCTGCAA GCTTGTCACCATCGGCTCCGGCAAGGTCCTCGC CACGACAGGCTATGGCATCGCCCTGCACAAGGG CTCCCGCTGGAAGCGGCCCATCGACCTGGCGTT GCTGCAGTTCCTGGGGGATGATGAGATCGAGAT GCTGGAGCGGCTGTGGCTCTCTGGGATCTGCCA CAAT	
SEQ ID NO 92	ATGGGCAGAGTGGGCTATTGGACCCTGCTGGTG CTGCCGGCCCTTCTGGTCTGGCGCGGTCCGGC GCCGAGCGCGGCGGCGGAGAAGGGTCCCCCG CGCTAAATATTGCGGTGATGCTGGGTACAGCC ACGACGTGACAGAGCGCGAACTTCGAACACTGT GGGGCCCCGAGCAGGCGGCGGGCTGCCCTG GACGTGAACGTGGTAGCTCTGCTGATGAACCGC ACCGACCCCAAGAGCCTCATCACGCACGTGTGC GACCTCATGTCCGGGGCACGCATCCACGGCCTC GTGTTTGGGACGACACGGACCAGGAGGCCGTA GCCCAGATGCTGGATTTTATCTCCTCCCACACCT TCGTCCCACATCTTGGGCATTGATGGGGCGCAT CTATGATCATGGCTGACAAGGATCCGACGTCTAC CTTCTTCCAGTTTGGAGCGTCCATCCAGCAGCAA GCCACGGTCATGCTGAAGATCATGCAGGATTATG ACTGGCATGTCTTCTCCCTGGTGACCACTATCTT CCCTGGCTACAGGGAATTCATCAGCTTCGTCAAG ACCACAGTGGACAACAGCTTTGTGGGCTGGGAC ATGCAGAATGTGATCACACTGGACACTTCCTTG AGGATGCAAAGACACAAGTCCAGCTGAAGAAGA TCCACTCTTCTGTCATCTTGCTCTACTGTTCCAAA GACGAGGCTGTTCTCATTCTGAGTGAGGCCCGC TCCCTTGGCCTCACCGGGTATGATTTCTTCTGGA TTGTCCCCAGCTTGGTCTCTGGGAACACGGAGC TCATCCCAAAAGAGTTTCCATCGGGACTCATTTC TGTCTCCTACGATGACTGGGACTACAGCCTGGA GGCGAGAGTGAGGGACGGCATTGGCATCCTAAC CACCGCTGCATCTTCTATGCTGGAGAAGTTCTCC TACATCCCCGAGGCCAAGGCCAGCTGCTACGGG CAGATGGAGAGGCCAGAGGTCCCGATGCACACC TTGCACCCATTTATGGTCAATGTTACATGGGATG GCAAAGACTTATCCTTCACTGAGGAAGGCTACCA GGTGACCCCCAGGCTGGTGGTGATTGTGCTGAA CAAAGACCGGGAATGGGAAAAGGTGGGCAAGTG GGAGAACCATACGCTGAGCCTGAGGCACGCCGT	Human GluN2A NM_001134407

10

20

30

40

50

【表 2 - 4 2】

	GTGGCCCAGGTACAAGTCCTTCTCCGACTGTGA GCCGGATGACAACCATCTCAGCATCGTCACCCCT GGAGGAGGCCCCATTTCGTATCGTGGAAGACAT AGACCCCTGACCGAGACGTGTGTGAGGAACAC CGTGCCATGTGGAAGTTTCGTCAAATCAACAAT TCAACCAATGAGGGGATGAATGTGAAGAAATGCT GCAAGGGGTTCTGCATTGATATTCTGAAGAAGCT TTCAGAACTGTGAAGTTTACTTACGACCTCTATC TGGTGACCAATGGGAAGCATGGCAAGAAAGTTA ACAATGTGTGGAATGGAATGATCGGTGAAGTGGT CTATCAACGGGCAGTCATGGCAGTTGGCTCGCT CACCATCAATGAGGAACGTTCTGAAGTGGTGGA CTTCTCTGTGCCCTTTGTGGAACGGGAATCAGT GTCATGGTTTCAAGAAGTAATGGCACCGTCTCAC CTTCTGCTTTTCTAGAACCATTACGCGCTCTGT CTGGGTGATGATGTTTGTGATGCTGCTCATTGTT TCTGCCATAGCTGTTTTGTCTTTGAATACTTCAG CCCTGTTGGATACAACAGAACTTAGCCAAAGGG AAAGCACCCCATGGGCCTTCTTTACAATTGGAA AAGCTATATGGCTTCTTTGGGGCCTGGTGTTCAA TAACTCCGTGCCTGTCCAGAATCCTAAAGGGACC ACCAGCAAGATCATGGTATCTGTATGGGCCTTCT TCGCTGTCATATTCCTGGCTAGCTACACAGCCAA TCTGGCTGCCTTCATGATCCAAGAGGAATTTGTG GACCAAGTGACCGGCCTCAGTGACAAAAAGTTTC AGAGACCTCATGACTATTCCCCACCTTTTCGATTT GGGACAGTGCCTAATGGAAGCACGGAGAGAAAC ATTCGGAATAACTATCCCTACATGCATCAGTACAT GACCAAATTTAATCAGAAAGGAGTAGAGGACGCC TTGGTCAGCCTGAAAACGGGGAAGCTGGACGCT TTCATCTACGATGCCGCAGTCTTGAATTACAAGG CTGGGAGGGATGAAGGCTGCAAGCTGGTGACCA TCGGGAGTGGGTACATCTTTGCCACCACCGGTT ATGGAATTGCCCTTCAGAAAGGCTCTCCTTGGAA GAGGCAGATCGACCTGGCCTTGCTTCAGTTTGT GGGTGATGGTGAGATGGAGGAGCTGGAGACCCT GTGGCTCACTGGGATCTGCCACAACGAGAAGAA CGAGGTGATGAGCAGCCAGCTGGACATTGACAA CATGGCGGGCGTATTCTACATGCTGGCTGCCGC CATGGCCCTTAGCCTCATCACCTTCATCTGGGAG CACCTCTTCTACTGGAAGCTGCGCTTCTGTTTCA CGGGCGTGTGCTCCGACCGGCCTGGGTTGCTCT TCTCCATCAGCAGGGGCATCTACAGCTGCATTCA TGGAGTGACATTGAAGAAAAGAAGTCTCCA GACTTCAATCTGACGGGATCCCAGAGCAACATGT TAAAACTCCTCCGGTCAGCCAAAACATTTCCAG	
		10
		20
		30
		40

10

20

30

40

50

【表 2 - 4 3】

	CATGTCCAACATGAACTCCTCAAGAATGGACTCA CCCCAAAAGAGCTGCTGACTTCATCCAAAGAGGTT CCCTCATCATGGACATGGTTTCAGATAAGGGGAA TTTGATGTACTCAGACAACAGGTCCTTTCAGGGG AAAGAGAGCATTTCCTGGAGACAACATGAACGAAC TCCAAACATTTGTGGCCAACCGGCAGAAGGATAA CCTCAATAACTATGTATTCCAGGGACAACATCCT CTTACTCTCAATGAGTCCAACCCTAACACGGTGG AGGTGGCCGTGAGCACAGAATCCAAAGCGAACT CTAGACCCCGGCAGCTGTGGAAGAAATCCGTGG ATTCCATACGCCAGGATTCACTATCCCAGAATCC AGTCTCCCAGAGGGATGAGGCAACAGCAGAGAA TAGGACCCACTCCCTAAAGAGCCCTAGGTATCTT CCAGAAGAGATGGCCCACTCTGACATTCAGAAA CGTCAAATCGGGCCACGTGCCACAGGGAACCTG ACAACAGTAAGAACCACAAAACCAAGGACAACCT TAAAAGGTCAGTGGCCTCCAAATACCCCAAGGAC TGTAAGTGAAGTCGAGCGCACCTACCTGAAAACC AAATCAAGCTCCCCTAGAGACAAGATCTACACTA TAGATGGTGAGAAGGAGCCTGGTTTCCACTTAGA TCCACCCAGTTTGTGAAAATGTGACCCTGCC GAGAACGTGGACTTCCCGGACCCCTACCAGGAT CCCAAGTGAACCTCCGCAAGGGGGACTCCACG CTGCCAATGAACCGGAACCCCTTGCAATGAAG AGGGGCTTTCCAACAACGACCAAGTATAAACTCTA CTCCAAGCACTTCACCTTGAAGACAAGGGTTCC CCGCACAGTGAGACCAGCGAGCGATACCGGCAG AACTCCACGCACTGCAGAAGCTGCCTTTCCAACA TGCCACCTATTAGGCCACTTCACCATGAGGTC CCCCTTCAAGTGCGATGCCTGCCTGCGGATGGG GAACCTCTATGACATCGATGAAGACCAGATGCTT CAGGAGACAGGTAACCCAGCCACCGGGGAGCA GGTCTACCAGCAGGACTGGGCACAGAACAATGC CCTTCAATTACAAAAGAACAAGCTAAGGATTAGC CGTCAGCATTCTACGATAACATTGTCGACAAAC CTAGGGAGCTAGACCTTAGCAGGCCCTCCCGGA GCATAAGCCTCAAGGACAGGGAACGGCTTCTGG AGGGAAATTTTACGGCAGCCTGTTTAGTGTCCC CTCAAGCAAACTCTCGGGGAAAAAAGCTCCCTT TTCCCCAAGGTCTGGAGGACAGCAAGAGGAGC AAGTCTCTCTTGCCAGACCACACCTCCGATAACC CTTTCCTCCACTCCCACAGGGATGACCAACGCTT GGTTATTGGGAGATGCCCTCGGACCCTTACAAA CACTCGTTGCCATCCAGGCGGTGAATGACAGC TATCTTCGGTGTCTCTGAGGTCAACGGCATCGT ACTGTTCCAGGGACAGTCGGGGCCACAATGATG	
--	--	--

10

20

30

40

50

【表 2 - 4 4】

	TGTATATTTTCGGAGCATGTTATGCCTTATGCTGC AAATAAGAATAATATGTACTCTACCCCCAGGGTTT TAAATTCCTGCAGCAATAGACGCGTGTACAAGAA AATGCCTAGTATCGAATCTGATGTTTAA	
SEQ ID NO 93	GACAACCATCTCAGCATCGTCACCCTGGAGGAG GCCCCATTTCGTCATCGTGGAAGACATAGACCCC CTGACCGAGACGTGTGTGAGGAACACCGTGCCA TGTCGGAAGTTCGTCAAAATCAACAATTCAACCA ATGAGGGGATGAATGTGAAGAAATGCTGCAAGG GGTTCTGCATTGATATTCTGAAGAAGCTTTCCAG AACTGTGAAGTTTACTTACGACCTCTATCTGGTG ACCAATGGGAAGCATGGCAAGAAAGTTAACAATG TGTGGAATGGAATGATCGGTGAAGTGGTCTATCA ACGGGCAGTCATGGCAGTTGGCTCGCTCACCAT CAATGAGGAACGTTCTGAAGTGGTGGACTTCTCT GTGCCCTTTGTGGAACGGGAATCAGTGTCTATG GTTTCAAGA	GluN2A S1
SEQ ID NO 94	CAAGTGACCGGCCTCAGTGACAAAAAGTTTCAGA GACCTCATGACTATTCCCCACCTTTTCGATTTGG GACAGTGCCTAATGGAAGCACGGAGAGAAACAT TCGGAATAACTATCCCTACATGCATCAGTACATG ACCAAATTTAATCAGAAAGGAGTAGAGGACGCCT TGGTCAGCCTGAAAACGGGGAAGCTGGACGCTT TCATCTACGATGCCGCGAGTCTTGAATTACAAGGC TGGGAGGGATGAAGGCTGCAAGCTGGTGACCAT CGGGAGTGGGTACATCTTTGCCACCACCGGTTA TGGAATTGCCCTTCAGAAAGGCTCTCCTTGGAAG AGGCAGATCGACCTGGCCTTGCTTCAGTTTGTG GGTGATGGTGAGATGGAGGAGCTGGAGACCCTG TGGCTCACTGGGATCTGCCACAAC	GluN2A S2
SEQ ID NO 95	ATGGGCAGAGTGGGCTATTGGACCCTGCTGGTG CTGCCGGCCCTTCTGGTCTGGCGCGGTCCGGC GCCGAGCGCGGCGGCGGAGGAAGGGTCCCCCG CGCTAAATATTGCGGTGATGCTGGGTCACAGCC ACGACGTGACAGAGCGCGAACTTCGAACACTGT GGGGCCCCGAGCAGGCGGCGGGGCTGCCCTG GACGTGAACGTGGTAGCTCTGCTGATGAACCGC ACCGACCCCAAGAGCCTCATCACGCACGTGTGC GACCTCATGTCCGGGGCACGCATCCACGGCCTC GTGTTTGGGGACGACACGGACCAGGAGGCCGTA GCCCAGATGCTGGATTTTATCTCCTCCCACACCT TCGTCCCCATCTTGGGCATTTCATGGGGGCGCAT	GluN2A ecd incl. signal sequence and GT-linker between S1 and S2

10

20

30

40

50

【表 2 - 4 5】

CTATGATCATGGCTGACAAGGATCCGACGTCTAC CTTCTTCCAGTTTGGAGCGTCCATCCAGCAGCAA GCCACGGTCATGCTGAAGATCATGCAGGATTATG ACTGGCATGTCTTCTCCCTGGTGACCACTATCTT CCCTGGCTACAGGGAATTCATCAGCTTCGTCAAG ACCACAGTGGACAACAGCTTTGTGGGCTGGGAC ATGCAGAAATGTGATCACACTGGACACTTCCTTTG AGGATGCAAAGACACAAGTCCAGCTGAAGAAGA TCCACTCTTCTGTCATCTTGCTCTACTGTTCCAAA GACGAGGCTGTTCTCATTCTGAGTGAGGCCCGC TCCCTTGGCCTCACC GGGTATGATTTCTTCTGGA TTGTCCCAGCTTGGTCTCTGGGAACACGGAGC TCATCCCAAAGAGTTTCCATCGGGACTCATTTT TGTCTCCTACGATGACTGGGACTACAGCCTGGA GGCGAGAGTGAGGGACGGCATTGGCATCCTAAC CACC GCTGCATCTTCTATGCTGGAGAAGTTCTCC TACATCCCCGAGGCCAAGGCCAGCTGCTACGGG CAGATGGAGAGGCCAGAGGTCCCGATGCACACC TTGCACCCATTTATGGTCAATGTTACATGGGATG GCAAAGACTTATCCTTCACTGAGGAAGGCTACCA GGTGCACCCCAGGCTGGTGGTGATTGTGCTGAA CAAAGACCGGGAATGGGAAAAGGTGGGCAAGTG GGAGAACCATACGCTGAGCCTGAGGCACGCCGT GTGGCCCAGGTACAAGTCCTTCTCCGACTGTGA GCCGGATGACAACCATCTCAGCATCGTCACCCT GGAGGAGGCCCCATTCTGCATCGTGGAAGACAT AGACCCCTGACCGAGACGTGTGTGAGGAACAC CGTGCCATGTCGGAAGTTCTGCAAAATCAACAAT TCAACCAATGAGGGGATGAATGTGAAGAAATGCT GCAAGGGGTTCTGCATTGATATTCTGAAGAAGCT TTCCAGAACTGTGAAGTTTACTTACGACCTCTATC TGGTGACCAATGGGAAGCATGGCAAGAAAGTTA ACAATGTGTGGAATGGAATGATCGGTGAAGTGGT CTATCAACGGGCAGTCATGGCAGTTGGCTCGCT CACCATCAATGAGGAACGTTCTGAAGTGGTGGA CTTCTCTGTGCCCTTTGTGGAAACGGGAATCAGT GTCATGGTTTCAAGAGGCACCCAAGTGACCGGC CTCAGTGACAAAAAGTTTCAGAGACCTCATGACT ATTCCCCACCTTTTCGATTTGGGACAGTGCCTAA TGGAAGCACGGAGAGAAACATTGGAATAACTAT CCCTACATGCATCAGTACATGACCAAATTTAATCA GAAAGGAGTAGAGGACGCCTTGGTCAGCCTGAA AACGGGGAAGCTGGACGCTTTCATCTACGATGC CGCAGTCTTGAATTACAAGGCTGGGAGGGATGA AGGCTGCAAGCTGGTGACCATCGGGAGTGGGTA CATCTTTGCCACCACCGGTTATGGAATTGCCCTT	
---	--

10

20

30

40

50

【表 2 - 4 6】

	CAGAAAGGCTCTCCTTGAAGAGGCAGATCGAC CTGGCCTTGCTTCAGTTTGTGGGTGATGGTGAGA TGGAGGAGCTGGAGACCCTGTGGCTCACTGGGA TCTGCCACAAC	
SEQ ID NO 96	ATGAAGCCCAGAGCGGAGTGCTGTTCTCCCAAG TTCTGGTTGGTGTGGCCGTCCTGGCCGTGTCA GGCAGCAGAGCTCGTTCTCAGAAGAGCCCCCCC AGCATTGGCATTGCTGTCATCCTCGTGGGCACTT CCGACGAGGTGGCCATCAAGGATGCCACGAGA AAGATGATTTCCACCATCTCTCCGTGGTACCCCG GGTGGAAGTGGTAGCCATGAATGAGACCGACCC AAAGAGCATCATCACC CGCATCTGTGATCTCATG TCTGACCGGAAGATCCAGGGGGTGGTGTGCT GATGACACAGACCAGGAAGCCATCGCCAGATC CTCGATTTCAATTCAGCACAGACTCTCACCCTCA TCCTGGGCATCCACGGGGGCTCCTCTATGATAAT GGCAGATAAGGATGAATCCTCCATGTTCTTCCAG TTTGCCCATCAATTGAACAGCAAGCTTCCGTAA TGCTCAACATCATGGAAGAATATGACTGGTACAT CTTTCTATCGTCACCACCTATTTCCCTGGCTACC AGGACTTTGTAAACAAGATCCGCAGCACCATTGA GAATAGCTTTGTGGGCTGGGAGCTAGAGGAGGT CCTCCTACTGGACATGTCCCTGGACGATGGAGA TTCTAAGATCCAGAATCAGCTCAAGAACTTCAA AGCCCCATCATTCTTCTTACTGTACCAAGGAAG AAGCCACCTACATCTTTGAAGTGGCCAACTCAGT AGGGCTGACTGGCTATGGCTACACGTGGATCGT GCCCAGTCTGGTGGCAGGGGATACAGACACAGT GCCTGCGGAGTTCCCCACTGGGCTCATCTCTGT ATCATATGATGAATGGGACTATGGCCTCCCCGCC AGAGTGAGAGATGGAATTGCCATAATCACCCTG CTGCTTCTGACATGCTGTCTGAGCACAGCTTCAT CCCTGAGCCCCAAAAGCAGTTGTTACAACCCAC GAGAAGAGAATCTACCAGTCCAATATGCTAAATA GGTATCTGATCAATGTCACTTTTGAGGGGAGGAA TTTGTCTTCAGTGAAGATGGCTACCAGATGCAC CCGAACTGGTGATAATTCTTCTGAACAAGGAGA GGAAGTGGGAAAGGGTGGGGAAGTGAAAGAC AAGTCCCTGCAGATGAAGTACTATGTGTGGCCCC GAATGTGTCCAGAGACTGAAGAGCAGGAGGATG ACCATCTGAGCATTGTGACCCTGGAGGAGGCAC CATTTGTCAATTGTGAAAGTGTGGACCCTCTGAG TGGAACCTGCATGAGGAACACAGTCCCCTGCCA AAAACGCATAGTCACTGAGAATAAAACAGACGAG GAGCCGGGTACATCAAAAAATGCTGCAAGGGG	Human GluN2B NM_000834

10

20

30

40

50

TTCTGTATTGACATCCTTAAGAAAATTTCTAAATC TGTGAAGTTCACCTATGACCTTTACCTGGTTACC AATGGCAAGCATGGGAAGAAAATCAATGGAACCT GGAATGGTATGATTGGAGAGGTGGTCATGAAGA GGGCCTACATGGCAGTGGGCTCACTCACCATCA ATGAGGAACGATCGGAGGTGGTCGACTTCTCTG TGCCCTTCATAGAGACAGGCATCAGTGTCATGGT GTCACGCAGCAATGGGACTGTCTCACCTTCTGC CTTCTTAGAGCCATTCAGCGCTGACGTATGGGTG ATGATGTTTGTGATGCTGCTCATCGTCTCAGCCG TGGCTGTCTTTGTCTTTGAGTACTTCAGCCCTGT GGGTATAACAGGTGCCTCGCTGATGGCAGAGA GCCTGGTGGACCCCTTTTCACCATCGGCAAAGC TATTTGGTTGCTCTGGGGTCTGGTGTTTAACAAC TCCGTACCTGTGCAGAACCCAAAGGGGACCACC TCCAAGATCATGGTGTGCTGAGTGTGGGCCTTCTTTG CTGTGCTCTTCTGCGCCAGCTACACTGCCAACTT AGCTGCCCTTCATGATCCAAGAGGAATATGTGGAC CAGGTTTCTGGCCTGAGCGACAAAAAGTTCCAGA GACCTAATGACTTCTACCCCCCTTTCCGCTTTGG GACCGTGCCCAACGGCAGCACAGAGAGAAATAT TCGCAATAACTATGCAGAAATGCATGCCTACATG GGAAAGTTCAACCAGAGGGGTGTAGATGATGCA TTGCTCTCCCTGAAAACAGGGAAACTGGATGCCT TCATCTATGATGCAGCAGTGCTGAACTATATGGC AGGCAGAGATGAAGGCTGCAAGCTGGTGACCAT TGGCAGTGGGAAGGTCTTTGCTTCCACTGGCTAT GGCATTGCCATCCAAAAAGATTCTGGGTGGAAG CGCCAGGTGGACCTTGCTATCCTGCAGCTCTTTG GAGATGGGGAGATGGAAGAACTGGAAGCTCTCT GGCTCACTGGCATTGTGTACAAATGAGAAGAATGA GGTCATGAGCAGCCAGCTGGACATTGACAACAT GGCAGGGGTCTTCTACATGTTGGGGGCGGCCAT GGCTCTCAGCCTCATCACCTTCATCTGCGAACAC CTTTTCTATTGGCAGTTCCGACATTGCTTTATGG GTGTCTGTTCTGGCAAGCCTGGCATGGTCTTCTC CATCAGCAGAGGTATCTACAGCTGCATCCATGG GGTGGCGATCGAGGAGCGCCAGTCTGTAATGAA CTCCCCCACCAGCAACCATGAACAACACACTCC AACATCCTGCGCCTGCTGCGCACGGCCAAGAAC ATGGCTAACCTGTCTGGTGTGAATGGCTCACCG CAGAGCGCCCTGGACTTCATCCGACGGGAGTCA TCCGTCTATGACATCTCAGAGCACCGCCGCAGC TTCACGCATTCTGACTGCAAATCCTACAACAACC CGCCCTGTGAGGAGAACCTCTTCAGTGACTACAT CAGTGAGGTAGAGAGAACGTTCCGGAACTGCA
--

40

【表 2 - 4 8】

	GCTGAAGGACAGCAACGTGTACCAAGATCACTA CCACCATCACCACCGGCCCATAGTATTGGCAG TGCCAGCTCCATCGATGGGCTCTACGACTGTGA CAACCCACCCTTCACCACCCAGTCCAGGTCCATC AGCAAGAAGCCCCTGGACATCGGCCTCCCCTCC TCCAAGCACAGCCAGCTCAGTGACCTGTACGGC AAATTCTCCTTCAAGAGCGACCGCTACAGTGGCC ACGACGACTTGATCCGCTCCGATGTCTCTGACAT CTCAACCCACACCGTCACCTATGGGAACATCGA GGGCAATGCCGCAAGAGGCGTAAGCAGCAATA TAAGGACAGCCTGAAGAAGCGGCCTGCCTCGGC CAAGTCCCGCAGGGAGTTTGACGAGATCGAGCT GGCCTACCGTCGCCGACCGCCCCGCTCCCCTGA CCACAAGCGCTACTTCAGGGACAAGGAAGGGCT ACGGGACTTCTACCTGGACCAGTTCCGAACAAA GGAGAACTCACCCCACTGGGAGCACGTAGACCT GACCGACATCTACAAGGAGCGGAGTGATGACTT TAAGCGCGACTCCGTCAGCGGAGGAGGGCCCT GTACCAACAGGTCTCACATCAAGCACGGGACGG GCGACAAACACGGCGTGGTCAGCGGGGTACCTG CACCTTGGGAGAAGAACCTGACCAACGTGGAGT GGGAGGACCGGTCCGGGGGCAACTTCTGCCGC AGCTGTCCCTCCAAGCTGCACAACTACTCCACGA CGGTGACGGGTCAGAACTCGGGCAGGCAGGCG TGCATCCGGTGTGAGGCTTGCAAGAAAGCAGGC AACCTGTATGACATCAGTGAGGACAACCTCCCTGC AGGAACTGGACCAGCCGGCTGCCCCAGTGGCG GTGACGTCAAACGCCTCCACCACTAAGTACCCTC AGAGCCCGACTAATTCCAAGGCCCAAGAAGA ACCGGAACAACTGCGCCGGCAGCACTCCTACG ACACCTTCGTGGACCTGCAGAAGGAAGAAGCCG CCCTGGCCCCGCGCAGCGTAAGCCTGAAAGACA AGGGCCGATTGATGGATGGGAGCCCCACGCC ACATGTTTGAGATGTCAGCTGGCGAGAGCACCTT TGCCAACAACAAGTCCTCAGTGCCCACTGCCGG ACATCACCACCACAACAACCCGGCGGCGGGTA CATGCTCAGCAAGTCGCTCTACCCTGACCGGGT CACGCAAAACCTTTTCATCCCCACTTTTGGGGAC GACCACTGCTTGCTCCATGGCAGCAAATCCTACT TCTTCAGGCAGCCACGGTGGCGGGGGCGTCG AAAGCCAGGCCGACTTCCGGGCCCTTGTACC AACAAGCCGGTGGTCTCGGCCCTTCATGGGGCC GTGCCAGCCCGTTTCCAGAAGGACATCTGTATAG GGAACCACTCAACCCCTGTGTGCCTAACAACA AAACCCAGGGCTTTCAATGGCTCCAGCAATGG	
--	---	--

10

20

30

40

50

【表 2 - 4 9】

	GCATGTTTATGAGAACTTTCTAGTATTGAGTCTG ATGTCTGA	
SEQ ID NO 97	ATGAAGCCCAGAGCGGAGTGCTGTTCTCCCAAG TTCTGGTTGGTGTGGCCGTCCTGGCCGTGTCA GGCAGCAGAGCTCGTTCTCAGAAGAGCCCCCCC AGCATTGGCATTGCTGTCATCCTCGTGGGCACTT CCGACGAGGTGGCCATCAAGGATGCCACGAGA AAGATGATTTCCACCATCTCTCCGTGGTACCCCG GGTGGAAGTGGTAGCCATGAATGAGACCGACCC AAAGAGCATCATCACCCGCATCTGTGATCTCATG TCTGACCGGAAGATCCAGGGGGTGGTGTGCT GATGACACAGACCAGGAAGCCATCGCCAGATC CTCGATTTTCATTTACGACAGACTCTCACCCCCA TCCTGGGCATCCACGGGGGCTCCTCTATGATAAT GGCAGATAAGGATGAATCCTCCATGTTCTTCCAG TTTGGCCCATCAATTGAACAGCAAGCTTCCGTAA TGCTCAACATCATGGAAGAATATGACTGGTACAT CTTTTCTATCGTCACCACCTATTTCCCTGGCTACC AGGACTTTGTAAACAAGATCCGCAGCACCATTGA GAATAGCTTTGTGGGCTGGGAGCTAGAGGAGGT CCTCCTACTGGACATGTCCCTGGACGATGGAGA TTCTAAGATCCAGAATCAGCTCAAGAACTTCAA AGCCCCATCATTCTTCTTTACTGTACCAAGGAAG AAGCCACCTACATCTTTGAAGTGGCCAACTCAGT AGGGCTGACTGGCTATGGCTACACGTGGATCGT GCCCAGTCTGGTGGCAGGGGATACAGACACAGT GCCTGCGGAGTTCCCCACTGGGCTCATCTCTGT ATCATATGATGAATGGGACTATGGCCTCCCCGCC AGAGTGAGAGATGGAATTGCCATAATCACCACTG CTGCTTCTGACATGCTGTCTGAGCACAGCTTCAT CCCTGAGCCCCAAAAGCAGTTGTTACAACCCAC GAGAAGAGAATCTACCAGTCCAATATGCTAAATA GGTATCTGATCAATGTCACTTTTGAGGGGAGGAA TTTGTCTTCAGTGAAGATGGCTACCAGATGCAC CCGAACTGGTGATAATTCTTCTGAACAAGGAGA GGAAGTGGGAAAGGGTGGGGAAGTGAAAGAC AAGTCCCTGCAGATGAAGTACTATGTGTGGCCCC GAATGTGTCCAGAGACTGAAGAGCAGGAGGATG ACCATCTGAGCATTGTGACCCTGGAGGAGGCAC CATTTGTCATTGTGAAAAGTGTGGACCCTCTGAG TGGAACCTGCATGAGGAACACAGTCCCCTGCCA AAAACGCATAGTCACTGAGAATAAAACAGACGAG GAGCCGGGTACATCAAAAAATGCTGCAAGGGG TTCTGTATTGACATCCTTAAGAAAATTTCTAAATC TGTGAAGTTCACCTATGACCTTACCTGGTTACC	GluN2B ecd incl. signal sequence and GT-linker between S1 and S2

10

20

30

40

50

【表 2 - 5 0】

	AATGGCAAGCATGGGAAGAAAATCAATGGAACCT GGAATGGTATGATTGGAGAGGTGGTCATGAAGA GGGCCTACATGGCAGTGGGCTCACTCACCATCA ATGAGGAACGATCGGAGGTGGTCGACTTCTCTG TGCCCTTCATAGAGACAGGCATCAGTGTCTATGGT GTCACGCGGCACCCAGGTTTCTGGCCTGAGCGA CAAAAAGTTCCAGAGACCTAATGACTTCTACCCC CCTTTCCGCTTTGGGACCGTGCCCAACGGCAGC ACAGAGAGAAATATTCGCAATAACTATGCAGAAA TGCATGCCTACATGGGAAAGTTCAACCAGAGGG GTGTAGATGATGCATTGCTCTCCCTGAAAACAGG GAAACTGGATGCCTTCATCTATGATGCAGCAGTG CTGAACTATATGGCAGGCAGAGATGAAGGCTGC AAGCTGGTGACCATTTGGCAGTGGGAAGGTCTTT GCTTCCACTGGCTATGGCATTGCCATCCAAAAAG ATTCTGGGTGGAAGCGCCAGGTGGACCTTGCTA TCCTGCAGCTCTTTGGAGATGGGGAGATGGAAG AACTGGAAGCTCTCTGGCTCACTGGCATTGTCA CAAT	
SEQ ID NO 100	ATGGGTGGCGCACTTGGCCCTGCTTTGCTGCTC ACTAGCCTGTTTGGAGCATGGGCTGGTCTTGGG CCAGGTCAAGGCGAGCAAGGGATGACCGTGGC CGTGGTGTCTCCTCAAGTGGACCACCTCAGGC ACAGTTCCGTGCCAGACTGACACCGCAGAGCTT CCTGGATCTCCCACTGGAGATACAGCCTCTCACT GTGGGCGTGAACACCACCAATCCCTCATCCCTG CTGACACAGATCTGCGGACTTCTGGGTGCAGCC CATGTCCACGGGATCGTGTTTCGAGGACAACGTG GACACAGAAGCCGTAGCCCAGATTCTGGACTTC ATCAGCTCACAGACCCACGTTCCATTCTGAGCA TTAGTGGCGGGAGCGCTGTAGTGCTCACTCCCA AAGAGCCGGGGTCTGCATTTCTGCAGCTCGGAG TAAGCCTTGAGCAGCAGCTCCAGGTCTTGTTCAA GGTGCTGGAAGAGTACGACTGGTCTGCGTTTGC CGTCATCACCTCTCTGCATCCTGGCCATGCTCTG TTTCTGGAAGGCGTTAGGGCTGTCGCCGATGCG TCCCACGTCAGTTGGCGTTGCTGGATGTGGTC ACGTTGGAGCTTGGACCTGGAGGCCCCAGGGCC AGAACACAGCGACTGCTGCGCCAACCTGGATGCT CCCGTGTGTGTGGCCTATTGTTCCCGCGAGGAG GCCGAGGTGCTCTTCGCCGAGGCGGCGCAGGC CGGTCTGGTGGGGCCCGGCCACGTGTGGCTGG TGCCCAACCTGGCGCTGGGCAGCACCGATGCGC CCCCCGCCACCTTCCCCGTGGGCCTCATCAGCG TCGTACCGAGAGCTGGCGCCTCAGCCTGCGCC	DNA seq of fusion protein #9 N2C-ATD- Fc

10

20

30

40

50

【表 2 - 5 1】

	AGAAGGTGCGCGACGGCGTGGCCATTCTGGCCC TGGGCGCCACAGCTACTGGCGCCAGCATGGAA CCCTGCCAGCCCCGGCCGGGACTGCCGTGTT CACCCCTGGGCCCCGTCAGCCCTGCCCGGGAGGC CTTCTACAGGCACCTACTGAATGTCACCTGGGAG GGCCGAGACTTCTCCTTCAGCCCTGGTGGGTAC CTGGTCCAGCCCACCATGGTGGTGATCGCCCTC AACCGGCACCGCCTCTGGGAGATGGTGGGGCG CTGGGAGCATGGCGTCTATACATGAAGTACCC CGTGTGGCCTCGCTACAGTGCCTCTCTGCAGCC TGTGGTGGACAGTCGGCACCTGACGGTGGGCTC GAGCACCATGGTTAGATCTAGCAAGCCCACGTG CCCACCCCTGAACTCTGGGGGGACCGTCTGT CTTTCATCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCTC ATGATCTCACGCACCCCGAGGTCACATGCGTG GTGGTGGACGTGAGCCAGGATGACCCCGAGGT GCAGTTCACATGGTACATAAACAACGAGCAGGTG CGCACCGCCCGGCCGCGCTACGGGAGCAGCA GTTCAACAGCACGATCCGCGTGGTCAGCACCCCT CCCCATCGCGCACCCAGGACTGGCTGAGGGGCAA GGAGTTCAAGTGCAAAGTCCACAACAAGGCACT CCCGGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGC CAGAGGGCAGCCCCGAGGCCGAAGGTCTACAC CATGGGGCCCTCCCCGGGAGGAGCTGAGCAGCA GGTGCGTCAGCCTGACCTGCATGATCAACGGCT TCTACCCTTCCGACATCTCGGTGGAGTGGGAGA AGAACGGGAAGGCAGAGGACAACATAAGACCA CGCCGGCCGTGCTGGACAGCGACGGCTCCTACT TCCTCTACAGCAAGCTCTCAGTGCCACGAGTGA GTGGCAGCGGGGCGACGTCTTACCTGCTCCGT GATGCACGAGGCCTTGACAACCACTACACGCA GAAGTCCATCTCCCGCTCTCCGGGTAATGA	
SEQ ID NO 101	ATGGGTGGCGCACTTGGCCCTGCTTTGCTGCTC ACTAGCCTGTTTGGAGCATGGGCTGGTCTTGGG CCAGGTCAAGGCAGCAAGGGATGACCGTGGC CGTGGTGTCTCCTCAAGTGGACCACCTCAGGC ACAGTTCCGTGCCAGACTGACACCGCAGAGCTT CCTGGATCTCCCACTGGAGATACAGCCTCTCACT GTGGGCGTGAACACCACCAATCCCTCATCCCTG CTGACACAGATCTGCGGACTTCTGGGTGCAGCC CATGTCCACGGGATCGTGTTGAGGACAACGTG GACACAGAAGCCGTAGCCCAGATTCTGGACTTC ATCAGCTCACAGACCCACGTTCCATTCTGAGCA TTAGTGCGGGAGCGCTGTAGTGCTCACTCCCA AAGAGCCGGGGTCTGCATTTCTGCAGCTCGGAG	Amino terminal domain of GluN2C (including signal sequence) as for example used in fusion protein #9

10

20

30

40

50

【表 2 - 5 2】

TAAGCCTTGAGCAGCAGCTCCAGGTCTTGTTCAA GGTGCTGGAAGAGTACGACTGGTCTGCGTTTGC CGTCATCACCTCTCTGCATCCTGGCCATGCTCTG TTTCTGGAAGGCGTTAGGGCTGTCGCCGATGCG TCCACGTCAGTTGGCGGTTGCTGGATGTGGTC ACGTTGGAGCTTGGACCTGGAGGCCCCAGGGCC AGAACACAGCGACTGCTGCGCCAAGTGGATGCT CCCGTGTTTGTGGCCTATTGTTCCCGCGAGGAG GCCGAGGTGCTCTTCGCCGAGGCGGCGCAGGC CGGTCTGGTGGGGCCCCGGCCACGTGTGGCTGG TGCCCAACCTGGCGCTGGGCAGCACCGATGCGC CCCCCGCCACCTTCCCCGTGGGCCTCATCAGCG TCGTACCCGAGAGCTGGCGCCTCAGCCTGCGCC AGAAGGTGCGCGACGGCGTGGCCATTCTGGCCC TGGGCGCCACAGCTACTGGCGCCAGCATGGAA CCCTGCCAGCCCCGGCCGGGACTGCCGTGTT CACCCTGGGCCCCGTCAGCCCTGCCCGGGAGGC CTTCTACAGGCACCTACTGAATGTCACCTGGGAG GGCCGAGACTTCTCCTTCAGCCCTGGTGGGTAC CTGGTCCAGCCCACCATGGTGGTGATCGCCCTC AACCGGCACCGCCTCTGGGAGATGGTGGGGCG CTGGGAGCATGGCGTCTATACATGAAGTACCC CGTGTGGCCTCGCTACAGTGCCTCTCTGCAGCC TGTGGTGGACAGTCGGCACCTGACGGTG	
---	--

10

20

【0095】

本発明は更に、それぞれのNMDARタンパク質コンストラクトの機能的に類似した配列、ドメイン、リンカー及び更にそのコンストラクトによって構成される要素に関する。アミノ酸配列、及びかかる分子をコードする核酸配列の置換により起こり得る、本発明のNMDARタンパク質コンストラクトに対するタンパク質修飾もまた、本発明の範囲内に含まれる。本明細書で定義される置換は、タンパク質のアミノ酸配列に対して行われた修飾であり、それによって1つ以上のアミノ酸が同じ数の（異なる）アミノ酸で置き換えられ、一次タンパク質とは異なるアミノ酸配列を含むタンパク質を産生する。幾つかの実施形態において、この修正は、タンパク質の機能を著しく変化させるものではない。付加と同様に、置換は天然でも人工でもよい。アミノ酸置換はタンパク質の機能を著しく変化させることなく行われ得ることは、当該技術分野ではよく知られている。これは、修飾が、1つのアミノ酸の類似する特性の別のアミノ酸への置換である、「保存的」アミノ酸置換に関する場合に特に当てはまる。かかる「保存的」アミノ酸は、サイズ、電荷、極性及び立体構造のため、タンパク質の構造及び機能に著しく影響を与えることなく置換され得る、天然又は合成アミノ酸であり得る。多くの場合、多くのアミノ酸は、タンパク質の機能に有害な影響を与えることなく、保存的アミノ酸によって置換され得る。

30

40

【0096】

一般に、非極性アミノ酸Gly、Ala、Val、Ile及びLeu；非極性芳香族アミノ酸Phe、Trp及びTyr；中性極性アミノ酸Ser、Thr、Cys、Gln（Gin）、Asn及びMet；正に帯電したアミノ酸Lys、Arg及びHis；負に帯電したアミノ酸Asp及びGluは、保存的アミノ酸群となる。この一覧は網羅的ではない。例えば、Ala、Gly、Ser、また時にはCysは、異なる群に属しているにもかかわらず、互いに置換可能であることはよく知られている。

【0097】

本明細書で説明するとおり、本発明に関連して、本発明のNMDARタンパク質コンストラクトは、タンパク質レベルで、又はそれぞれのNMDARタンパク質コンストラクト（2以

50

上のタンパク質を含み得る)をコードする1つ以上の核酸の形態で提供され得る。

【0098】

本発明の核酸配列は、NMDARタンパク質コンストラクト又は本発明のNMDARタンパク質コンストラクトの一部を形成する個々のタンパク質をコードする核酸配列を含む。表1によるタンパク質配列及び機能的に類似する配列は、本発明の好ましいNMDARタンパク質コンストラクト又はその一部を表す。本発明のNMDARタンパク質コンストラクト又はその一部をコードする好ましい核酸配列を、表2に列挙する。

【0099】

本発明のNMDARタンパク質コンストラクトは、例えばタンパク質タグに対して向けられた抗体を用いて標準的な技術により提供されるNMDARタンパク質コンストラクトの容易な同定又は結合を可能にするタンパク質タグを含むことができる。本発明の核酸配列がコードすることができる好ましいタンパク質タグは、V5タグ、mycタグ、HAタグ、HISタグ又は抗体Fc断片である。V5タグの代わりに代替タグを使用することができる。かかる代替物は、当該技術分野においてよく知られており、当業者によって選択され得る。

【0100】

別の態様では、本発明は、本明細書に開示されるNMDARタンパク質コンストラクト並びに本明細書に開示される方法に関連したそれらの使用を包含する。特に、本発明はまた、本発明のNMDARタンパク質コンストラクトをコードする核酸分子、及び特にかかるNMDARタンパク質コンストラクト又はかかるコンストラクトの一部をコードする1つ以上の核酸分子に関し、

a) NMDARサブユニットGluN1のECD又はその断片と、GluN2A、GluN2B、GluN2C若しくはGluN2Dの少なくとも1つのNMDARサブユニットのECD、又はその断片と、好ましくは二量体化ドメイン及び／又は捕捉ドメインとをコードするヌクレオチド配列を含む1つ以上の核酸分子と、

b) a) に記載のヌクレオチド配列と相補的な1つ以上の核酸分子と、

c) ストリンジェントな条件下で、a) 又はb) に記載のヌクレオチド配列とのハイブリダイゼーションを受ける1つ以上の核酸分子と、

d) a) 、b) 又はc) に記載のヌクレオチド配列に機能的に類似する十分な配列同一性を有するヌクレオチド配列を含む1つ以上の核酸分子と、

e) 遺伝コードの結果として、a) ～d) に記載のヌクレオチド配列に縮重される1つ以上の核酸分子と、

f) 欠失、付加、置換、転位、反転及び／又は挿入によって修飾され、a) ～e) に記載のヌクレオチド配列に機能的に類似するa) ～e) のヌクレオチド配列に記載の1つ以上の核酸分子と、

を含む群から選択される。

【0101】

さらに、本発明はまた、本発明のNMDARタンパク質コンストラクトをコードする核酸分子、及び特にかかるNMDARタンパク質コンストラクト又はかかるコンストラクトの一部をコードする1つ以上の核酸分子に関し、

g) NMDARサブユニットGluN1のECD又はその断片と、NMDARサブユニットGluN2AのECD若しくはその断片及び／又はGluN2BのECD若しくはその断片と、好ましくは二量体化ドメイン及び／又は捕捉ドメインとをコードするヌクレオチド配列を含む1つ以上の核酸分子と、

h) a) に記載のヌクレオチド配列と相補的な1つ以上の核酸分子と、

i) ストリンジェントな条件下で、a) 又はb) に記載のヌクレオチド配列とのハイブリダイゼーションを受ける1つ以上の核酸分子と、

j) a) 、b) 又はc) に記載のヌクレオチド配列に機能的に類似する十分な配列同一性を有するヌクレオチド配列を含む1つ以上の核酸分子と、

k) 遺伝コードの結果として、a) ～d) に記載のヌクレオチド配列に縮重される1つ以上の核酸分子と、

l) 欠失、付加、置換、転位、反転及び／又は挿入によって修飾され、a) ～e) に記載のヌクレオチド配列に機能的に類似するa) ～e) のヌクレオチド配列による1つ以上の核酸分子と、
を含む群から選択される。

【0102】

したがって、本発明は、本発明のNMDARタンパク質コンストラクト又はその一部をコードする核酸分子と少なくとも60%、好ましくは70%、より好ましくは80%、特に好ましくは90%の配列同一性を有する核酸分子を包含する。

【0103】

例えば提供された%配列同一性によって規定され、本発明の上記特性を維持する特許請求の範囲に記載の核酸及び／又はタンパク質の配列変異体も本発明の範囲に含まれる。代替配列を示すが、提供される特定配列と本質的に同じ特性、例えば本発明の各NMDARタンパク質コンストラクトの自己抗体結合特性を維持する、かかる変異体は、機能類似体として、又は機能的に類似しているものとして知られている。配列同一性は、例えばBLAST等のソフトウェアを用いて配列アライメントを行う場合の同一ヌクレオチド又はアミノ酸のパーセンテージに関する。

【0104】

当業者は、遺伝コードの縮重の結果として、本明細書に記載されるポリペプチドをコードする多くのヌクレオチド配列が存在することを理解するであろう。これらのポリヌクレオチドの幾つかは、任意の天然遺伝子のヌクレオチド配列に最小限の相同性又は配列同一性を有する。それにもかかわらず、コドン使用頻度の違いによって変化するポリヌクレオチドが、本発明によって具体的に意図される。記載される配列同一性に該当する配列における欠失、置換及び他の変化も、本発明に包含される。

【0105】

自己抗原及び疾患の説明

本発明は、1つ以上のNMDAR自己抗体エピトープを含む可溶性N-メチル-D-アスパラギン酸受容体(NMDAR)タンパク質コンストラクトに関する。本明細書で使用される場合、「NMDAR自己抗体エピトープ」という用語は、NMDARによって(NMDARの2以上のサブユニットの残基又はアミノ酸を含む個々のサブユニット又はエピトープのいずれかによって)形成されるエピトープに関する。さらに、NMDARサブユニットの立体構造は、別のサブユニットのECD又はECDの断片の存在によってのみ安定化され得て、或る特定のエピトープは、かかる立体構造の安定化時にのみ形成され得る。本発明に関連して、NMDARタンパク質コンストラクト及び本発明のコンストラクトによって形成されるエピトープを自己抗原と称することができる。自己抗原と抗体との間の結合自体は、確立された現象であり、本質的に任意の所与の抗体とその標的との間の物理的相互作用を反映する。

【0106】

自己抗体が、典型的には、主に中枢又は末梢神経系のいずれかの自己抗原を標的とする種々の神経学的自己免疫状態が当業者に知られている。しかしながら、中枢神経系と末梢神経系の両方に存在する標的に対して自己抗体が向けられる医学的状态も知られている。本発明は、したがって、自己抗体が主に中枢神経系の成分を標的とするか、又は該自己抗体の病原性の影響が中枢神経系における自己抗原を標的とする自己抗体によって引き起こされる疾患に関連した本発明のNMDARタンパク質コンストラクトの使用を想定する。

【0107】

本明細書で使用される場合、「中枢神経系」又はCNSとは、脳及び脊髄からなる神経系の一部を指す。CNSは背側体腔内に含まれ、脳が頭蓋腔に収容され、脊髄が脊髄管内に収容される。CNSは白質と灰白質に分かれる。これはまた、脳組織上で巨視的に見ることができる。白質は軸索と乏突起膠細胞とからなり、灰白質はニューロンと無髄線維とからなる。両方の組織は、多くのグリア細胞を含み(但し、白質はより多くのグリア細胞を含む)、CNSの支持細胞と呼ばれることが多い。脊髄から、更には脊髄に向かって、脊髄神経の形態の末梢神経系が伸びている。神経は、脊髄と皮膚、関節、筋肉等とを繋ぎ、遠心性

運動の伝達だけでなく、求心性の感覚シグナル及び感覚刺激の伝達を可能にする。これは、筋肉の随意及び不随意の動きと並んで、感覚の知覚を可能にする。

【0108】

本明細書で使用される場合、「末梢神経系」(PNS)は、脳及び脊髄外の神経及び神経節からなる。PNSの主な機能は、CNSと手足及び器官とを繋ぎ、本質的に脳及び脊髄と身体の残りの部分との間の中継として機能することである。CNSとは異なり、PNSは脊柱及び頭蓋骨、又は血液脳関門によって保護されていない。

【0109】

新たな研究は現在、自己抗体がCNSにアクセスでき (Zong et al Front Immunol.2017; 8:752)、自己抗体産生B細胞がCNSに存在することを示す。正常な条件下では、免疫グロブリンは低い速度で血液脳関門 (BBB) を通過し、良い例は免疫グロブリンG (IgG) である。脳脊髄液 (CSF) におけるIgG濃度は、末梢循環におけるレベルのおよそ1%である。これは、自己抗体がCNSに到達すると、自己免疫性脳炎で観察されているように疾患を引き起こす可能性があることを示す。或る特定の状況では、脳卒中、脳外傷、出血、微小血管症、又は脳腫瘍のためにBBBが漏れやすくなり、抗体の浸透が増加する可能性がある。

【0110】

本明細書で使用される場合、「自己抗体媒介性精神状態」という用語は、自己抗体、好ましくは中枢神経系において主に標的とされる自己抗原に向けられる自己抗体の存在を含む任意の医学的状态に関し、精神医学的 (神経精神) 症状も観察される。脳炎及び重度の精神障害を含む多くの中枢神経系障害は、特定の神経表面自己抗体 (NSAb) と関連することが実証されている。神経表面抗原及びイオンチャネルを標的とする特異的自己抗体が、重度の精神障害、すなわち神経精神症状を引き起こすことが明らかになっている。多くの研究は、統合失調症及び双極性障害等の特定の精神状態における自己抗体の存在を示す。追加の障害は、統合失調症、双極性障害、MDD、物質誘発精神病、ハンチントン病、アルツハイマー病、及び神経精神全身性エリテマトーデス等の神経精神障害に関する (Zong et al, Front Immunol. 2017; 8:752)。

【0111】

幾つかの実施形態において、本発明を用いて治療又は診断される疾患は、自己免疫性脳症又は脳脊髄障害である。「脳症」は、典型的には、脳の任意の障害又は疾患、特に慢性変性状態である。脳症は、永久的な (又は変性的な) 脳損傷、又は可逆的な傷害を指す場合がある。脳症は脳への直接の傷害、又は脳から離れた疾病に起因する可能性がある。症状としては、しばしば、能力障害、易怒性、激越、せん妄、錯乱、傾眠、昏迷、昏睡、及び精神障害が挙げられる。本明細書で使用される場合、「自己免疫性脳症」とは、自己免疫性脳炎を含む自己免疫成分による任意の脳疾患を指す。本明細書で使用される場合、「自己免疫性脳脊髄障害」は、自己免疫成分による脳及び脊髄の両方を冒す任意の疾患である。

【0112】

抗N-メチル-D-アスパラギン酸 (NMDA) 受容体脳炎は、女性に頻繁に起こる脳炎の一種であり、主にNR1サブユニットであるが、NMDA受容体のNR1 (GluN1) 及び／又はNR2サブユニットに対する抗体と関連している。抗NMDA受容体脳炎は、臨床症候群を詳細に特性決定した複数の大規模な研究で数年前に最初に説明された (非特許文献19)。抗NMDAR脳炎の患者は、主に小児及び若い女性を冒す特徴的な临床上多段的な特徴を伴う重症型脳炎に罹患する。抗NMDAR脳炎は、精神症状、記憶障害及びてんかん発作から意識喪失、自律神経機能障害、ジスキネジア及び低換気状態へと進行する (Dalmau et al. Lancet Neurol. 2011; 10:63-74、Pruess et al. 2010, Neurology. 75(19):1735-9、Pruess et al. 2013, Neurology. 75(19):1735-9)。この疾患の顕著な特徴は、NMDAR1のNR1/GluN1サブユニットに対する抗体である。これは、NMDAR脳炎が2007年以前に脳炎の明確なサブグループとして認識されなかったことから、脳炎の治療概念を大きく変えた。したがって、NMDAR脳炎は、以前は原因不明の脳炎と考えられており、十

10

20

30

40

50

分に治療されてこなかった。

【0113】

N-メチル-D-アスパラギン酸受容体（NMDA 受容体又はNMDARとしても知られる）は、神経細胞に見られるグルタミン酸受容体及びイオンチャネルタンパク質である。NMDA受容体は、3つのタイプの電離性グルタミン酸受容体の1つである。他の受容体は、AMPA受容体及びカイニン酸受容体である。グルタミン酸及びグリシン（又はD-セリン）がNMDARに結合すると活性化され、活性化されると正に帯電したイオンが細胞膜を流れる。NMDA受容体は、シナプス可塑性及び記憶機能を制御するために非常に重要である。受容体は通常、3つの異なるサブユニットNR1、NR2、及びNR3によって複数の細胞内タンパク質と相互作用する異種複合体としてアセンブルされる。NR1は、単一の遺伝子から選択的スプライシングによって生成される8つの異なるアイソフォームを有する。4つの異なるNR2サブユニット（A～D）があり、20世紀後半にNR3A及びNR3Bサブユニットが報告されている。6つの別々の遺伝子がNR2及びNR3をコードする。より最近の命名法によれば、サブユニットはNR1、NR2及びNR3の代わりにそれぞれGluN1、GluN2及びGluN3と呼ばれる。サブユニットの代替変異体は、それに応じて識別される（例えばNR2A及びNR2BはそれぞれGluN2A及びGluN2Bと識別される）。

【0114】

各受容体サブユニットは、モジュール設計を有する。細胞外ドメインは、アミノ末端ドメイン（ATD、調節性ドメインと呼ばれこともある）とリガンド結合ドメインの2つの球状構造を含む。NR1サブユニットは共アゴニストグリシンを結合し、NR2サブユニットは神経伝達物質グルタメートを結合する。アゴニスト結合モジュールは、3つの膜貫通セグメントとカリウムチャネルの選択性フィルタを連想させるリエントラント（re-entrant）ループとからなる膜ドメインに連結する。膜ドメインは、チャネルポアに残基を寄与し、受容体の高単位コンダクタンス、高カルシウム透過性、及び電圧依存性マグネシウムブロックを担う。各サブユニットは広範な細胞質ドメインを有し、一連のタンパク質キナーゼ及びタンパク質ホスファターゼによって直接修飾され得る残基、並びに多数の構造タンパク質、アダプタータンパク質、及び足場タンパク質と相互作用する残基を含む。

【0115】

NMDAR NR1/GluN1は、カルシウム透過性及びマグネシウムに対する電圧依存感度が高いヘテロ四量体、リガンドゲートイオンチャネルとして機能するNMDA受容体複合体の成分である。チャネル活性化は、神経伝達物質グルタメートをGluN2サブユニットに結合し、グリシンをGluN1サブユニットに結合し、更に膜脱分極を加えて、Mg²⁺によるチャネル阻害を排除する必要がある。多くのNMDAR NR1タンパク質のタンパク質アイソフォームが知られており、例えば、限定されるものではないが、Gene Bankアクセス番号XP_011516885.1、XP_005266130.1、XP_005266129.1、XP_005266128.1、NP_001172020.1、NP_001172019.1、NP_000823.4、NP_015566.1、NP_067544.1のものである。上記の配列若しくはアイソフォーム、又はその機能的に類似した誘導体のうちの任意の1つ以上は、本発明のNMDARタンパク質コンストラクトに関連して採用され得る。

【0116】

GluN2/NR2に関しては、無脊椎生物には単一のサブユニットしか見られないが、脊椎動物ではNR2サブユニットの4つの異なるアイソフォームが発現され、命名法によりNR2A/GluN2AからNR2D/GluN2D（GRIN2A、GRIN2B、GRIN2C、GRIN2Dによってコードされる）と称される。それらは、神経伝達物質であるグルタメートに対する結合部位を含む。NR1サブユニットとは異なり、NR2サブユニットは、様々な細胞型にわたって差次的に発現され、NMDA受容体の電気生理学的特性を制御する。1つの特定のサブユニットNR2Bは、主に未熟なニューロン内及びシナプス外の場所に存在し、選択的阻害剤イフェンブロジルに対する結合部位を含む。NR2Bは出生後初期の脳で優勢であるのに対し、NR2Aサブユニットの数は増加し、最終的にはNR2AサブユニットはNR2Bを上回る。これはNR2B-NR2A発達スイッチと呼ばれ、各NR2サブユニットが受容体に与える種々の動態のために

注目に値する。例えば、NR2Bサブユニットのより大きな比率は、より多くのNR2Aの場合と比較して長く開いたままのNMDA受容体をもたらす。

【0117】

NMDARは、活性の増強又は低下のいずれかの様々な生理学的役割及び任意の機能不全を有し、統合失調症、双極性障害、MDD、物質誘発精神病、ハンチントン病、アルツハイマー病、及び神経精神全身性エリテマトーデス（NPSLE）等の神経精神障害を引き起こす可能性がある。したがって、NMDARは、鬱病を含む複数の精神障害において重要な役割を果たす。さらに、非定型認知症を有する患者のサブグループは、抗NMDAR1抗体を有し、それによって、NMDARに対する自己抗体に関連する医学的状态として認定され、また全ての抗体の非特異的除去によるかかるNMDAR自己抗体の除去は、選択された症例において臨床的改善をもたらした（Pruess et al. 2010, *Neurology*, 75(19):1735-9, Doss et al. 2014 *Ann Clin Transl Neurol*, 1 (10):822-32）。さらに、自閉症は、自己抗体媒介性障害に罹患している母親の子供に発生する場合がある。幾つかの研究は、新生児における循環母体自己抗体の存在と神経機能障害との間に相関関係を発見した（Fox-Edmiston et al, 2015, *CNS Drugs*, 29(9):715-724）。具体的には、妊娠中に胎児コンパートメントにアクセスする可能性のある母体の抗脳自己抗体が、自閉症スペクトラム障害（ASD）を発症する危険因子の1つとして同定されている。NMDAR自己抗体の存在は、したがって、疾患を有する母親の子孫に自閉症を引き起こし得るため、本発明はまた、小児におけるかかる障害の可能性のある治療及び／又はかかる疾患を回避するための予防的アプローチとなる。

【0118】

このように、病因に対するNMDAR自己抗体の寄与が説明又は示唆されている任意の医学的状态は、例えばNMDAR自己抗体及び疾患症状の発生の相関に起因して、NMDAR自己抗体に関連する医学的状态として適格である。さらに、本発明のコンストラクトを、かかる抗体の存在に対するNMDAR自己抗体に関連する状態として説明又は示唆されている状態に罹患している患者の試料を分析するために使用することができ、その後、本発明により治療することができる。

【0119】

主にGluN1サブユニットを標的とする自己免疫性脳炎における抗NMDARとは対照的に、自己抗体はNMDARのGluN2サブユニットを標的とすることが判明しており、これらは全身性エリテマトーデス（SLE）患者における鬱病と関連していた（Laptev et al. *Arthritis Rheum* (2006) 54(8):2505-14）。

【0120】

NMDAR自己抗体を検出するin vitroの方法の態様

自己抗体は、免疫系によって製造された抗体（タンパク質の一種）であり、その個体自身の1つ以上のタンパク質に対して向けられる。多くの自己免疫疾患は、かかる自己抗体に関連付けられている、及び／又は自己抗体によって引き起こされる。

【0121】

「自己免疫疾患」という用語は、自己抗体の存在に関連する及び／又はこれに起因する任意の所与の疾患を指す。自己免疫疾患は、体内に通常存在する物質及び組織に対する身体の異常な免疫応答（自己免疫）から生じる。これは、或る特定の臓器に制限されるか、又は特定の組織に関与する可能性がある。

【0122】

本明細書で使用される場合、「試料」という用語は、患者又は被験体から取得又は単離される生物学的試料である。本明細書で使用される場合、「試料」は、例えば、患者等の対象の被験体の診断、予後予測、又は評価を目的として得られる体液又は組織の試料を指す。本明細書において好ましくは、試料は、血液、血清、血漿、脳脊髄液、尿、唾液、痰、胸水、細胞、細胞抽出物、組織試料、組織生検試料、便試料等の体液の試料である。

【0123】

「個体」、「被験体」、又は「患者」という用語は、典型的にはヒトを指すが、例えば

、他の霊長類、齧歯類、イヌ、ネコ、ウマ、ヒツジ、ブタ等を含む他の動物も指す。本明細書で使用される場合、「患者」又は「被験体」は脊椎動物であり得る。本発明に関連して、「被験体」という用語は、ヒト及び動物の両方、特に哺乳動物、及び他の生物を含む。

【0124】

本明細書で使用される場合、「診断」、「予後予測」及び「可能性の評価」という用語は、被験体が、NMDAR自己抗体に関連する医学的状態を有している、又はそれを有する及び／又は発症するリスクがあるかどうかの確率を決定することに関する。

【0125】

「診断」及び「診断すること」という用語は、個体における医学的に関連する障害の有無又は有無の可能性を決定するためのNMDARタンパク質コンストラクト、方法、キット及び本発明の更なる態様の使用を含む。この用語はまた、個体における疾患活動のレベルを評価するための装置、方法及びシステムも含む。幾つか実施形態において、統計アルゴリズムは、Truelove et al., Br. Med. J., 12:1041-1048 (1955)によって開発された基準に基づいて、軽度、中等度、重度、又は劇症型の障害を診断するために使用される。他の実施形態において、統計アルゴリズムは、軽度から中等度、中等度から重度、又は重度から劇症型のNMDAR自己抗体に関連する自己免疫疾患を診断するために使用される。

【0126】

本発明はまた、自己免疫疾患の進行又は退行のモニタリング及び治療モニタリングとしても知られている疾患モニタリングの方法の使用を包含する。「モニタリング」という用語は、個体の疾患状態（例えば、自己免疫疾患の存在又は重症度）を決定するための本明細書に開示されるNMDARコンストラクト、並びに本発明の方法及び他の態様の使用を含む。或る特定の例では、統計アルゴリズム（例えば、学習統計分類システム）の結果を、早期に同じ個体について得られた結果と比較する。幾つかの態様では、本発明のキット、コンストラクト、装置、方法、及びシステムを、例えば、試料中の少なくとも1つのマーカー（1種以上のNMDAR自己抗体等）の存在又はレベルに基づいて個体において自己免疫疾患が急速に又はゆっくりと進行する可能性を決定することによって、自己免疫疾患の進行を予測するために使用することもできる。本発明はまた、例えば、試料中の少なくとも1つのマーカーの存在又はレベルに基づいて、自己免疫疾患が個体において急速に又はゆっくりと退行する可能性を決定することによって自己免疫疾患の退行を予測するために使用することもできる。また、治療モニタリングを行い、それによって、任意の所与の治療の過程で疾患の進行について被験体をモニターすることができる。

【0127】

本発明の態様では、NMDAR自己抗体の存在又はレベルは、免疫測定法又は免疫組織化学アッセイを用いて決定される。本発明の方法での使用に適した免疫測定法の非限定的な例としては、ELISAが挙げられる。本発明の方法での使用に適した免疫組織化学的アッセイの例としては、限定されるものではないが、直接蛍光抗体アッセイ、IFAアッセイ、抗補体免疫蛍光アッセイ、及びアビジン-ビオチン免疫蛍光アッセイ等の免疫蛍光アッセイが挙げられる。他のタイプの免疫組織化学的アッセイとしては、免疫ペルオキシダーゼアッセイが挙げられる。

【0128】

本発明に関連して「親和性試薬」という用語は、抗体、ペプチド、核酸、小分子、又はその活性を同定、追跡、捕捉若しくはそれに影響を与えるために標的分子に特異的に結合する任意の他の分子に関する。「捕捉する」という用語は、親和性試薬による標的分子の結合をいう。

【0129】

「二次親和性試薬」という用語は、上記の定義による任意の親和性試薬を指し、これは既に別の親和性試薬によって結合されている抗原に結合するために使用される。

【0130】

本明細書で使用される場合、「抗体」という用語は、ポリクローナル若しくはモノクローナル及び任意のアイソタイプであり得る免疫グロブリン分子の集団、又は免疫グロブリ

10

20

30

40

50

ン分子の免疫学的に活性な断片を含む。かかる免疫学的に活性な断片は、抗原に特異的に結合する抗体分子の一部を構成する重鎖及び軽鎖可変領域を含む。例えば、Fab、Fab'又はF(ab')₂として当該技術分野で知られている免疫グロブリン分子の免疫学的に活性な断片が、抗体という用語の意味のうちに含まれる。「モノクローナル抗体」という用語は、幾つかの異なる免疫細胞から作られるポリクローナル抗体とは対照的に、特有の親細胞の全てのクローンである同一の免疫細胞によって作られる抗体を指す。モノクローナル抗体は、同一エпитープ（抗体によって認識される抗原の一部）に結合するという点で、一価の親和性を有することができる。また、抗体の各「アーム」が異なるエпитープに特異的である、操作された二重特異性モノクローナル抗体も存在する。ほぼ全ての物質を考慮すると、その物質に特異的に結合するモノクローナル抗体を製造することが可能であり、次いで、モノクローナル抗体はその物質を検出又は精製するはたらきをする。

【0131】

実施形態において、本発明は、試料中のNMDAR自己抗体を検出するin vitroの方法に関する。実施形態において、該方法は免疫測定法である。試料溶液の添加に続いて、その中に含まれる患者の抗体は、NMDARタンパク質コンストラクトに結合する。例えば患者の血清又は便から取得され、NMDARタンパク質コンストラクトに結合した抗体は、その後標識又は標識された試薬を用いて検出することができ、任意に定量することができる。そのため、本発明によれば、この方法における抗体の検出は、よく知られているELISA（酵素結合免疫吸着アッセイ）技術による標識試薬を用いて行うことができる。したがって本発明による標識は、光学的手段によって、特に発色基質、化学発光法又は蛍光色素を用いて決定することができる化学反応を触媒する酵素を含む。別の好ましい実施形態において、自己抗体は、生じた放射能が測定される放射免疫アッセイ（RIA）における弱い放射性物質で標識することによって検出される。

【0132】

本発明の方法における標識を検出する手段の例として、競合及び非競合免疫測定法を含む様々な免疫測定法の技術を用いて、試料中の1つ以上のマーカの存在又はレベルを決定することができる（例えば、Self et al., Curr. Opin. Biotechnol., 7:60-65 (1996)を参照されたい）。免疫測定法という用語は、限定されるものではないが、酵素増幅免疫測定技術（EMIT）、酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）、抗原捕捉ELISA、サンドイッチELISA、IgM抗体捕捉ELISA（MAC ELISA）、及び微粒子酵素免疫測定法（MEIA）等の酵素免疫測定法（EIA）；キャピラリー電気泳動免疫測定法（CEIA）；放射性免疫測定法（RIA）；免疫放射測定アッセイ（IRMA）；蛍光偏光免疫測定法（FPIA）；並びに化学発光アッセイ（CL）を含む技術を包含する。必要に応じて、かかる免疫測定法を自動化することができる。免疫測定法は、レーザー誘起蛍光と併用することもできる（例えば、Schmalzing et al., Electrophoresis, 18:2184-2193 (1997)、Bao, J. Chromatogr. B. Biomed. Sci., 699:463-480 (1997)を参照されたい）。フローインジェクションリポソーム免疫測定法及びリポソーム免疫センサ等のリポソーム免疫測定法も、本発明での使用に適している（例えば、Rongen et al., J. Immunol. Methods, 204:105-133 (1997)を参照されたい）。また、タンパク質／抗体複合体の形成が、マーカ濃度の関数としてピーク速度シグナルに変換される光散乱の増加をもたらす比濁分析アッセイは、本発明での使用に適している。比濁分析アッセイはBeckman Coulter（カリフォルニア州ブレア；キット#449430）から市販され、Behring Nephelometer Analyzerを使用して実施することができる（Fink et al., J. Clin. Chem. Clin. Biol. Chem., 27:261-276 (1989)）。

【0133】

上記の免疫測定法は、試料中の1つ以上のNMDAR自己抗体の存在又はレベルを決定するのに特に有用である（また、標識を検出する手段の例と見なすことができる）。

【0134】

本発明による方法の別の好ましい実施形態において、自己抗体は、免疫測定法において検出され、好ましくは1つの反応物を標識物質に直接又は間接的に結合する。これにより

、異なる実験室及びそれらの検査診断装置の可能性及び要件に上記方法を柔軟に適応させることができる。有利な一実施の形態において、自己免疫疾患特異的抗体が免疫測定法において検出され、抗体は、液相、好ましくは当業者にはよく知られている通常の緩衝液中で希釈された液相、又は希釈されていない体液中に溶解して存在する。本発明によれば、検出は、便試料を用いても実施することができる。さらに、本発明の検出方法は、それらの表面にNMDAR自己抗体を発現する細胞に本発明のコンストラクトを結合することによって行われ得る。本発明のコンストラクトに結合する細胞の検出は、そのコンストラクトの直接的又は間接的な標識によって起こり得る。

【0135】

本発明の別の好ましい実施形態において、可溶性又は固相結合NMDARタンパク質コンストラクトが抗体を結合するために使用される。第2の反応工程では、好ましくは抗ヒトIgA、抗ヒトIgM及び／又は抗ヒトIgG抗体を含む群から選択される抗ヒト免疫グロブリンを採用することができ、該抗ヒト免疫グロブリンは、任意の従来の標識酵素、特に発色基質及び／又は化学発光基質と、好ましくは西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼと共役することができる2つの成分の検出可能な標識抱合体である。この実施の形態の利点は、本発明による検出が費用対効果の高い方法で確立できるように、通常、実験室施設で利用可能なELISA技術の使用にある。本発明の別の好ましい実施形態において、本発明のNMDARタンパク質コンストラクトに結合した抗体は、好ましくは抗ヒトIgA、抗ヒトIgM及び／又は抗ヒトIgG抗体を含む群から選択される抗ヒト免疫グロブリンと反応し、フルオレセインイソチオシアネート（FITC）に検出可能に結合される。上記ELISAと同様に、FITC技術は多くの場所で利用可能なシステムを表し、したがって、通例の実験室において本発明の検出の円滑で低コストの確立を可能にする。当業者は、本発明の方法に関連して使用することができる更なる標準的な検出技術を認識している。

【0136】

対象のマーカーに対する抗体の特異的な免疫学的結合は、標識を介して直接的又は間接的に検出され得る。これらの標識を検出するための任意の所与の手段は、本発明の方法に従って標識を検出する手段と考えることができる。直接標識としては、抗体に付着した、蛍光タグ又は発光タグ、金属、色素、放射性核種等が挙げられる。ヨウ素-125（¹²⁵I）で標識された抗体は、試料中の1つ以上のマーカーのレベルを決定するために使用することができる。マーカーに特異的な化学発光抗体を用いた化学発光アッセイは、マーカーレベルの高感度な非放射性検出に適している。蛍光色素で標識された抗体も、試料中の1つ以上のマーカーのレベルを決定するのに適している。蛍光色素の例としては、限定されるものではないが、DAPI、フルオレセイン、ヘキスト33258、R-フィコシアニン、B-フィコエリスリン、R-フィコエリスリン、ローダミン、テキサスレッド、及びリサミンが挙げられる。蛍光色素に結合した二次抗体は市販されており、例えば、ヤギF(ab')₂抗ヒトIgG-FITCがTago Immunologicals（カリフォルニア州バーリングヘム）から入手可能である。更なる蛍光標識は、一般的に使用され、当業者に知られている。

【0137】

間接標識としては、当該技術分野でよく知られている様々な酵素、例えば西洋ワサビペルオキシダーゼ（HRP）、アルカリホスファターゼ（AP）、 β -ガラクトシダーゼ、ウレアーゼ等が挙げられる。例えば、発色基質テトラメチルベンジジン（TMB）を用いて、過酸化水素の存在下で450 nmで検出可能な可溶性の生成物を生じる、西洋ワサビペルオキシダーゼ検出システムを用いることができる。アルカリホスファターゼ検出システムを、例えば405 nmで容易に検出可能な可溶性生成物を生じる発色基質p-ニトロフェニルリン酸と共に使用することができる。同様に、 β -ガラクトシダーゼ検出システムを、410 nmで検出可能な可溶性生成物を生じる発色基質o-ニトロフェニル- β -D-ガラクトピラノシド（ONPG）と共に使用することができる。

【0138】

直接又は間接の標識からのシグナルは、例えば、発色基質からの色を検出する分光光度計、¹²⁵Iを検出するガンマカウンター等の放射線を検出する放射線測定器、又は或る特定

の波長の光の存在下で蛍光を検出する蛍光光度計を使用して分析することができる。酵素結合抗体の検出の場合、マーカーレベルの量の定量分析は、製造業者の指示に従ってEMA Xマイクロプレートリーダー（Molecular Devices；カリフォルニア州メンローパーク）等の分光光度計を用いて行うことができる。所望の場合、本発明のアッセイを自動化するか又はロボットによって実施することができ、複数の試料からのシグナルを同時に検出することができる。

【0139】

プレートリーダーは、マイクロプレートリーダー又はマイクロプレートフォトメーターとしても知られ、マイクロタイタープレート内の試料の生物学的、化学的又は物理的な事象を検出するために使用される機器である。プレートリーダーは、広く製薬及びバイオテクノロジー産業、並びに学術機関での研究、創薬、バイオアッセイ検証、品質管理及び製造プロセスで使用されている。試料反応は、例えば、限定されるものではないが、6～1536ウェルフォーマットマイクロタイタープレートにおいてアッセイされ得る。マイクロプレートアッセイの一般的な検出モードは、例えば、吸光度、蛍光強度、発光、時間分解蛍光、及び蛍光偏光であるが、これらに限定されない。本発明に関連するカメラ装置は、GP2に対して向けられた標識二次親和性試薬のシグナルの検出に適した装置である。カメラ装置は、プレートリーダー内又は個別に構成されるものとして提供され得る。当業者は、かかる装置に精通しており、これは、二次親和性試薬の標識に基づいて選択される。

【0140】

或る特定の実施形態において、本発明は、本発明のNMDARタンパク質コンストラクトを用いて自己免疫疾患又はその臨床サブタイプを診断する方法を提供する。生化学的マーカー、血清学的マーカー、遺伝マーカー、又は他の臨床上の若しくは超音波検査の特性等の様々な自己免疫疾患マーカーが使用に適しており、自己免疫疾患の試料として個体からの試料を分類する統計アルゴリズムと組み合わせることができる。本発明における使用に適したNMDAR自己抗体に関連する自己免疫疾患の更なるマーカーの例は、当業者に知られている。当業者は、本発明の統計アルゴリズムにおける使用に適した追加のマーカーを知るであろう。

【0141】

本発明の別の好ましい実施形態において、本出願によるNMDARタンパク質コンストラクトは、表面に固定化される。より具体的には、本明細書に開示される1つ以上の固相結合NMDARタンパク質コンストラクトは、有機、無機、合成及び／又は混合ポリマー、好ましくはアガロース、セルロース、シリカゲル、ポリアミド及び／又はポリビニルアルコールに結合する。本発明の意味において、固定化は、例えば国際公開第99/56126号又は国際公開第02/26292号による、特定の担体上にペプチドを固定する様々な方法及び技術を含むと理解される。例えば、固定化は、特に貯蔵中又は単一バッチ使用時に、生物学的、化学的又は物理的な曝露によってそれらの活性が低下しないように又は悪影響を受けないように、コンストラクトを安定化させるのに役立ち得る。ペプチドの固定化は、技術的又は臨床的な通例の条件下で繰り返し使用することを可能にし、さらに、試料（好ましくは血液成分）を本発明による少なくとも1つのコンストラクトと連続的な方法で反応させることができる。特に、これは、様々な固定化技術によって、対応する分子、特に該ペプチドの三次元構造が（特に自己抗体との相互作用を媒介する活性中心で）変更されないように、他のペプチド若しくは分子、又は担体へのペプチドの結合を進行させて達成され得る。有利には、かかる固定化の結果として患者の自己抗体に対する特異性に損失はない。本発明の意味では、少なくとも3つの基本的な方法を固定化に使用することができる：

(i) 架橋：架橋では、ペプチドは、それらの活性に悪影響を及ぼすことなく互いに固定される。有利には、ペプチドは、もはやかかる架橋の結果として可溶性ではない。

(ii) 担体への結合：例えば吸着、イオン結合又は共有結合を介して担体への結合が進行する。かかる結合はまた、微生物細胞、又はリボソーム若しくは他の膜（閉じた又は開いた構造物）の内部で起こり得る。有利には、ペプチドは、かかる固定によって悪影響を受けない。例えば、担体結合ペプチドの複数回又は連続的な使用が可能であり、臨床診断又

10

20

30

40

50

は治療において有利である。

(iii) 封入：本発明の意味において封入は、特に、ゲル、フィブリル又は繊維の形態の半透過性の膜内で進行する。有利には、カプセル化されたペプチドは、自己抗体又はその断片との相互作用が依然として可能なように半透過性膜によって周囲の試料溶液から分離される。不活性又は電荷を帯びた無機又は有機担体に吸着する等、固定化に利用できる様々な方法がある。例えば、かかる担体は、多孔質ゲル、酸化アルミニウム、ベントナイト、アガロース、デンプン、ナイロン又はポリアクリルアミドであり得る。固定化は物理的結合力を介して進行し、疎水性相互作用及びイオン結合を頻繁に伴う。有利には、かかる方法は取り扱いが容易であり、ペプチドの立体構造にほとんど影響を与えない。有利には、例えばイオン交換体、特にSephadexを用いることによって、ペプチドの荷電基と担体との間の静電結合力の結果として結合が改善され得る。

【0142】

別の方法は、担体材料への共有結合である。さらに、担体は、アミノ酸側鎖との等極結合を形成する反応性基を有し得る。ペプチドに適した基は、カルボキシ基、ヒドロキシ基及びスルフィド基、特にリジンの末端アミノ基である。芳香族基はジアゾカップリングの可能性を提供する。微視的な多孔質ガラス粒子の表面は、シランを用いる処理によって活性化され、その後ペプチドと反応することができる。例えば、天然ポリマーのヒドロキシ基は、プロモシアノゲンで活性化され、その後ペプチドとカップリングすることができる。有利には、多数のペプチドがポリアクリルアミド樹脂との直接的な共有結合を受けることができる。三次元ネットワークにおける封入は、当業者によく知られている、電離性ゲル又は他の構造におけるペプチドの封入を含む。より具体的には、マトリクスの細孔は、ペプチドが保持されるような性質上、標的分子との相互作用を可能にする。架橋において、ペプチドは、二官能性物質と架橋することによりポリマー凝集体に変換される。かかる構造は、ゼラチン状で容易に変形可能であり、特に、様々な反応器での使用に適している。架橋中にゼラチン等の他の不活性成分を添加することにより、機械特性及び結合特性の有利な改善が可能である。マイクロカプセル化では、ペプチドの反応体積は膜によって制限される。例えば、マイクロカプセル化は界面重合の形態で行うことができる。マイクロカプセル化中の固定化により、ペプチドは不溶性になるため、再利用可能になる。本発明の意味において、固定化されたコンストラクトは、それらの全てのペプチドが再使用を可能にする状態にある。化学的、生物学的又は物理的な手段によってペプチドの移動性及び溶解性を制限することは、有利には、特に血液成分から自己抗体を排除する場合に、より低い処理コストをもたらす。

【0143】

本発明はまた、NMDAR自己抗体に関連する自己免疫疾患を判定する診断キットに関し、本明細書に開示される1つ以上のNMDARタンパク質コンストラクトを含む。診断用キットは、診断検査を実施するのに必要な全ての必要な分析対象に特異的な試薬を含む。また、診断用キットは、提供された試薬を使用して試験を実施する方法についての指示を含んでもよい。上記診断キットは、任意に、キットの内容物を組み合わせること、及び／又はNMDAR脳炎等のNMDAR自己抗体に関連する自己免疫疾患を検出するための製剤を提供することに関する指示を含む。例えば、指示は、言及される物質が使用される方法の種類に関する情報を使用者に提供する指示リーフレット又は他の媒体の形態とすることができる。明らかに、情報は必ずしも指示リーフレットの形である必要はなく、例えば、情報はインターネットを介して付与されてもよい。患者にとって、かかるキットの1つの有利な効果は、例えば、医師が直接対処することなく、患者が旅行中であっても実際の疾患状態を判断し、それに応じて食餌及び活動を適応させることができるということである。

【0144】

血液処理装置の態様及び該装置におけるNMDARタンパク質コンストラクトの固定化

本発明はまた、体外血液回路において、処理を必要とする人の血液又は血漿からNMDAR自己抗体を除去するように構成された血液処理装置であって、該装置が、マトリクスの上に固定化された本発明の1つ以上のNMDARタンパク質コンストラクトを有するマトリク

スを備える、血液処理装置に関する。

【0145】

したがって、本明細書で使用される場合、「マトリクス」とは、血液若しくは血漿が中を通る内部物質、又は血液若しくは血漿が上を通る表面を提供する血液処理装置内の物質を指す。本発明に関連して使用されるマトリクスは、好ましくは、NMDARタンパク質コンストラクトが結合されている支持体を含む。したがって、この支持体は、NMDARタンパク質コンストラクトの担体としての役割を果たすが、他の機能を果たす可能性もある。

【0146】

本明細書で使用される場合、「支持体」とは、本発明によるコンストラクトが結合される「基材」又は「支持材料」としてはたらくマトリクスの部分を指す。かかる支持体又は支持材料は、「吸着カラム」又は「カラム」又は「吸着カートリッジ」に使用されるように、「吸着物質」又は「吸着材」と称される場合もある。本発明による適切な支持体は、関連するpH範囲及び温度にわたって均一で、親水性、機械的及び化学的に安定であり、使用時にNMDARタンパク質コンストラクトの浸出がないか、又は浸出が無視できるほどであり、全血及び／又は血漿に対する良好な流動特性を有していなければならない、NMDARタンパク質コンストラクトの付着に大きな表面積を提供する。

【0147】

支持体は、例えば樹脂、膜、又は不織布材料であり得る。「不織布」材料とは、繊維又はフィラメントを織ったり編んだりせずに、機械的、熱的、又は化学的に交絡させることによって（及びフィルムを穿孔処理することによって）共に結合したシート、布地又はウェブ構造として広く定義される材料を指す。「樹脂」とは、ゲル若しくはゲルビーズ若しくは微多孔質ビーズ、又はスポンジの形態をとることができる不溶性材料を指す。かかる樹脂は、天然ポリマー又はバイオポリマー、合成ポリマー及び無機材料であり得る。アガロースビーズ、デキストロースビーズ及びセルロースビーズは、一般的に用いられる天然支持体である。合成高分子又は有機支持体は、ほとんどがアクリルアミド、ポリスチレン及びポリメタクリレート誘導体に基づき、一方、多孔質シリカ及びガラスは、幾つかの頻繁に使用される無機支持体である。

【0148】

本発明の一実施の形態によれば、樹脂は、アルギン酸塩、キトサン、キチン、コラーゲン、カラギーナン、ゼラチン、セルロース、デンプン、ペクチン及びセファロース；ゼオライト、セラミックス、セライト、シリカ、ガラス、活性炭及び炭からなる群から選択される無機材料；又はポリエチレン（PE）、ポリオキシメチレン（POM）、ポリプロピレン（PP）、ポリ塩化ビニル（PVC）、ポリ酢酸ビニル（PVA）、ポリビニリデンクロリド（PVDC）、ポリスチレン（PS）、ポリテトラフルオロエチレン（PTFE）、ポリアクリレート（PAA）、ポリメチルメタクリレート（PMMA）、ポリアクリルアミド、ポリグリシジルメタクリレート（PGMA）、アクリロニトリルブタジエンスチレン（ABS）、ポリアクリロニトリル（PAN）、ポリアステル、ポリカーボネート、ポリエチレンテレフタレート（PET）、ポリアミド、ポリアラミド、ポリエチレングリコール（PEG）、ポリビニルピロリドン（PVP）、ポリスルホン（PS）、ポリエーテルスルホン（PES）、ポリアリールエーテルスルホン（PAES（PEAS））、エチレン酢酸ビニル（EVA）、エチレンビニルアルコール（EVOH）、ポリアミドイミド、ポリアリールエーテルケトン（PAEK）、ポリブタジエン（PBD）、ポリブチレン（PB）、ポリブチレンテレフタレート（PBT）、ポリカプロラクトン（PCL）、ポリヒドロキシアルカノエート、ポリエーテルエーテルケトン（PEEK）、ポリエーテルケトンケトン（PEKK）、ポリエーテルイミド（PEI）、ポリイミド、ポリ乳酸（PLA）、ポリメチルペンテン（PMP）、ポリ（p-フェニレンエーテル）（PPE）、ポリウレタン（PU）、スチレンアクリロニトリル（SAN）、ポリブテン酸、ポリ（4-アリル安息香酸）、ポリ（グリシジルアクリレート）、ポリグリシジルメタクリレート（PGMA）、アクリロニトリルブタジエンスチレン（ABS）、ポリジビニルベンゼン（PDVB）、ポリ（アリルグリシジルエーテル）、ポリ（ビニルグリシジルエーテル）、ポリ（ビニルグリシジルウレタン）、ポリアリルアミン、ポリビニルアミン、上記ポリマーの

10

20

30

40

50

コポリマー及び官能基の導入によって修飾された任意のこれらのポリマーからなる群から選択される合成ポリマーからなる群から選択されるポリマーで構成される。

【0149】

様々な既知の方法を、NMDARタンパク質コンストラクトを本発明による支持体及び／又はマトリクスに固定化するために使用することができる。かかる固定化は、血液若しくは血漿中、又はそれらの試料中 (in vitro) に存在する他のタンパク質及び成分はあまり固定化されないのに対し、NMDARタンパク質コンストラクトを固定化するという点で特異的又は選択的であることが好ましい。

【0150】

本発明による装置に使用され得るマトリクスを提供する支持体にNMDARタンパク質コンストラクトを「固定化する」とは、2つの分子を共に保持する非共有結合又は共有結合の相互作用を指す。本発明の一実施の形態によれば、この表現は共有結合相互作用、すなわち共有結合されたNMDARタンパク質コンストラクトを指す。非共有結合相互作用としては、限定されるものではないが、水素結合、荷電基間のイオン相互作用、ファンデルワールス相互作用、及び非極性群間の疎水性相互作用が挙げられる。これらの相互作用の1つ以上は、互いに対する2つの分子の結合を媒介することができる。結合は、それ以外の場合は、特異的若しくは選択的、又は非特異的であってもよい。

【0151】

一実施の形態によれば、NMDARタンパク質コンストラクトは、支持体上で固定化するための親和性タグを含む。親和性タグを、製造中のタンパク質の精製及び／又は本発明のマトリクスの支持体上へのそれらの固定化に使用することができる。親和性タグは、短いポリペプチド配列又はタンパク質全体であり得て、NMDARタンパク質コンストラクトとの融合パートナーとして共発現することができる。異なるタイプの親和性タグは当該技術分野でよく知られており、ポリヒスチジン又はHis₆タグ、C-mycタグ及びFLAGタグが特によく記述され、本発明によるコンストラクトを支持材料に結合するための選択肢である。ビオチンのストレプトアビジン又はアビジンへの非共有結合は、NMDARタンパク質コンストラクトを支持体に固定化するためにも使用され得る。実施形態において、結合は、本発明の或る特定のコンストラクトの一部を形成するFc断片によって媒介される。

【0152】

本発明の別の実施の形態によれば、NMDARタンパク質コンストラクトは、以下に更に詳述される及び／又は従来技術に記載されるように支持体に共有結合により付着される。共有結合としては、一般に、タンパク質の非部位特異的な共有結合又はタンパク質の部位特異的な共有結合のいずれかが挙げられる。マトリクスの生成の基礎となる支持体は、化学的活性化を提供又は促進する必要がある、したがって、コンストラクトの化学結合を可能にする。NMDARタンパク質コンストラクト等のタンパク質を固定化するための多くの結合方法は、当該技術分野ではよく知られている。

【0153】

例えば、活性化化学は、幅広いpH、緩衝条件及び温度にわたって安定でなくてはならないため、コンストラクトの浸出は無視できる。結合法は、不適切な向き、マルチサイト結合、又はコンストラクトの立体的障害を避けるべきである。マトリクスの体積あたりのコンストラクト密度 (construct density) は、標的のアクセシビリティ及び反応を促進するために最適化することができる。

【0154】

共有結合は、アミン、アルコール、カルボン酸、アルデヒド及びエポキシ基を含む一般的な官能基を介して行うことができる。アミド結合を介して支持面の一級アミンに直接共役するために、カルボジイミド化合物を使用してタンパク質のカルボン酸基を活性化することができる。最も一般的に使用されるカルボジイミドは、水性架橋用の水溶性EDC (1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド) 及び非水性有機合成法用の水不溶性DCC (N',N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド) である。

【0155】

或いは、支持体は、リンカー及び／又はタンパク質コンストラクトを結合するための特定の官能基を持つことができる。例えば、官能化樹脂は、市販されており、当業者に知られている。一級アミン、スルフヒドリル、アルデヒド、ヒドロキシル、及びカルボン酸を含む幅広い結合化学が、上記市販の支持体において利用可能である。市販の活性化樹脂の例は、CarboLink Coupling樹脂、Profinity（商標）エポキシ樹脂、Affi-Gel 10及び15、エポキシ活性化Sephacrose（商標）6B、トリシルクロリド活性化アガロース、及びエポキシ基で官能化されたPurolite（商標）Lifetech（商標）メタクリレートポリマーである。

【0156】

本発明の一実施の形態によれば、支持体材料は多孔質でなくてはならず、細孔サイズは10 nm～200 nmの範囲である。本発明の別の実施の形態によれば、支持体はビーズの形態をとる。更に別の実施の形態によれば、本発明による支持体は、磁気ビーズを含む。磁気ビーズはアガロース又は他の高分子材料内にマグネタイトを捕捉することによって調製され、そこに本発明によるNMDARタンパク質コンストラクトが固定化される。

【0157】

本発明の別の実施の形態によれば、支持体は膜である。親和性マトリクスの成分としての膜は、ゲル、樹脂及びビーズと比較して、その簡便さ、取り扱いの容易さ、減少された表面積、及び拡散制限が低いため、タンパク質精製に使用されてきた。膜は、中空繊維の物理的形態、或いは平板膜の形態をとることができる。一実施の形態によれば、支持体は、血液透析中空繊維膜透析装置であり、フィルタは血液透析装置である。

【0158】

本発明による装置において支持体として使用される中空繊維又は平板膜は、セルロース、セルロースエステル（セルロースアセテート及びセルローストリアセテート）、ポリ（メチルメタクリレート）（PMMA）、ポリアミド（PA）、他の含窒素ポリマー（ポリベンズイミダゾール、ポリアクリロニトリル（PAN））、ポリグリシジルメタクリレート（PGMA）、ポリビニルピロリドン（PVP）、ポリスルホン（PS）、ポリエーテルスルホン（PES）又はポリアリールエーテルスルホン（PAES）で構成され得る。本発明による装置を提供するために有利に利用することができる中空繊維膜は、好ましくは100 μm～500 μmの範囲の内径を有する。本発明の別の実施の形態によれば、具体的には膜支持体が上述した血液透析膜である場合、中空繊維膜は、中空繊維膜の内腔を灌流する血液又は血漿中の標的代謝物と直接相互作用することができる繊維の内腔側で、本発明によるNMDARタンパク質コンストラクトによって追加的に又は代替的に機能化される。このコンストラクトは追加的に又は代替的に、膜の外側に固定化されてもよい。

【0159】

体外血液処理の方法

本発明は、患者の血液が通過する体外血液回路に配置されるように構成され、患者の血管系から血液処理装置に規定の流量で血液を輸送し、その後、処理された血液を患者に戻す手段を備える装置を含み、該装置は血液中のNMDAR自己抗体のレベルを低下させるように更に構成される。

【0160】

本発明によれば、「体外血液浄化」という表現は、好ましくは、患者の身体外（体外）の迂回路において流れる血液からの物質のクリアランスにより体液からそれらの物質を除去するプロセスを指す。上記物質としては、内因性毒素（すなわち、尿毒素）、外因性毒物（すなわち、エチレングリコール又は真菌毒素）、投与薬物、ウイルス、細菌、抗体、代謝物及びタンパク質（すなわち、IMHA、重症筋無力症）、異常な細胞（すなわち、白血病）、並びに過剰な水分が挙げられ得る。治療手順としては、間欠性血液透析（HD、HDF、HF）及び持続的腎代替療法（CRRT）を含む血液透析；血液灌流；血漿交換及び治療的アフェレシスが挙げられる。かかる方法は、当業者に知られており、本発明の装置を、それに応じて組み込むことができる。

【0161】

本明細書で使用される場合、「血液」という表現は、血漿中に懸濁された赤血球、白血球、血小板を含む生物の血液の全ての成分を含む全血を指す。「血漿」という表現は、赤血球及び白血球及び血小板を含まなくなった全血の一部を形成する水約92%、アルブミン、ガンマグロブリン、フィブリノーゲン、補体因子、凝固因子等のタンパク質7%、並びにミネラル塩、糖、脂肪、電解質、ホルモン及びビタミン1%で構成される流体を指す。本発明に関連して、「血漿 (blood plasma)」又は「血漿 (plasma)」の表現は、例えば血清のようにその標準的な意味における上記で定義された血漿の特定の画分を指す。

【0162】

一態様によれば、体外血液浄化回路における血流速度は20 ml/分～700 ml/分である。腎不全の治療のための血液透析装置を含む体外回路における典型的な透析物の流量は、本発明による血液処理装置に加えて、又は血液透析装置がNMDAR自己抗体を結合するようにさらに構成されている場合、0.5 l/時間～800 ml/分の範囲内である。

10

【0163】

治療アフエーシスでは、全血を処理することができ、又は例えば遠心分離によって、又は形質膜若しくはフィルタを用いて、血液をその成分画分に分離して、除去しなければならない溶質を含む画分を患者に戻る前に特異的に処理する。

【0164】

本発明は、全血又は血漿（標的タンパク質を含む）が患者の流れる血液から除去され、本発明による装置又はマトリクスと接触させた後に患者に戻されるアフエーシス処理を提供する。血液処理装置が全血又は血漿で灌流される体外回路における典型的な血液又は血漿の流量は、それぞれ30 ml/分～200 ml/分、又は7 ml/分～50 ml/分の範囲である。

20

【0165】

一態様によれば、本発明による体外血液回路は、血液透析を行うように構成されている。この場合、本発明による装置は、例えば、本発明によるNMDAR自己抗体を固定化／結合するように追加的に構成された血液透析装置である。この回路は、医療ニーズに応じて血液透析、血液透析濾過、血液濾過モードを含む異なる治療モードで動作させることができる。

【0166】

特段の規定がない限り、本明細書で使用される全ての技術用語及び科学用語は、この発明が属する技術分野における当業者によって通常理解されるのと同じ意味を有する。また、本明細書で言及される全ての出版物、特許出願、特許、及びその他の参照は、それらの全体が引用することにより本明細書の一部をなす。

30

【0167】

図面

本発明を添付の図面によって更に説明する。これらは、本発明の範囲を限定することを意図したものではなく、本明細書に記載される本発明の更なる説明のために提示される本発明の態様の好ましい実施形態を示す。

【図面の簡単な説明】

【0168】

【図1-1】可溶性組換えNMDA受容体Fc (srNR-Fc) 抗原／融合タンパク質のスキームを示す図である。本発明に関連して、srNR-Fc抗原及びsrNR-Fc融合タンパク質は同じ意味で使用される。

40

【図1-2】同上

【図1-3】同上

【図2】可溶性組換えNMDA受容体Fc融合タンパク質は、組換えヒトGluN1自己抗体によって認識されることを示す図である。

【図3-1】可溶性組換えNMDA受容体Fc融合タンパク質は、患者の血清中のNMDA受容体自己抗体を検出することを示す図である。

【図3-2】同上

【図3-3】同上

50

【図4】既知の抗NMDA受容体価を有する血清中の可溶性組換えNMDA受容体Fc融合タンパク質による自己抗体検出を示す図である。

【図5】可溶性組換えNMDA受容体Fc融合タンパク質（本明細書に開示される融合タンパク質#1）を対照として用いたLGI1抗体に対するELISAスクリーンを示す図である。

【図6】本明細書に開示される融合タンパク質#1による可溶性組換えNMDA受容体Fc融合タンパク質を用いた、マウス脳抽出物における組換えヒトNR1（GluN1）ABのELISA定量を示す図である。

【図7】本発明の可溶性NMDA受容体Fcタンパク質コンストラクトは、ヘテロ二量体選択的組換えヒトNMDA受容体自己抗体を検出することを示す図である。

【図8】本発明の可溶性NMDA受容体Fcタンパク質コンストラクトは、サブタイプ選択的組換えヒトNMDA受容体自己抗体を検出することを示す図である。

【図9】本発明の可溶性NMDA受容体Fcタンパク質コンストラクトは、組換えヒトNMDA受容体自己抗体のサブタイプ選択性を明らかにすることを示す図である。

【図10】本発明の3つの可溶性NMDA受容体Fcタンパク質コンストラクトによる組換えヒトNMDA受容体自己抗体の検出を示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0169】

図面の詳細な説明

図1A. アミノ末端ドメイン（ATD）、リガンド結合ドメイン（LBD）、血漿膜（PM）スパニング／関連セグメント（M1-4）及び細胞内カルボキシ末端ドメイン（CTD）を包含するNMDA受容体サブユニットの簡略化した図である。詳細については、Paoletti et al. (2013) Nature Rev Neurosci 14, 383ff（非特許文献12）を参照されたい。図1B. ウサギFcに融合したAに描かれたNMDA受容体サブユニットの細胞外ドメイン（rbFc、黒色三角形はCH2及びCH3を含む単一のポリペプチドを表す）は、可溶性抗原を生じる。黒色線は、異なるサブユニットに由来するドメイン間のリンカーを表す（詳細は表3を参照されたい）。図1C. 可溶性抗原は、（共）発現時にrbFcによりホモ二量体又はヘテロ二量体を形成することが予想される（可能な組合せの選択を示す）。

【0170】

図2. 指定の融合タンパク質を発現及び分泌するHEK293細胞の細胞培養上清（表3）を、抗ウサギIgG抗体により96ウェルプレート上に捕捉した。患者のCSF細胞に由来するLGI1又はGluN1（非特許文献6）に対する単一の組換え（rec）ヒト（hu）自己抗体を1 µg/mlで適用し、西洋ワサビペルオキシダーゼ（HRP）共役抗ヒトIgG抗体を用いて検出して、捕捉されたFc融合タンパク質を0.016 µg/mlのHRP共役抗ウサギ（rb）IgG抗体を用いて直接検出した。ELISAシグナルは、抗ヒトIgG抗体単独により生成されたシグナルの減算後の単一実験における2つのウェルの平均±SDとして示される。PGRN、プログラニユリン。Fc、ウサギIgG1重鎖の定常領域。

【0171】

図3. 指定の融合タンパク質を発現及び分泌するHEK293細胞の細胞培養上清（表3）を、抗ウサギFc抗体により96ウェルプレート上に捕捉した。7名のNMDAR脳炎患者に由来する血清（S3～S9）及び対照血清（対照S）を1:200希釈で適用し、ビオチン共役抗ヒトIgG及びHRP共役ストレプトアビジンを用いてヒトIgGを検出した。パネルA～パネルCは、個別の実験を表す。ELISAシグナルは、ビオチン共役抗ヒトIgGとHRP共役ストレプトアビジンの組合せ単独によって引き起こされるシグナルの減算後の単一の実験における2つのウェルの平均±SDとして示される。PGRN、プログラニユリン。Fc、ウサギIgG1重鎖の定常領域。

【0172】

図4. 指定の融合タンパク質を発現及び分泌するHEK293細胞の細胞培養上清を、抗ウサギFc抗体により96ウェルプレート上に捕捉した。5名のNMDAR脳炎患者に由来する血清（S10～S14）及び3名の対照血清（S15、S18、S19）を1:100希釈で適用し、ビオチン共役抗ヒトIgG及びHRP共役ストレプトアビジンを用いてヒトIgGを検出した。ELISAシグ

10

20

30

40

50

ナルは、ビオチン共役抗ヒトIgGとHRP共役ストレプトアビジンの組合せ単独によって引き起こされるシグナルの減算後の単一の実験における2つのウェルの平均±SDとして示される。Euroimmun細胞ベースアッセイによって決定された血清のNMDAR抗体力価を、比較のため下に示す。PGRN、プログラニューリン。Fc、ウサギIgG1重鎖の定常領域。

【0173】

図5. LGI1反応性をスクリーニングするため、CSF細胞由来抗体cDNAを発現するHEK293T細胞の細胞培養上清を、ELISAプレート上に捕捉されたLGI1-Fc及びNMDA受容体サブユニットGluN1-ATD-Fcに適用した。アッセイ例は、13個の上清と並んで、CSF試料（希釈1:5）、ヒト組換え抗GluN1、マウス抗LGI1、並びにヒト、マウス及びウサギのIgGに対する二次抗体を単独で含む対照の結果を示す。シグナルを、2つのウェルの平均±SDとして示す。

10

【0174】

図6. NR1 (GluN1) 特異的ヒトIgGは、出生前NR1抗体注射後にのみELISAを介した新生児マウス全脳抽出物において見られ、P0～P7の間で濃度が上昇した。マウス脳抽出物におけるNR1特異的ヒトABのELISA定量は、NR1群におけるP0（平均=10.7 ng）からP7（平均=37.4 ng）までの脳結合IgGのレベルの増加を明らかにした。

【0175】

図7. 指定の融合タンパク質を発現及び分泌するHEK293細胞の細胞培養上清（表3）を、抗ウサギIgG抗体により96ウェルプレート上に捕捉した。患者のCSF細胞に由来する単一組換えヒトNMDA受容体自己抗体（抗NR-Ab1及び抗NR-Ab2）又は対照抗体（mG053）を4.0 µg/ml（抗NR-Ab1）、3.1 µg/ml（抗NR-Ab2）、及び5.9 µg/ml（mG053）で適用し、西洋ワサビペルオキシダーゼ（HRP）共役抗ヒトIgG抗体を用いて検出し、捕捉されたFc融合タンパク質を0.016 µg/mlのHRP共役抗ウサギ（rb）IgG抗体を用いて直接検出した。ELISAシグナルは、抗ヒトIgG抗体単独によって生成されたシグナルの減算後の単一の実験における2つのウェルの平均±SDとして示される。抗ウサギIgGについて490 nm値を示す。PGRN、プログラニューリン。Fc、ウサギIgG1重鎖の定常領域。

20

【0176】

図8. 指定の融合タンパク質を発現及び分泌するHEK293細胞の細胞培養上清（表3）を、抗ウサギIgG抗体により96ウェルプレート上に捕捉した。患者のCSF細胞に由来する単一組換えヒトNMDA受容体自己抗体（非特許文献6又は未公開）又は組換えヒト対照抗体（対照Ab1）を1 µg/mlで適用し、西洋ワサビペルオキシダーゼ（HRP）共役抗ヒトIgG抗体を用いて検出し、捕捉されたFc融合タンパク質を0.016 µg/mlのHRP共役抗ウサギ（rb）IgG抗体を用いて直接検出した。ELISAシグナルは、抗ヒトIgG抗体単独によって生成されたシグナルの減算後の単一の実験における2つのウェルの平均±SDとして示される。PGRN、プログラニューリン。Fc、ウサギIgG1重鎖の定常領域。

30

【0177】

図9. 指定の融合タンパク質を発現及び分泌するHEK293細胞の細胞培養上清（表3）を、抗ウサギIgG抗体により96ウェルプレート上に捕捉した。患者のCSF細胞に由来する単一組換えヒトNMDA受容体自己抗体（非特許文献6又は未公開）又は対照抗体（mG053）を0.09 µg/ml（003-102）又は1.8 µg/ml（抗NR-Ab1、mG053）で適用し、西洋ワサビペルオキシダーゼ（HRP）共役抗ヒトIgG抗体を用いて検出し、捕捉されたFc融合タンパク質を0.016 µg/mlのHRP共役抗ウサギ（rb）IgG抗体を用いて直接検出した。ELISAシグナルは、抗ヒトIgG抗体単独によって生成されたシグナルの減算後の単一の実験における2つのウェルの平均±SDとして示される。003-102及び抗ウサギIgGについて490 nm値を示す。PGRN、プログラニューリン。Fc、ウサギIgG1重鎖の定常領域。

40

【0178】

図10. 指定の融合タンパク質を発現及び分泌するHEK293細胞の細胞培養上清（表3）を、抗ウサギIgG抗体により96ウェルプレート上に捕捉した。患者のCSF細胞に由来する単一組換えヒトNMDA受容体自己抗体（非特許文献6又は未公開）を0.01 µg/ml（003-102）、1 µg/ml（008-218、抗NR-Ab1）又は10 µg/ml（その他全て）で適用し、西

50

洋ワサビペルオキシダーゼ（HRP）共役抗ヒトIgG抗体を用いて検出し、捕捉されたFc融合タンパク質を0.016 µg/mlのHRP共役抗ウサギ（rb）IgG抗体を用いて直接検出した。ELISAシグナルは、抗ヒトIgG抗体単独によって生成されたシグナルの減算後の単一の実験における2つのウェルの平均±SDとして示される。PGRN、プログラニユリン。Fc、ウサギIgG1重鎖の定常領域。

【0179】

図2～図10に関し、各図において、凡例の試験されたコンストラクトの上から下の順序は、それぞれの条件について左から右のバーの順序に対応する。

【実施例】

【0180】

本発明を以下の実施例によって更に説明する。これらは、本発明の範囲を限定することを意図したものではなく、本明細書に記載される本発明の更なる説明のために提示される本発明の態様の好ましい実施形態を示す。

【0181】

技術的な疑問

患者の血清及びCSF内の異なるサブユニット組成のNMDA受容体に対するNMDA受容体自己抗体の標識、検出及び単離のための組換え可溶性融合タンパク質を生成することは可能か？

【0182】

解決策

NMDA受容体サブユニットGluN1のアミノ末端ドメイン（ATD）を、GluN1の追加の細胞外ドメインの有無にかかわらず、単独で又はNMDA受容体サブユニットGluN2A又はGluN2Bの細胞外ドメインと併せて、ウサギIgG1重鎖の定常領域（rbFc）に融合させた。

【0183】

発現されたタンパク質のFc媒介二量体化は、天然NMDA受容体と非常によく似たエピソードをもたらす可能性があり、融合タンパク質に前例のない安定性を与える可能性がある。これらの可溶性組換えNMDA受容体Fc（srNR-Fc）融合タンパク質／抗原は、NMDAR脳炎患者の血清中に存在する異なるNMDA受容体サブユニット組成に対するNMDA受容体自己抗体を検出することができ、したがって本発明の中核的主題となる。

【0184】

srNR-Fc融合タンパク質／抗原を用いてNMDA受容体自己抗体を検出するために用いられるELISA法を、コンパニオン診断として用いることができる。

【0185】

詳細な実施例

実施例1：実験に対して生成される本発明の例示的なタンパク質コンストラクト。

本発明者らは、GluN1及びGluN2サブユニットの細胞外部分を包含するコンストラクト（図1A及び図1B、表1）を生成し、HEK293細胞においてそれらを発現させ、3日後に分泌されたFc融合タンパク質を含む細胞培養上清を単離した。

【0186】

コンストラクト#1、#2、#3、#5、#6及び#9（表3）は、GluN1又はGluN2ドメインのいずれかのFc融合タンパク質であり、コンストラクト#4、#7及び#8ではGluN1及びGluN2Bの両方のドメインは人工リンカーによって分離され、単一分子でFcに融合される。Fcドメインは、全ての融合タンパク質の二量体化をもたらす可能性が高く、コンストラクト#1又は#2のそれぞれ#5、#6、#9又は#3との共発現時にGluN1/GluN2ヘテロ二量体、又はコンストラクト#4、#7及び／又は#8の発現時にGluN1/GluN2ヘテロ二量体の二量体をもたらす（図1C）。

【0187】

表3：本発明のNMDARタンパク質コンストラクトによって構成される及び／又は本発明のNMDARタンパク質コンストラクトを表す可溶性組換えNMDA受容体rbFc融合タンパク質。

【表 3 - 1】

#	Designation	Fusion Protein Composition	NMDA receptor part: amino acids in GenBank entry No of amino acids in NMDA receptor part/whole protein
1	N1-ATD-Fc	hsGluN1-ATD-rbFc	1-400 (NM_007327) 400/631
2	N1ecd-Fc	hsGluN1-ATD-S1-GT-S2-rbFc	1-544-GT-663-800 (NM_007327) 684/915
3	N2Becd-Fc	hsGluN2B-ATD-S1-GT-S2-rbFc	1-540-GT-662-803 (NM_000834) 684/915
4	N1ecd-N2Becd-Fc	hsGluN1-ATD-S1-GT-S2-linker-hsGluN2B-ATD-S1-GT-S2-rbFc	1-544-GT-663-800 (NM_007327)-GST-3xGGGGS-GAA-SR-29-540-GT-662-803 (NM_000834) 1363/1594
5	N2A-ATD-Fc	hsGluN2A-ATD-rbFc	1-408 (NM_001134407)

【表 3 - 2】

			408/639
6	N2B-ATD-Fc	hsGluN2B-ATD-rbFc	1-408 (NM_000834) 408/639a
7	N1-ATD-N2A-ATD-Fc	hsGluN1-ATD-linker-hsGluN2A-ATD-rbFc	1-400(NM_007327)-GST-3xGGGGS-GAA-SR-28-408 (NM_001134407) 804/1035
8	N1-ATD-N2B-ATD-Fc	hsGluN1-ATD-linker-hsGluN2B-ATD-rbFc	1-400(NM_007327)-GST-3xGGGGS-GAA-SR-29-408(NM_000834) 803/1034
9	N2C-ATD-Fc	hsGluN2C-ATD-rbFc	1-405 (NM_000835) 405/636a

名称

融合タンパク質組成

NMDA受容体部分：GenBankエントリにおけるアミノ酸

NMDA受容体の部分／全タンパク質におけるアミノ酸の数

hs、ヒト。rb、ウサギ。Ecd、細胞外ドメイン。ATD、アミノ末端ドメイン。No、数。Fc、ウサギIgG1重鎖の定常領域。

【 0 1 8 8 】

本発明者らは、患者の血清中のNMDA受容体抗体を検出するsrNR-Fcタンパク質の能力を試験するためのELISAを確立した。簡潔には、細胞培養上清中のsrNR-Fcタンパク質を、抗ウサギFc又は抗ウサギIgG抗体を介して96ウェルプレート上で捕捉した。NMDAR脳炎患者の血清又はヒトモノクローナル抗体を適用し、ビオチン共役抗ヒトIgG及び西洋ワサビペルオキシダーゼ（HRP）共役ストレプトアビジン又はHRP共役抗ヒトIgG抗体のいずれかと、HRP基質ultraTMBとを用いて結合された抗体を検出した。

【0189】

実施例2：可溶性NMDA受容体rbFc融合タンパク質は、組換えヒトGluN1自己抗体によって認識される。

図2は、対照抗原（プログラニユリン-Fc）以外の試験した全てのsrNR-Fc抗原が、組換えヒト抗NMDA受容体抗体によって認識されたことを示す。これとは対照的に、組換えヒト抗LGI1抗体によって認識された抗原はなかった。融合タンパク質のrbFc部分を検出する抗ウサギIgG抗体を用いて、全てのrbFc融合タンパク質のELISAプレート上での発現及び固定化に成功したことを確認した。

【0190】

実施例3：可溶性NMDA受容体rbFc融合タンパク質は、患者の血清中のNMDA受容体自己抗体を検出する。

図3は、異なるsrNR-Fc抗原に対する、NMDAR脳炎患者からのヒト血清のセットを用いた3つのELISA実験の結果を要約する。データは、GluN1-ATD-Fc、並びにGluN1又はGluN2サブユニットの追加の細胞外領域を含む抗原が、対照としてのプログラニユリンと比較して、ほとんどのNMDAR脳炎患者の血清中と同様にシグナルを生じたことを明らかにする。血清のうち3つは抗原と強く反応し、他の4つの血清は、選択されたsrNR-Fc抗原とのみ反応して、より低いシグナルを生じた。血清を1:200希釈すると、srNR-Fc抗原が高感度NMDA受容体自己抗体検出を可能にすることを示唆した。GluN2サブユニットの領域の追加は、検出の感度を向上させた。NMDAR自己抗体のサブセットは、アSEMBルされたGluN2ドメインの存在下でのみGluN1を認識し得る。最高のシグナルを生じる抗原は血清によって異なった。例えば、N1ecd-N2Becdを含む抗原は血清5における抗体の検出に優れていたのに対し、GluN1-ATD及びGluN2B-ATDを含む抗原は血清7における抗体の検出においてより良好に機能した。

【0191】

実施例4：既知の抗NMDA受容体力価を有する血清中の可溶性NMDA受容体rbFc融合タンパク質による自己抗体検出。

srNR-Fcタンパク質に基づくELISAが臨床標準アッセイとどのように異なるかを試験するため、本発明者らは、Euroimmun CBAからの既知の力価を有する血清を測定した（図4）。Euroimmun（S10～S14）で陽性を記録した全ての血清は、対照としてのプログラニユリン及びGluN2B-ATDと比較して、試験された抗原の少なくとも1つにより陽性シグナルを生じたが、一方、Euroimmun CBA（S15、S18、S19）で陰性を記録した血清は陽性シグナルを生じなかった。これらのデータは、GluN1-ATDを含むsrNR-Fcが特異的に血清中のNMDAR自己抗体を検出することを示す。

【0192】

本発明者らは、このアッセイで、GluN1及びGluN2BのATDを発現する2つのsrNR-Fc組合せ（N1-ATD-Fc+N2B-ATD-Fc及びN1-ATD-N2B-ATD-Fc）を使用した。それらは、NMDARの同じアミノ酸（表1）を含むが、一方の場合、抗原は2つの別々のタンパク質から再構成され、もう一方のコンストラクトは、単一のタンパク質として人工リンカーによって接続されたATDを含む。これら2つの抗原は、血清S10～S12で同等のシグナルを与えたが、血清S13及びS14では大きく異なった。抗原N1-ATD-Fc+N2B-ATD-Fcは、S13及びS14において小さい、同等のシグナルを生じた。これに対し、N1-ATD-N2B-ATD-Fcは、S13ではNMDAR抗体シグナルを全く検出せず、S14では強いシグナルを検出した。N1-ATD-N2B-ATD-Fcの分子構成は、S13に存在するNMDAR自己抗体のそれらのエピトープへのアクセスを妨げている可能性があった。この知見は、できるだけ多くの抗体を検出

10

20

30

40

50

するために、幾つかのsrNR-Fcの組合せを試験する必要があることを強調している。

【0193】

実施例5：可溶性NMDA受容体rbFc融合タンパク質は、サブタイプ選択的組換えヒトNMDA受容体自己抗体を検出する。

幾つかの自己抗体は、2つの異なるNMDA受容体サブユニットの細胞外ドメインを包含する可溶性NMDA受容体Fc抗原によって検出されたが、単一のNMDA受容体サブユニットの細胞外ドメインを含む可溶性NMDA受容体Fc抗原によっては検出されなかった（図7）。これらのNMDA受容体抗体は、GluN1発現細胞に基づくアッセイでは検出されない。

【0194】

可溶性NMDA受容体Fc抗原を用いて、特定のサブユニットの組合せが組換えヒトNMDA受容体自己抗体によって標的とされるかどうかを判定した。NMDA受容体自己抗体008-218は、GluN1及びGluN2AのATDを含むか、又はGluN1及びGluN2BのATDを含むいずれかの可溶性NMDA受容体Fc抗原によって同等の効率で検出された。しかしながら、抗NR-Ab1は、GluN1及びGluN2BのATDを含む可溶性NMDA受容体Fc抗原によって検出されたが、GluN1及びGluN2AのATDを含む可溶性NMDA受容体Fc抗原によっては検出されなかった（図8）。さらに、この抗体は、GluN1及びGluN2CのATDを含む追加の可溶性NMDA受容体Fc抗原によって検出されなかった（図9）。したがって、可溶性NMDA受容体Fc抗原は、抗NR-Ab1をGluN1/GluN2Bサブタイプ選択的抗体として分類する。

【0195】

可溶性組換えNMDA受容体Fc抗原N1-ATD-N2B-ATD-Fcは、GluN1/GluN2Bサブタイプ選択的抗体抗NR-Ab1とアセンブルされた抗原N1-ATD-Fc+N2B-ATD-Fcよりも高いシグナルを生じ（図8）、Fc融合タンパク質N1-ATD-N2B-ATD-Fcの特異的分子構成は、GluN1及びGluN2BのATDが単一タンパク質の一部であり、サブタイプ選択的抗体を検出する際に利点を提供することを示唆する。

【0196】

実施例6：3つの可溶性NMDA受容体rbFc融合タンパク質による組換えヒトNMDA受容体自己抗体の検出。

3つの可溶性組換えNMDA受容体Fc抗原の試験では、N1-ATD-N2B-ATD-Fcは、幾つかの調査されたヒト組換えNMDA受容体自己抗体で最も高いシグナルを生じ、N1-ATD-Fc+N2B-ATD-Fcは他に対して同等以上のシグナルを生じた（図10）。これらのデータは、実施例4に記載の血清における可溶性組換えNMDA受容体Fc抗原の差次的抗体特異的感受性を示し、その知見を補う。

【0197】

実施例の考察

ここで提供される結果は、概念実証としての役割を果たす。本発明者らは、（1）HEK293細胞で不均一に発現され、そこから分泌されたGluN1のアミノ末端ドメイン及びウサギFcを含む可溶性融合タンパク質が患者の血清中でNMDA受容体自己抗体を結合することができ、（2）可溶性抗原によるNMDA受容体自己抗体の効率的な検出は、GluN2の細胞外ドメインの組み込みから利益を得ると結論づけている。さらに、異なるsrNR-Fc抗原を使用すると、患者の抗NMDA受容体免疫応答を分類することが可能になり得る。

【0198】

選択されたNMDA受容体サブタイプに対する自己反応性の検出は、抗NMDA受容体脳炎及びNMDA受容体に対する抗体に関連する他の医学的状態における鑑別診断を可能にし得る。

【0199】

本発明のコンストラクトの実験用途の更なる例

対照としてNMDA受容体融合タンパク質を用いた組換えLGI1抗体に対するELISAスクリーニング。

この実験で用いる哺乳動物発現コンストラクトを生成するため、ヒトLGI1のアミノ酸1～558（NM_005097.3）及びヒトGluN1のアミノ酸1～400（NM_007327）に対する

10

20

30

40

50

cDNAをpFuse-rlgG-Fc1 (invivoGen) に挿入した。得られたプラスミドは、hsLGI1又はアミノ酸GSSTMVRSによって連結されたウサギIgGのFc領域（アミノ酸SKP-PGK）に融合されたhsGluN1のアミノ末端ドメイン（ATD）をコードする。キメラコンストラクトLRR1-EPTP2及びLRR2-EPTP1は、LGI1のアミノ酸1～223及びLGI2のアミノ酸218～545、又はLGI2のアミノ酸1～217及びLGI1のアミノ酸224～557のウサギFc融合物をそれぞれコードする。

【0200】

LGI1-Fc及びNMDA受容体サブユニットGluN1-ATD-Fcに結合する抗体をELISAで比較した。ロバ抗ウサギIgG（10 µg/mL、Dianova、#711-005-152）でコーティングされた96ウェル高結合マイクロプレート（Greiner #655061）をブロッキングして、Fc融合タンパク質を発現するHEK293細胞の細胞培養上清と共にインキュベートした。モノクローナル抗体を含む細胞培養上清、CSF試料又は精製された抗体と、西洋ワサビペルオキシダーゼ（HRP）共役ロバ抗ヒトIgG（1:5000、Dianova、#709-035-149）を順次適用した。徹底洗浄後、HRP活性を1-Step Ultra TMB-ELISA基質（Thermo Fisher）を用いて測定した。固定化された抗原の存在をHRP共役F（ab'）2ロバ抗ウサギIgG（1:5000、Dianova、#711-036-152）とのインキュベーションによって確認した。ヒト組換え抗GluN1抗体003-102（Kreye J, Wenke NK, Chayka M, et al. Human cerebrospinal fluid monoclonal N-methyl-D-aspartate receptor autoantibodies are sufficient for encephalitis pathogenesis. Brain 2016; 139:2641-2652（非特許文献6））を10 ng/mlで使用した。結果を図5に示す。

【0201】

NMDA受容体融合タンパク質を用いたマウス脳抽出物中の組換えヒトNR1（GluN1）ABのELISA定量。

脳抽出物中の組換えヒトNR1 AB #003-102の濃度を、ロバ抗ウサギIgG（20 µg/mL、Dianova、#711-005-152）で、4℃で一晩コーティングされた96ウェルプレートで決定した。室温にてPBS/0.05%Tween-20（PBS/T）中の2%BSAでブロッキングした後、ウサギFcに融合されたヒトNR1（GluN1）のアミノ末端ドメイン（アミノ酸1～400）を発現したHEK293細胞の細胞培養上清を適用した。マウス脳抽出物を0.4%BSA-PBS/Tで1:25/1:100に希釈し、重複して添加した。プレートをPBS/Tで洗浄し、西洋ワサビペルオキシダーゼ（HRP）共役ロバ抗ヒトIgG（1:5000、Dianova、#709-035-149）と共にインキュベートした。洗浄後、HRP活性を1-Step Ultra TMB-ELISA基質（Thermo Fisher）を用いて測定した。抽出物中の#003-102の濃度を、精製された#003-102を用いて作成した較正曲線から推測した。結果を図6に示す。

参考文献

- Dalmau, J., Geis, C., and Graus, F. (2017). Autoantibodies to Synaptic Receptors and Neuronal Cell Surface Proteins in Autoimmune Diseases of the Central Nervous System. *Physiol Rev* 97, 839-887.
- Dalmau, J., Gleichman, A.J., Hughes, E.G., Rossi, J.E., Peng, X., Lai, M., Dessain, S.K., Rosenfeld, M.R., Balice-Gordon, R., and Lynch, D.R. (2008). Anti-NMDA-receptor encephalitis: case series and analysis of the effects of antibodies. *Lancet Neurol* 7, 1091-1098.
- Dalmau, J., and Graus, F. (2018). Antibody-Mediated Encephalitis. *N Engl J Med* 378, 840-851.
- Gable, M.S., Sheriff, H., Dalmau, J., Tilley, D.H., and Glaser, C.A. (2012). The frequency of autoimmune N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis surpasses that of individual viral etiologies in young individuals enrolled in the California Encephalitis Project. *Clin Infect Dis* 54, 899-904.
- Gleichman, A.J., Spruce, L.A., Dalmau, J., Seeholzer, S.H., and Lynch, D.R. (2012). Anti-NMDA receptor encephalitis antibody binding is dependent on amino acid identity of a small region within the GluN1 amino terminal domain. *J Ne*

urosci 32, 11082-11094.

Granerod, J., Ambrose, H.E., Davies, N.W., Clewley, J.P., Walsh, A.L., Morgan, D., Cunningham, R., Zuckerman, M., Mutton, K.J., Solomon, T., et al. (2010). Causes of encephalitis and differences in their clinical presentations in England: a multicentre, population-based prospective study. *Lancet Infect Dis* 10, 835-844.

Hughes, E.G., Peng, X., Gleichman, A.J., Lai, M., Zhou, L., Tsou, R., Parsons, T. D., Lynch, D.R., Dalmau, J., and Balice-Gordon, R.J. (2010). Cellular and synaptic mechanisms of anti-NMDA receptor encephalitis. *J Neurosci* 30, 5866-5875.

Jezequel, J., Johansson, E.M., Dupuis, J.P., Rogemond, V., Grea, H., Kellermayer, B., Hamdani, N., Le Guen, E., Rabu, C., Lepleux, M., et al. (2017a). Dynamic disorganization of synaptic NMDA receptors triggered by autoantibodies from psychotic patients. *Nat Commun* 8, 1791.

Jezequel, J., Rogemond, V., Pollak, T., Lepleux, M., Jacobson, L., Grea, H., Iyegbe, C., Kahn, R., McGuire, P., Vincent, A., et al. (2017b). Cell- and Single Molecule-Based Methods to Detect Anti-N-Methyl-D-Aspartate Receptor Autoantibodies in Patients With First-Episode Psychosis From the OPTiMiSE Project. *Biol Psychiatry* 82, 766-772.

Jones, B.E., Tovar, K.E., Goehring, A., Okada, N.J., Gouaux, E., and Westbrook, G.L. (2018). Anti-NMDA receptor encephalitis in mice induced by active immunization with conformationally-stabilized holoreceptors. *bioRxiv*, doi: <http://dx.doi.org/10.1101/467902>.

Kim, T.J., Lee, S.T., Moon, J., Sunwoo, J.S., Byun, J.I., Lim, J.A., Shin, Y.W., Jun, J.S., Lee, H.S., Lee, W.J., et al. (2017). Anti-LGI1 encephalitis is associated with unique HLA subtypes. *Ann Neurol* 81, 183-192.

Kreye, J., Wenke, N.K., Chayka, M., Leubner, J., Murugan, R., Maier, N., Jurek, B., Ly, L.T., Brandl, D., Rost, B.R., et al. (2016). Human cerebrospinal fluid monoclonal N-methyl-D-aspartate receptor autoantibodies are sufficient for encephalitis pathogenesis. *Brain* 139, 2641-2652.

Ladepeche, L., Planaguma, J., Thakur, S., Suarez, I., Hara, M., Borbely, J.S., Sandoval, A., Laparra-Cuervo, L., Dalmau, J., and Lakadamyali, M. (2018). NMDA Receptor Autoantibodies in Autoimmune Encephalitis Cause a Subunit-Specific Nanoscale Redistribution of NMDA Receptors. *Cell Rep* 23, 3759-3768.

Lee, C.H., and Gouaux, E. (2011). Amino terminal domains of the NMDA receptor are organized as local heterodimers. *PLoS One* 6, e19180.

Lee, C.H., Lu, W., Michel, J.C., Goehring, A., Du, J., Song, X., and Gouaux, E. (2014). NMDA receptor structures reveal subunit arrangement and pore architecture. *Nature* 511, 191-197.

Malviya, M., Barman, S., Golombeck, K.S., Planaguma, J., Mannara, F., Strutz-Seebohm, N., Wrzos, C., Demir, F., Baksmeier, C., Steckel, J., et al. (2017). NMDAR encephalitis: passive transfer from man to mouse by a recombinant antibody. *Ann Clin Transl Neurol* 4, 768-783.

Mueller, S.H., Farber, A., Pruss, H., Melzer, N., Golombeck, K.S., Kumpfel, T., Thaler, F., Elisak, M., Lewerenz, J., Kaufmann, M., et al. (2018). Genetic predisposition in anti-LGI1 and anti-NMDA receptor encephalitis. *Ann Neurol* 83, 863-869.

Paoletti, P., Bellone, C., and Zhou, Q. (2013). NMDA receptor subunit diversity: impact on receptor properties, synaptic plasticity and disease. *Nat Rev Neurosci* 14, 383-400.

Sharma, R., Al-Saleem, F.H., Puligedda, R.D., Rattelle, A., Lynch, D.R., and Des

10

20

30

40

50

sain, S.K. (2018). Membrane-bound and soluble forms of an NMDA receptor extracellular domain retain epitopes targeted in auto-immune encephalitis. *BM C Biotechnol* 18, 41.

Tajima, N., Karakas, E., Grant, T., Simorowski, N., Diaz-Avalos, R., Grigorieff, N., and Furukawa, H. (2016). Activation of NMDA receptors and the mechanism of inhibition by ifenprodil. *Nature* 534, 63-68.

Wenke, N.K., Kreye, J., Andrzejak, E., van Casteren, A., Leubner, J., Murgueitio, M.S., Reincke, S.M., Secker, C., Schmidl, L., Geis, C., Ackermann, F., Nikolaus, M., Garner, C.C., Wardemann, H., Wolber, G. and Pruess H. (2019). N-methyl-D-aspartate receptor dysfunction by unmutated human antibodies against the NR1 subunit. *Ann Neurol* 85, 771-776

Zhu, S., Stein, R.A., Yoshioka, C., Lee, C.H., Goehring, A., McHaourab, H.S., and Gouaux, E. (2016). Mechanism of NMDA Receptor Inhibition and Activation. *Cell* 165, 704-714.

【符号の説明】

【0202】

図面記

図1A

NMDA receptor subunits NMDA受容体サブユニット

図1B

Soluble recombinant NMDA receptor Fc antigens 可溶性組換えNMDA受容体Fc抗原

図1C

Homo- and heterodimeric assembly of soluble recombinant NMDA receptor Fc antigens 可溶性組換えNMDA受容体Fc抗原のホモ二量体及びヘテロ二量体アセンブリ

図2

rec hs anti-LGI1 rec hs 抗LGI1

rec hs anti-GluN1 rec hs 抗GluN1

anti-rbIgG 抗rbIgG

図3A

ctrl S 対照S

図3B

ctrl S 対照S

図3C

ctrl S 対照S

図4

anti-GluN1-Titer: 抗GluN1力価:

neg. 陰性

図5

ctrl SN 対照SN

anti-GluN1 抗GluN1

no hs AB hs ABなし

anti-LGI1 抗LGI1

no mm AB mm ABなし

anti-rb 抗rb

図6

NR1-reactive IgG [ng/brain] NR1反応性IgG [ng/脳]

CTL 対照

図7

A 450 nm or *A 490 nm A 450 nm又は*A 490 nm

anti-NR-Ab1 抗NR-Ab1

10

20

30

40

50

anti-NR-Ab2 抗NR-Ab2

anti-rbIgG* 抗rbIgG*

図8

anti-NR-Ab1 抗NR-Ab1

control Ab1 对照Ab1

anti-rbIgG 抗rbIgG

図9

A 450 nm or *A 490 nm A 450 nm又は*A 490 nm

anti-NR-Ab1 抗NR-Ab1

anti-rbIgG* 抗rbIgG*

図10

anti-NR-Ab1 抗NR-Ab1

anti-NR-Ab2 抗NR-Ab2

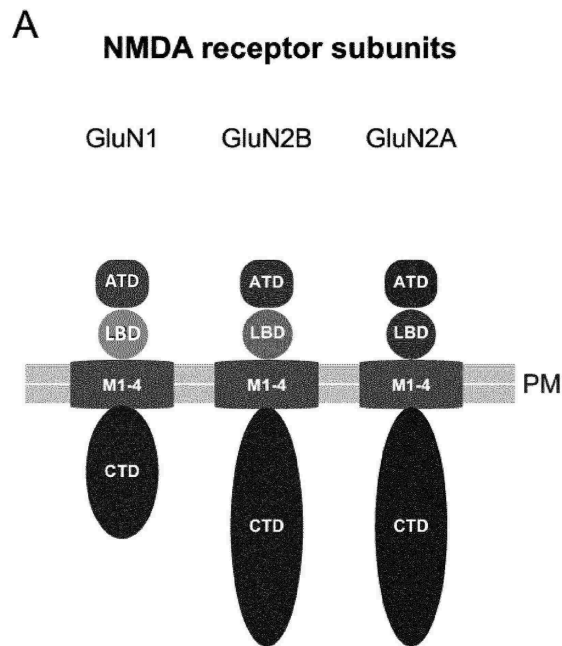
control Ab1 对照Ab1

anti-rbIgG 抗rbIgG

【図面】

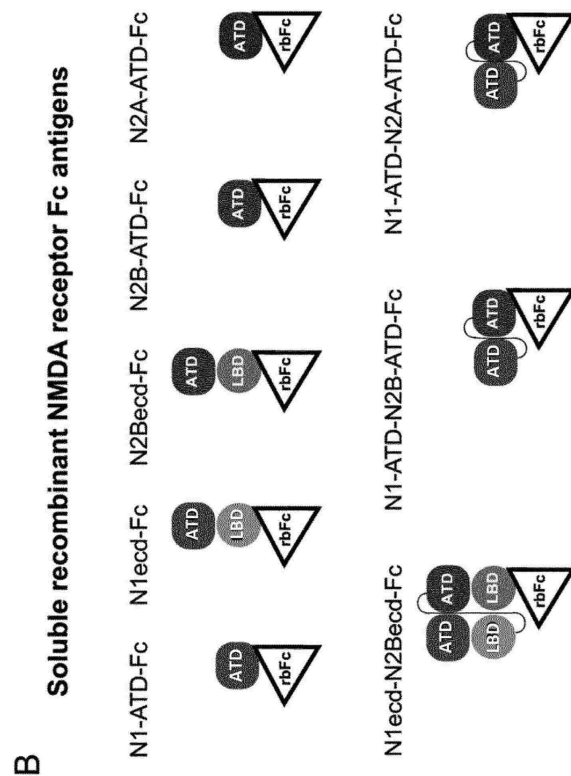
【図1-1】

Figure 1



【図1-2】

Figure 1 (continued)



10

20

30

40

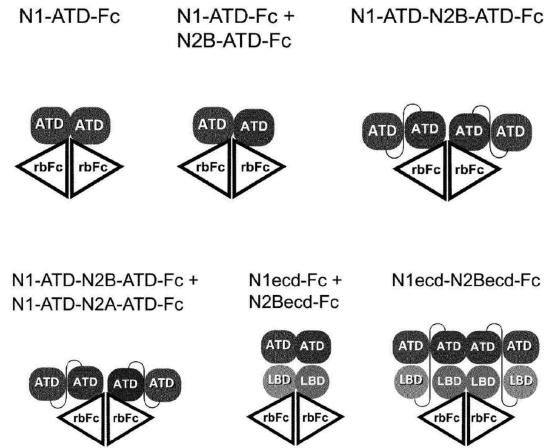
50

【 図 1 - 3 】

Figure 1 (continued)

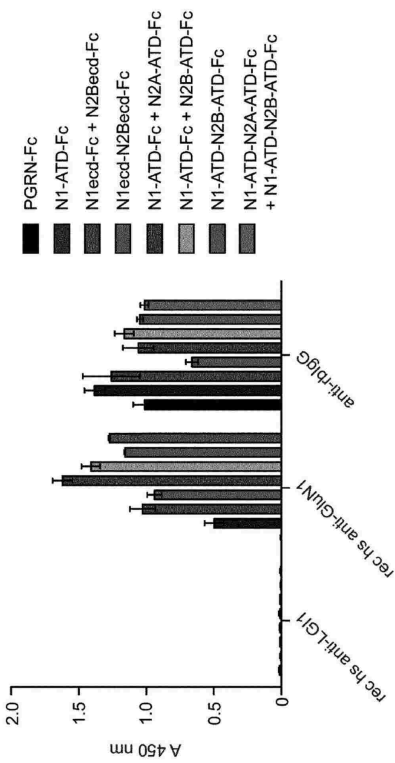
C

Homo- and heterodimeric assembly of soluble recombinant NMDA receptor Fc antigens



【 図 2 】

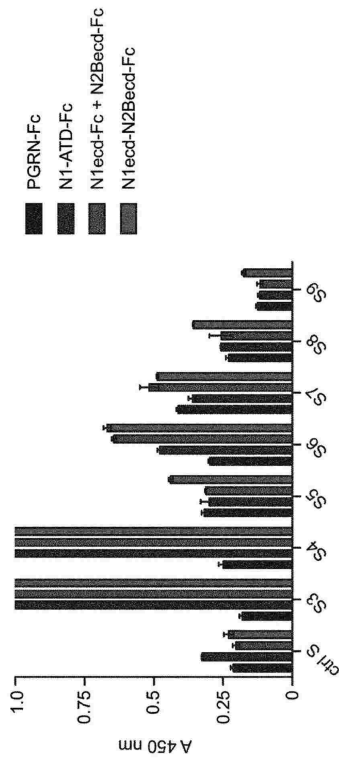
Figure 2



【 図 3 - 1 】

Figure 3

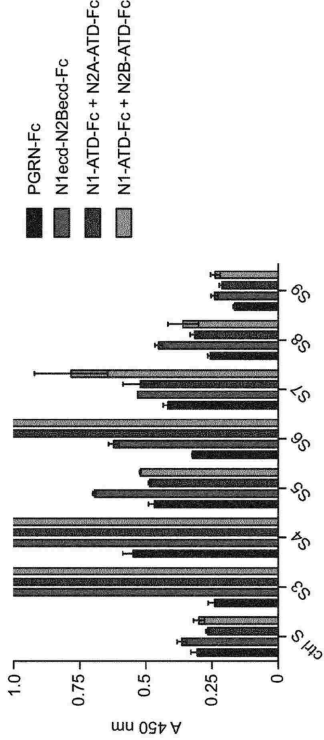
A



【 図 3 - 2 】

Figure 3 (continued)

B



10

20

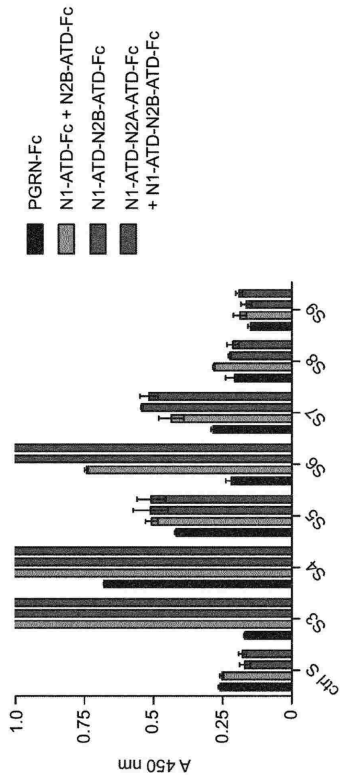
30

40

50

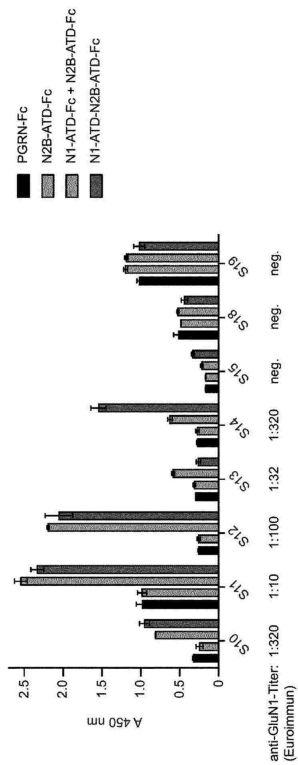
【図 3 - 3】

Figure 3 (continued)
C



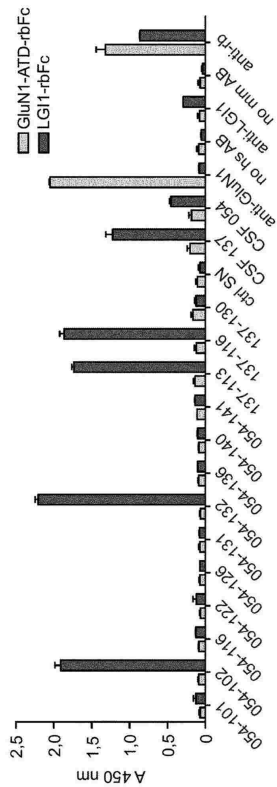
【図 4】

Figure 4



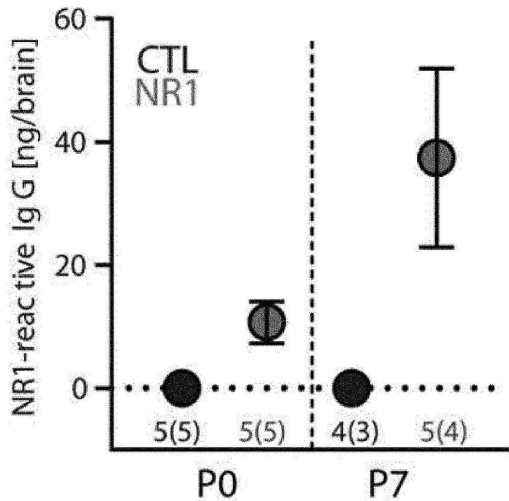
【図 5】

Figure 5



【図 6】

Figure 6



10

20

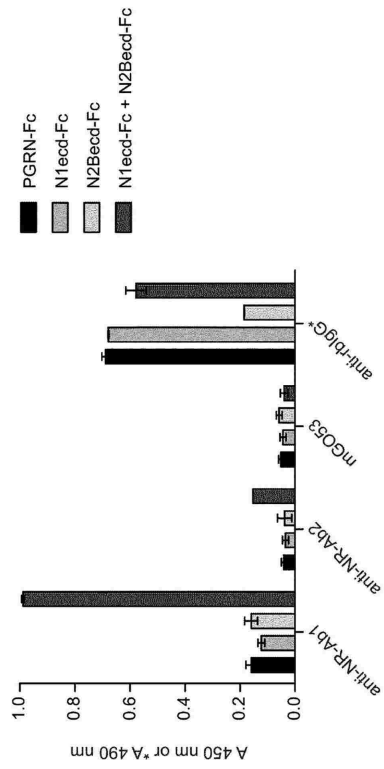
30

40

50

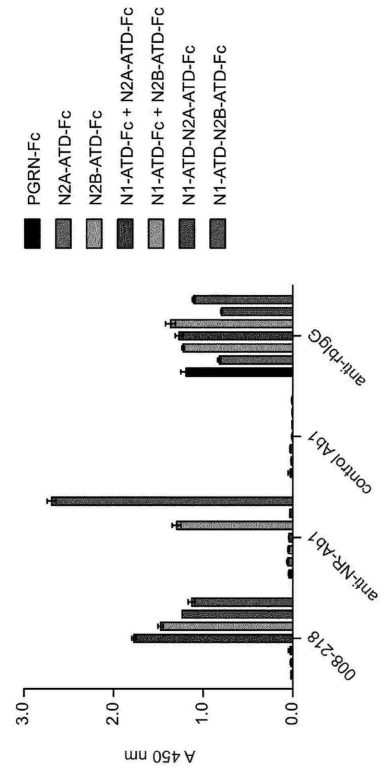
【図 7】

Figure 7



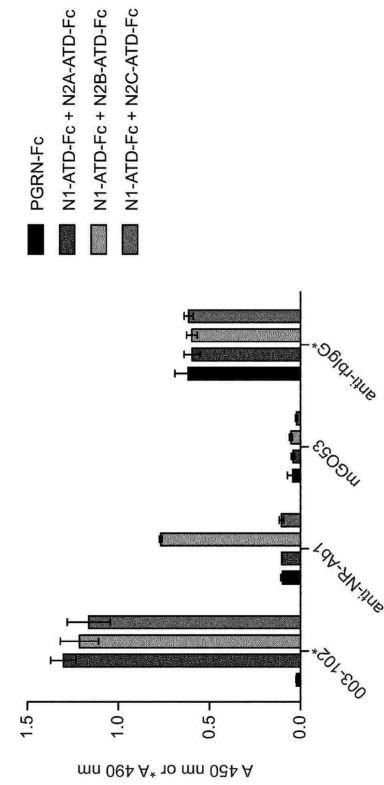
【図 8】

Figure 8



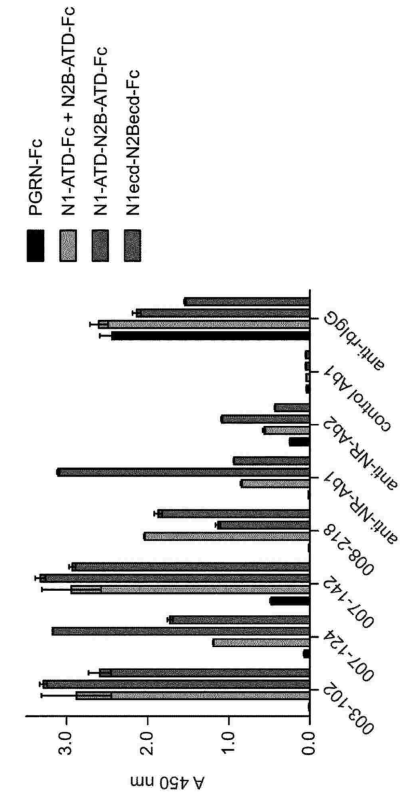
【図 9】

Figure 9



【図 10】

Figure 10



10

20

30

40

50

【配列表】
0007659905000001.app

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

A 6 1 M 1/36 (2006.01)
C 1 2 N 15/62 (2006.01)
C 1 2 N 15/13 (2006.01)
C 1 2 N 15/12 (2006.01)

F I

A 6 1 M 1/36 1 6 1
C 1 2 N 15/62 Z
C 1 2 N 15/13
C 1 2 N 15/12

(33)優先権主張国・地域又は機関

ルクセンブルク(LU)

(74)代理人 100224786

弁理士 大島 卓之

(74)代理人 100225015

弁理士 中島 彩夏

(72)発明者 コルナウ, ハンスークリスチャン

ドイツ, 1 0 1 1 5 ベルリン, リーニエンエステーエル. 1 2 7

(72)発明者 プルス, ハーラル

ドイツ, 1 2 2 4 7 ベルリン, クライルスハイマー エステーエル. 2 ベー

(72)発明者 ガーナー, クレイグ カーティス

ドイツ, 1 0 1 1 5 ベルリン, ガルテンエステーエル. 1 0 1

(72)発明者 フレイ, タニタ

東京都文京区大塚 5-7-11 #803

審査官 松村 真里

(56)参考文献 米国特許出願公開第2009/0155261 (US, A1)

米国特許出願公開第2003/0096331 (US, A1)

特表2009-541274 (JP, A)

Biological Psychiatry, 2017年, Vol.82, No.10, p.766-772

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

C 0 7 K

C 1 2 N

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)

CAPLUS/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)