

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 1 部門第 1 区分

【発行日】平成25年4月4日(2013.4.4)

【公表番号】特表2011-512871(P2011-512871A)

【公表日】平成23年4月28日(2011.4.28)

【年通号数】公開・登録公報2011-017

【出願番号】特願2010-550699(P2010-550699)

【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

C 1 2 Q 1/02 (2006.01)

G 0 1 N 33/53 (2006.01)

G 0 1 N 37/00 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 1 2 Q 1/68 A

C 1 2 Q 1/02 Z N A

G 0 1 N 33/53 M

G 0 1 N 37/00 1 0 2

C 1 2 N 15/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成24年3月9日(2012.3.9)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

中型星状神経細胞、コリン作動性ニューロンまたは小脳細胞に由来する m R N A のプロファイルを特定する方法であって、

(a) 前記中型星状神経細胞、前記コリン作動性ニューロンまたは前記小脳細胞で選択的に発現される遺伝子の調節領域により発現が制御されるタグ化リボソームタンパク質を非ヒト生物中で発現させる工程と、

(b) m R N A に付随している前記タグ化リボソームタンパク質を含む少なくとも 1 つの複合体を単離する工程と

(c) 前記少なくとも 1 つの複合体中の前記 m R N A を特定することにより、前記中型星状神経細胞、前記コリン作動性ニューロンまたは前記小脳細胞に由来する m R N A の前記プロファイルを特定する工程と、
を含む方法。

【請求項 2】

前記 R N A が、参照試料と比較して、前記中型星状神経細胞、前記コリン作動性ニューロンまたは前記小脳細胞において差次的に発現される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記調節領域が、線条体黒質ニューロン、線条体淡蒼球ニューロン、脳幹運動ニューロン、脊髄運動ニューロン、上位運動ニューロン、内側手綱のコリン作動性ニューロン、ブルキンエ細胞、ベルクマングリア、介在ニューロン、星状細胞またはかご細胞で選択的に発現される遺伝子の調節領域である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

前記調節領域が、D r d 1 a 遺伝子座、D r d 2 遺伝子座、コリンアセチルトランスフェラーゼ (C h a t) 遺伝子座、P c p 2 遺伝子座、L y p d 6 遺伝子座、プレプロノシセプチン (P n o c) 遺伝子座またはS e p t i n 4 遺伝子座に由来する調節配列を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項 5】

前記発現が、細菌人工染色体を非ヒト生物に導入する工程をさらに含む、請求項1に記載の方法。

【請求項 6】

前記中型星状神経細胞、前記コリン作動性ニューロンまたは前記小脳細胞が、パーキンソン病、依存症、注意欠陥過活動性障害、統合失調症、ハンチントン病又は運動失調症のいずれか 1 つから選択される疾患又は障害に関連している、請求項1に記載の方法。

【請求項 7】

前記リボソームタンパク質が L 1 0 a である、請求項1に記載の方法。

【請求項 8】

前記リボソームタンパク質が検出可能なタグを含む、請求項1または7に記載の方法。

【請求項 9】

前記検出可能なタグが e G F P である、請求項8に記載の方法。

【請求項 1 0】

m R N A の前記プロファイルが、表 1 3、表 1 7、表 1 8、表 1 9 または表 2 0 に列挙されているいずれか 1 つ以上の遺伝子由来の m R N A を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項 1 1】

m R N A の前記プロファイルが、G p r 6、H t r 3 a、H t r a 3、G p r 8 8、S v 2 C、A d r a 2 c、H r h 2、O p r d 1、T r h r または U t s 2 に由来する m R N A を含む、請求項1または1 0に記載の方法。

【請求項 1 2】

リボソームタンパク質及び検出可能なタグを含む融合タンパク質をコードするヌクレオチド配列を含む組換えベクターを含むキットであって、該ヌクレオチド配列は、中型星状神経細胞、コリン作動性ニューロンまたは小脳細胞において選択的に発現される遺伝子の調節領域をコードするヌクレオチド配列に作用可能に連結されている、キット。

【請求項 1 3】

前記検出可能なタグが e G F P であるかまたは前記リボソームタンパク質が L 1 0 a である、請求項1 2に記載のキット。

【請求項 1 4】

中型星状神経細胞、コリン作動性ニューロンまたは小脳細胞において選択的に発現される遺伝子の前記調節領域をコードする前記ヌクレオチド配列が、前記中型星状神経細胞、前記コリン作動性ニューロンまたは前記小脳細胞において選択的に発現される前記遺伝子の 5 ' 又は 3 ' 非翻訳配列を含む、請求項 1 2 に記載のキット。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 0 9

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 0 9】

本発明は、内因性調節領域に作用可能に連結されたりボソームタンパク質及び検出可能なタグをコードする核酸配列を発現するように遺伝子操作された組換えベクターを含む、本明細書中に記載の方法を実施するのに有用なキットも提供する。

本発明の特定の実施形態では、例えば以下が提供される：

(項目 1)

同時制御された遺伝子セットを特定する方法であって、

(a) 髄鞘形成に関連する遺伝子を発現する複数の細胞タイプの翻訳プロファイルを決

定する工程、

(b) 前記翻訳プロファイルと比較して、どの追加的遺伝子が同様に制御されるかを決定し、それにより髄鞘形成に関与する同時制御された遺伝子セットを特定する工程を含む方法。

(項目 2)

髄鞘形成と関連する前記遺伝子が M b p である、項目 1 に記載の方法。

(項目 3)

前記遺伝子セットが、P l p 1、C n p、M o g、M a l、及び M o b p からなる群から選択される少なくとも 2 つの遺伝子を含む、項目 1 に記載の方法。

(項目 4)

表 9 に列挙されている少なくとも 2 つの遺伝子を含む、髄鞘形成に関与する同時制御された遺伝子セット。

(項目 5)

P l p 1、C n p、M o g、M a l、又は M o b p の少なくとも 1 つを含む、項目 4 に記載の遺伝子セット。

(項目 6)

全組織マイクロアレイ技術では検出不能である、細胞タイプで富化された 1 つ又は複数の遺伝子を検出する方法であって、

(a) 細胞タイプについての翻訳プロファイルを評価する工程と、

(b) 前記翻訳プロファイルを全組織マイクロアレイの結果と比較する工程と、

(c) 前記全組織マイクロアレイの前記結果に存在しない、前記翻訳プロファイル中の 1 つ又は複数の遺伝子の存在を決定する工程を含み、
それにより前記全組織マイクロアレイ技術では検出不能である、細胞タイプで富化された 1 つ又は複数の遺伝子を検出する方法。

(項目 7)

前記細胞タイプにおいて富化された前記遺伝子の 20 %、30 %、又は 40 % 超が、前記全組織マイクロアレイ技術で検出不能である、項目 6 に記載の方法。

(項目 8)

前記細胞タイプが、線条体細胞、小脳細胞、皮質細胞、視床下部細胞、海馬細胞、脳幹細胞、及び脊髄細胞からなる群から選択される、項目 6 に記載の方法。

(項目 9)

前記翻訳プロファイルの評価がマイクロアレイの使用を伴う、項目 6 に記載の方法。

(項目 10)

中型星状神経細胞で富化された m R N A を特定する方法であって、

(a) 中型星状神経細胞で発現される遺伝子に特異的な調節領域により制御されるリボソームタンパク質を生物中で発現させる工程と、

(b) m R N A に付随している前記リボソームタンパク質を含む複合体を単離する工程と

(c) 前記複合体中の m R N A を特定する工程と、

(d) 前記 m R N A を、参照試料から特定された m R N A と比較する工程とを含む方法。

(項目 11)

前記中型星状神経細胞で富化された m R N A が差次的に発現される、項目 10 に記載の方法。

(項目 12)

前記調節領域が、線条体黒質ニューロンで発現される遺伝子に特異的である、項目 10 に記載の方法。

(項目 13)

前記調節領域が、線条体淡蒼球ニューロンで発現される遺伝子に特異的である、項目 10 に記載の方法。

(項目 1 4)

前記発現が、細菌人工染色体により媒介される、項目 1 0 に記載の方法。

(項目 1 5)

前記調節領域が、D r d 1 a 又は D r d 2 遺伝子座に由来する調節配列を含む、項目 1 0 に記載の方法。

(項目 1 6)

前記発現が、細菌人工染色体を生物に導入する工程を含む、項目 1 0 に記載の方法。

(項目 1 7)

前記中型星状神経細胞が、疾患又は障害に関連している、項目 1 0 に記載の方法。

(項目 1 8)

前記疾患又は障害が、パーキンソン病、依存症、注意欠陥過活動性障害、又はハンチントン病のいずれか 1 つである、項目 1 7 に記載の方法。

(項目 1 9)

前記方法が、前記疾患又は障害を治療するための候補となる標的選択の誘導に使用される、項目 1 7 に記載の方法。

(項目 2 0)

前記リボソームタンパク質が L 1 0 a である、項目 1 0 に記載の方法。

(項目 2 1)

前記リボソームタンパク質が m R N A と直接的に結合しない、項目 1 0 に記載の方法。

(項目 2 2)

検出可能なタグを発現する工程をさらに含む項目 1 0 に記載の方法。

(項目 2 3)

前記検出可能なタグが e G F P である、項目 2 2 に記載の方法。

(項目 2 4)

前記単離する工程が架橋試薬を用いずに実施される、項目 1 0 に記載の方法。

(項目 2 5)

小分子、薬物、抗体、ハイブリッド抗体、抗体断片、s i R N A、アンチセンス R N A、アプタマー、タンパク質、又はペプチドを前記神経細胞に投与する工程をさらに含む項目 1 0 に記載の方法。

(項目 2 6)

前記薬物がコカインである、項目 2 5 に記載の方法。

(項目 2 7)

前記 m R N A が、マイクロアレイにさらに配置されている、項目 1 0 に記載の方法。

(項目 2 8)

前記調節領域が、D r d 1 a 遺伝子座に由来する調節配列を含む、項目 1 0 に記載の方法。

(項目 2 9)

翻訳プロファイルが、T a c 1、P d y n、S l c 3 5 d 3、Z f p 5 2 1、E b f 1、S t m n 2、G n b 4、N r x n 1、E y a 1、I s l 1、G n g 2、又は C r y m を含む、項目 2 8 に記載の方法。

(項目 3 0)

運動ニューロンで富化された m R N A を特定する方法であって、

(a) 運動ニューロンで発現される遺伝子に特異的な調節領域により制御されるリボソームタンパク質を生物中で発現させる工程と、

(b) m R N A に付随している前記リボソームタンパク質を含む複合体を単離する工程と

(c) 前記複合体中の前記 m R N A を特定する工程と、

(d) 前記 m R N A を、参照試料から特定された m R N A と比較する工程とを含む方法

。

(項目 3 1)

調節領域が、コリンアセチルトランスフェラーゼ (C h a t) 遺伝子座に由来する調節配列を含む、項目 1 6 に記載の方法。

(項目 3 2)

運動ニューロンが脳幹運動ニューロンである、項目 1 6 に記載の方法。

(項目 3 3)

運動ニューロンが脊髄運動ニューロンである、項目 1 6 に記載の方法。

(項目 3 4)

運動ニューロンが上位運動ニューロンである、項目 1 6 に記載の方法。

(項目 3 5)

富化された m R N A が、表 1 9 に列挙されている m R N A の 1 つ又は複数を含む、項目 1 6 に記載の方法。

(項目 3 6)

小脳細胞の翻訳プロファイルを評価するための方法であって、

(a) 小脳遺伝子に特異的な調節領域により制御されるリボソームタンパク質を前記細胞中で発現させる工程と、

(b) m R N A に付随している前記リボソームタンパク質を含む少なくとも 1 つの複合体を前記細胞から単離する工程と、

(c) 前記複合体に由来する前記 m R N A を特定し、それにより翻訳プロファイルを生成する工程を含む方法。

(項目 3 7)

前記発現させる工程が、細胞又は生物を細菌人工染色体で形質導入する工程を含む、項目 3 6 に記載の方法。

(項目 3 8)

前記小脳細胞が、疾患又は障害を伴っている、項目 3 6 に記載の方法。

(項目 3 9)

前記疾患又は障害が運動失調症である、項目 3 8 に記載の方法。

(項目 4 0)

前記方法が、前記疾患又は障害を治療するための候補となる標的選択の誘導に使用される、項目 3 8 に記載の方法。

(項目 4 1)

前記リボソームタンパク質が L 1 0 a である、項目 3 6 に記載の方法。

(項目 4 2)

前記リボソームタンパク質が m R N A と直接的に結合しない、項目 3 6 に記載の方法。

(項目 4 3)

検出可能なタグを発現する工程をさらに含む項目 3 6 に記載の方法。

(項目 4 4)

前記検出可能なタグが e G F P である、項目 4 3 に記載の方法。

(項目 4 5)

前記単離する工程が架橋試薬を用いず実施される、項目 3 6 に記載の方法。

(項目 4 6)

前記小脳細胞がプルキンエ細胞である、項目 3 6 に記載の方法。

(項目 4 7)

前記小脳細胞がベルクマングリアである、項目 3 6 に記載の方法。

(項目 4 8)

小分子、薬物、抗体、ハイブリッド抗体、抗体断片、s i R N A、アンチセンス R N A、アプタマー、タンパク質、又はペプチドをニューロンに投与する工程をさらに含む項目 3 6 に記載の方法。

(項目 4 9)

前記 m R N A が、マイクロアレイにさらに配置されている、項目 3 6 に記載の方法。

(項目 5 0)

前記調節領域が、P c p 2 遺伝子座に由来する調節配列を含む、項目 3 6 に記載の方法。

(項目 5 1)

翻訳プロファイルが、表 2 2 に列挙されている任意の 1 つ又は複数の遺伝子を含む、項目 5 0 に記載の方法。

(項目 5 2)

前記調節領域が、S e p t i n 4 遺伝子座に由来する調節配列を含む、項目 3 6 に記載の方法。

(項目 5 3)

翻訳プロファイルが、表 2 3 に列挙されている任意の 1 つ又は複数の遺伝子を含む、項目 5 2 に記載の方法。

(項目 5 4)

内因性調節領域に作用可能に連結されたリボソームタンパク質及び検出可能なタグをコードする核酸配列を発現するように遺伝子操作された組換えベクターを含むキット。

(項目 5 5)

前記検出可能なタグが e G F P である、項目 5 4 に記載のキット。

(項目 5 6)

前記リボソームタンパク質が L 1 0 a である、項目 5 4 に記載のキット。

(項目 5 7)

前記リボソームタンパク質が、前記検出可能なタグとインフレーションで融合されている、項目 5 4 に記載のキット。

(項目 5 8)

前記組換えベクターが細菌人工染色体である、項目 5 4 に記載のキット。

(項目 5 9)

前記内因性調節領域が、目的遺伝子の 5 ' 及び／又は 3 ' 非翻訳配列を含む、項目 5 4 に記載のキット。

(項目 6 0)

前記目的遺伝子が、線条体細胞、小脳細胞、皮質細胞、視床下部細胞、海馬細胞、脳幹細胞、及び脊髄細胞からなる群から選択される細胞で発現される、項目 5 9 に記載のキット。