

【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18年1月5日(2006.1.5)

【公表番号】特表2003-530814(P2003-530814A)

【公表日】平成15年10月21日(2003.10.21)

【出願番号】特願2000-562396(P2000-562396)

【国際特許分類】

C 12 N	15/09	(2006.01)
C 07 K	14/47	(2006.01)
C 07 K	16/18	(2006.01)
C 12 N	1/15	(2006.01)
C 12 N	1/19	(2006.01)
C 12 N	1/21	(2006.01)
C 12 P	21/08	(2006.01)
C 12 Q	1/02	(2006.01)
C 12 Q	1/68	(2006.01)
G 01 N	33/15	(2006.01)
G 01 N	33/50	(2006.01)
G 01 N	33/53	(2006.01)
C 12 N	5/10	(2006.01)

【F I】

C 12 N	15/00	Z N A A
C 07 K	14/47	
C 07 K	16/18	
C 12 N	1/15	
C 12 N	1/19	
C 12 N	1/21	
C 12 P	21/08	
C 12 Q	1/02	
C 12 Q	1/68	A
G 01 N	33/15	Z
G 01 N	33/50	Z
G 01 N	33/53	D
C 12 N	5/00	A

【手続補正書】

【提出日】平成17年9月27日(2005.9.27)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】配列番号：3の核酸を含む単離されたDNAまたはその相補体。

【請求項2】突然変異を含む配列番号：4のポリペプチドをコードする単離されたDNAであって、ここに、該突然変異が該単離されたDNAに：a)コドン74にてロイシン、b)コドン76にてアスパラギン、c)コドン28にてロイシン、d)コドン32にてヒスチジン、e)コドン98にてトリプトファン、f)コドン127にてアラニン、またはg)コドン127にてトレオニンをコードさせる該単離されたDNA。

【請求項3】 該DNAが：a)配列番号：3の塩基418にてA、b)配列番号：3の塩基413にてT、c)配列番号：3の塩基275にてT、d)配列番号：3の塩基287にてA、e)配列番号：3の塩基484にてT、f)配列番号：3の塩基571にてG、およびg)配列番号：3の塩基571にてAよりなる群から選択される突然変異を含む請求項1記載の単離されたDNA。

【請求項4】 ストリンジェント・ハイブリダイゼーション条件下で請求項2または3記載のDNAに特異的にハイブリダイズする核酸プローブであって、ここに、該ストリンジェント・ハイブリダイゼーション条件は、該核酸プローブが配列番号：3のDNAにハイブリダイズすることを妨げる該核酸プローブ。

【請求項5】 QT延長症候群を引起す多型性を診断する方法であって、該プローブの該多型性を含む核酸へのハイブリダイゼーションを許容するが、該プローブの配列番号：3の核酸へのハイブリダイゼーションは妨ぐストリンジェント条件下で請求項4記載のプローブを患者試料のDNAまたはRNAにハイブリダイズすることを含み、ここに、当該ハイブリダイゼーション信号の存在が該多型性の存在を示す該方法。

【請求項6】 該患者のDNAまたはRNAが増幅されており、該増幅されたDNAまたはRNAがハイブリダイズされる請求項5記載の方法。

【請求項7】 ハイブリダイゼーションがイン・サイチュで行われる請求項6記載の方法。

【請求項8】 QT延長症候群を引起すヒトK C N E 1における多型性の存在を診断する方法であって、該方法は該多型性の存在を確認する手段によって実行され、ここに、該多型性は改変したアミノ酸を持つ配列番号：4のK C N E 1ポリペプチドの存在を生じるものであって、該改変したアミノ酸はa)残基74にてLeu、b)残基76にてAsn、c)残基28にてLeu、d)残基32にてHis、e)残基98にてTrp、f)残基127にてAla、およびg)残基127にてThrよりなる群から選択される該方法。

【請求項9】 該多型性が：a)該コーディング領域の塩基221にてT、b)該コーディング領域の塩基226にてA、c)該コーディング領域の塩基83にてT、d)該コーディング領域の塩基95にてA、e)該コーディング領域の塩基292にてT、f)該コーディング領域の塩基379にてG、およびg)該コーディング領域の塩基379にてAよりなる群から選択される請求項8記載の方法。

【請求項10】 該手段が一本鎖コンホメーション多型性技術を用いて該多型性につきアッセイすることを含む請求項8または9記載の方法。

【請求項11】 該手段がヒトK C N E 1を配列決定することを含む請求項8または9記載の方法。

【請求項12】 該手段がRNAseアッセイを実行することを含む請求項8または9記載の方法。

【請求項13】 突然変異K C N E 1ポリペプチドには結合するが、野生型K C N E 1ポリペプチドには結合しない抗体であって、ここに、該突然変異K C N E 1ポリペプチドが、

a)残基74にLeu、
b)残基76にAsn、
c)残基28にLeu、
d)残基32にHis、
e)残基98にTrp、
f)残基127にAla、または
g)残基127にThr
を含む配列番号：4である該抗体。

【請求項14】 QT延長症候群を診断する方法であって、患者の試料と請求項13記載の抗体とを反応させることによる患者における突然変異K C N E 1ポリペプチドの存在についてのアッセイからなり、ここに、陽性反応の存在がQT延長症候群を示す該方法

。 【請求項 15】 QT 延長症候群を引起す突然変異を含む単離された KCNE1 ポリペプチドであって、ここに、該突然変異が：

- a) 残基 74 にて Leu、
- b) 残基 76 にて Asn、
- c) 残基 28 にて Leu、
- d) 残基 32 にて His、
- e) 残基 98 にて Trp、
- f) 残基 127 にて Ala、または
- g) 残基 127 にて Thr

である該単離された KCNE1 ポリペプチド。

【請求項 16】 配列番号：101、配列番号：102、配列番号：103、配列番号：104、配列番号：105 および配列番号：106 よりなる群から選択される単離された核酸。

【請求項 17】 当該プライマーが：

- a) 配列番号：101 および 102；
- b) 配列番号：103 および 104；または
- c) 配列番号：105 および 106

である核酸プライマーの対。

【請求項 18】 KCNE1 のエキソンを増幅するための請求項 17 記載の核酸プライマーの対の使用。

【請求項 19】 請求項 1 ないし 3 いずれか 1 記載の DNA でトランスフェクトされた細胞。

【請求項 20】 請求項 1 ないし 3 いずれか 1 記載の単離された DNA を含むベクター。

【請求項 21】 請求項 20 記載のベクターでトランスフェクトされた細胞。

【請求項 22】 請求項 1 ないし 3 いずれか 1 記載の DNA を含む非ヒト・トランスジェニック動物。

【請求項 23】 請求項 20 記載のベクターを含む非ヒト・トランスジェニック動物。

。 【請求項 24】 KCNE1 に突然変異を持つ人を治療するのに有用な薬物をスクリーンする方法であって、

a) 突然変異を持つ KCNE1 を発現する第 1 の細胞セットを第 1 の誘導 K⁺ 電流を測定するための浴液に入れ；

b) 該第 1 の誘導 K⁺ 電流を測定し；

c) 野生型 KCNE1 を発現する第 2 の細胞セットを第 2 の誘導 K⁺ 電流を測定するための浴液に入れ；

d) 該第 2 の誘導 K⁺ 電流を測定し；

e) 薬物を工程 (a) の浴液に添加し；

f) 工程 (e) における細胞の第 3 の誘導 K⁺ 電流を測定し；次いで

g) 該第 3 の誘導 K⁺ 電流が該第 1 の誘導 K⁺ 電流によりも該第 2 の誘導 K⁺ 電流に近いかどうかを決定し、該第 1 の誘導 K⁺ 電流によりも該第 2 の誘導 K⁺ 電流により近い第 3 の誘導 K⁺ 電流を生じる薬物が該人の治療に有用であって、ここに、該突然変異は： a) 残基 74 に Leu、b) 残基 76 に Asn、c) 残基 28 に Leu、d) 残基 32 に His、e) 残基 98 に Trp、f) 残基 127 に Ala、または g) 残基 127 に Thr を生じる突然変異よりなる群から選択されることを含む該方法。

【請求項 25】 該第 1 の細胞セット、該第 2 の細胞セットまたは両方の細胞セットをトランスジェニック動物から得るか、またはヒト KCNE1 RNA でトランスフェクトする請求項 24 記載の方法。

【請求項 26】 該第 1 の細胞セットおよび該第 2 の細胞セットがさらに野生型 KV

L Q T 1 を発現する請求項 2 4 記載の方法。

【請求項 2 7】 Q T 延長症候群の治療または予防に有用な薬物をスクリーンする方法であって：

a) 野生型 K V L Q T 1 および野生型 K C N E 1 を発現する細胞を電流を測定するための浴液に入れ；

b) 工程 (a) の細胞における誘導 K ⁺ 電流を測定し；

c) 突然変異 K V L Q T 1 および野生型 K C N E 1 を発現する細胞を電流を測定するための浴液に入れ；

d) 工程 (c) の細胞における誘導 K ⁺ 電流を測定し；

e) 薬物を工程 (c) の浴液に添加し；

f) 工程 (e) の細胞における誘導 K ⁺ 電流を測定し；次いで

g) 該薬物が、野生型 K V L Q T 1 および野生型 K C N E 1 を発現する細胞で観測される誘導 K ⁺ 電流に、該薬物不存在下で突然変異 K V L Q T 1 および野生型 K C N E 1 を発現する細胞で観測される電流と比較して、より近いもしくはより近くない誘導 K ⁺ 電流を生じたかどうかを決定し、ここに、野生型 K V L Q T 1 および野生型 K C N E 1 を発現する細胞で観測される電流により近い電流を生じる薬物は Q T 延長症候群の治療または予防に有用であって、該突然変異 K V L Q T 1 は、(配列番号：1に基づき)：塩基 6 6 2 ~ 6 6 4 の欠失、塩基 6 9 4 に C、塩基 7 2 7 に A、塩基 7 3 1 に A、塩基 9 2 2 に A、塩基 9 7 9 に T、塩基 1 0 7 8 に A、塩基 1 0 9 7 に T、塩基 1 1 8 4 に A、塩基 1 1 8 4 に T、塩基 1 1 9 6 に A、塩基 6 6 4 に A、塩基 1 1 0 2 に A、塩基 1 1 0 6 に G、塩基 1 1 1 6 に C、塩基 1 2 2 0 に C、および塩基 1 2 5 8 に T よりなる群から選択される突然変異を含むことを含む該方法。

【請求項 2 8】 Q T 延長症候群の治療または予防に有用な薬物をスクリーンする方法であって、

a) 野生型 K V L Q T 1 および野生型 K C N E 1 で共トランスフェクトされたトランスジェニック動物を調製し；

b) 工程 (a) のトランスジェニック動物における誘導 K ⁺ 電流を測定し；

c) 野生型 K V L Q T 1 および突然変異 K C N E 1 で共トランスフェクトされたトランスジェニック動物を調製し；

d) 工程 (c) のトランスジェニック動物における誘導 K ⁺ 電流を測定し；

e) 工程 (c) のトランスジェニック動物に薬物を投与し；

f) 工程 (e) の薬物処理された動物における誘導 K ⁺ 電流を測定し；

g) 該薬物が、野生型 K V L Q T 1 および野生型 K C N E 1 で共トランスフェクトされた動物で観測される誘導 K ⁺ 電流に、該薬物不存在下で突然変異 K V L Q T 1 および野生型 K C N E 1 で共トランスフェクトされた動物で観測される電流と比較して、より近いもしくはより近くない誘導 K ⁺ 電流を生じたかどうかを決定し、ここに、野生型 K V L Q T 1 および野生型 K C N E 1 で共トランスフェクトされた動物で観測される電流により近い電流を生じる薬物は Q T 延長症候群の治療または予防に有用であって、該突然変異ヒト K C N E 1 は：a) 残基 7 4 に L e u 、b) 残基 7 6 に A s n 、c) 残基 2 8 に L e u 、d) 残基 3 2 に H i s 、e) 残基 9 8 に T r p 、f) 残基 1 2 7 に A l a 、または g) 残基 1 2 7 に T h r をコードすることを含む該方法。

【請求項 2 9】 Q T 延長症候群の治療または予防に有用な薬物をスクリーンする方法であって、

a) 野生型 K V L Q T 1 および野生型 K C N E 1 で共トランスフェクトされたトランスジェニック動物を調製し；

b) 工程 (a) のトランスジェニック動物における誘導 K ⁺ 電流を測定し；

c) 突然変異 K V L Q T 1 および野生型 K C N E 1 で共トランスフェクトされたトランスジェニック動物を調製し；

d) 工程 (c) のトランスジェニック動物における誘導 K ⁺ 電流を測定し；

e) 工程 (c) のトランスジェニック動物に薬物を投与し；

f) 工程 (e) の薬物治療された動物における誘導 K^+ 電流を測定し；

g) 該薬物が、野生型 $KVLQT1$ および野生型 $KCNE1$ で共トランスフェクトされた動物で観測される誘導 K^+ 電流に、該薬物不在下で突然変異 $KVLQT1$ および野生型 $KCNE1$ で共トランスフェクトされた動物で観測される電流と比較して、より近いかより近くない誘導 K^+ 電流を生じたかどうかを決定し、ここに、野生型 $KVLQT1$ および野生型 $KCNE1$ で共トランスフェクトされた動物で観測される電流により近い電流を生じる薬物は QT 延長症候群の治療または予防に有用であって、該突然変異 $KVLQT1$ は、(配列番号：1に基づき)：塩基 662～664 の欠失、塩基 694 に C、塩基 727 に A、塩基 731 に A、塩基 922 に A、塩基 979 に T、塩基 1078 に A、塩基 1097 に T、塩基 1184 に A、塩基 1184 に T、塩基 1196 に A、塩基 664 に A、塩基 1102 に A、塩基 1106 に G、塩基 1116 に C、塩基 1220 に C、および塩基 1258 に T よりなる群から選択される突然変異を含むことを含む該方法。

【請求項 30】 a) 配列番号：3 のヌクレオチド 1 ないし 192 またはその相補体、b) 配列番号：3 の塩基 1 ないし 192 のいずれかの 15 個の連続したヌクレオチドまたはその相補体、c) 配列番号：3 の塩基 1 ないし 192 のいずれかの 12 個の連続したヌクレオチドまたはその相補体、d) 配列番号：3 のヌクレオチド 583 ないし 1702 またはその相補体、e) 配列番号：3 の塩基 583 ないし 1702 のいずれかの 15 個の連続したヌクレオチドまたはその相補体、または f) 配列番号：3 の塩基 583 ないし 1702 のいずれかの 12 個の連続したヌクレオチドまたはその相補体よりなる群から選択される単離された核酸またはその相補体。

【請求項 31】 配列番号：4 のポリペプチドをコードする核酸でトランスフェクトされた細胞であって、該ポリペプチドが：

a) 残基 74 にて Ser ではなくて Leu、
 b) 残基 76 にて Asp ではなくて Asn、
 c) 残基 28 にて Ser ではなくて Leu、
 d) 残基 32 にて Arg ではなくて His、
 e) 残基 98 にて Arg ではなくて Trp、
 f) 残基 127 にて Pro ではなくて Ala、または
 g) 残基 127 にて Pro ではなくて Thr
 を含む該細胞。

【請求項 32】 配列番号：4 のポリペプチドをコードする核酸および配列番号：2 のポリペプチドをコードする核酸で共トランスフェクトされた細胞であって、配列番号：4 のポリペプチドが突然変異を含むか、配列番号：2 のポリペプチドが突然変異を含むか、または配列番号：4 のポリペプチドおよび配列番号：2 のポリペプチドの両方が突然変異を含む該細胞。

【請求項 33】 非ヒト・トランスジェニック動物であって、野生型ヒト $KCNE1$ および突然変異ヒト $KVLQT1$ を含む該動物。

【請求項 34】 非ヒト・トランスジェニック動物であって、突然変異ヒト $KCNE1$ および野生型ヒト $KVLQT1$ を含む該動物。