

【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 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 0 7 K 14/47 (2006.01)

C 0 7 K 16/18 (2006.01)

C 1 2 N 1/15 (2006.01)

C 1 2 N 1/19 (2006.01)

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

C 1 2 P 21/08 (2006.01)

C 1 2 Q 1/02 (2006.01)

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

G 0 1 N 33/15 (2006.01)

G 0 1 N 33/50 (2006.01)

G 0 1 N 33/53 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 0 7 K 14/47

C 0 7 K 16/18

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 P 21/08

C 1 2 Q 1/02

C 1 2 Q 1/68 A

G 0 1 N 33/15 Z

G 0 1 N 33/50 Z

G 0 1 N 33/53 D

C 1 2 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 4 1 8 にて A、 b) 配列番号： 3 の塩基 4 1 3 にて T、 c) 配列番号： 3 の塩基 2 7 5 にて T、 d) 配列番号： 3 の塩基 2 8 7 にて A、 e) 配列番号： 3 の塩基 4 8 4 にて T、 f) 配列番号： 3 の塩基 5 7 1 にて G、 および g) 配列番号： 3 の塩基 5 7 1 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 KCNE1 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 KCNE1 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 7 4 にて Leu、 b) 残基 7 6 にて Asn、 c) 残基 2 8 にて Leu、 d) 残基 3 2 にて His、 e) 残基 9 8 にて Trp、 f) 残基 1 2 7 にて Ala、 および g) 残基 1 2 7 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 2 2 1 にて T、 b) 該コーディング領域の塩基 2 2 6 にて A、 c) 該コーディング領域の塩基 8 3 にて T、 d) 該コーディング領域の塩基 9 5 にて A、 e) 該コーディング領域の塩基 2 9 2 にて T、 f) 該コーディング領域の塩基 3 7 9 にて G、 および g) 該コーディング領域の塩基 3 7 9 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 KCNE1 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 RNA se 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 KCNE1 ポリペプチドには結合するが、野生型 KCNE1 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 KCNE1 ポリペプチドが、

- a) 残基 7 4 に Leu、
- b) 残基 7 6 に Asn、
- c) 残基 2 8 に Leu、
- d) 残基 3 2 に His、
- e) 残基 9 8 に Trp、
- f) 残基 1 2 7 に Ala、または
- g) 残基 1 2 7 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 KCNE1 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】 Q T 延長症候群を引起す突然変異を含む単離された K C N E 1 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 L e u、
- b) 残基 76 にて A s n、
- c) 残基 28 にて L e u、
- d) 残基 32 にて H i s、
- e) 残基 98 にて T r p、
- f) 残基 127 にて A l a、または
- g) 残基 127 にて T h r

である該単離された K C N E 1 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】 K C N E 1 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 D N A 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 D N A 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 D N A 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】 K C N E 1 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ニングする方法であって、

a) 突然変異を持つ K C N E 1 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 K C N E 1 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 L e u、b) 残基 76 に A s n、c) 残基 28 に L e u、d) 残基 32 に H i s、e) 残基 98 に T r p、f) 残基 127 に A l a、または g) 残基 127 に T h r 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 K C N E 1 R N A 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 K V

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 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、該薬物不在で突然変異 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、より近いかより遠くない誘導 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 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 3 0】 a) 配列番号：3 のヌクレオチド 1 ないし 1 9 2 またはその相補体、b) 配列番号：3 の塩基 1 ないし 1 9 2 のいずれかの 1 5 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 1 9 2 のいずれかの 1 2 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 5 8 3 ないし 1 7 0 2 またはその相補体、e) 配列番号：3 の塩基 5 8 3 ないし 1 7 0 2 のいずれかの 1 5 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 5 8 3 ないし 1 7 0 2 のいずれかの 1 2 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 3 1】 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 7 4 にて S e r ではなくて L e u、

b) 残基 7 6 にて A s p でなくて A s n、

c) 残基 2 8 にて S e r ではなくて L e u、

d) 残基 3 2 にて A r g ではなくて H i s、

e) 残基 9 8 にて A r g ではなくて T r p、

f) 残基 1 2 7 にて P r o ではなくて A l a、または

g) 残基 1 2 7 にて P r o ではなくて T h r

を含む該細胞。

【請求項 3 2】 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 3 3】 非ヒト・トランスジェニック動物であって、野生型ヒト K C N E 1 および突然変異ヒト K V L Q T 1 を含む該動物。

【請求項 3 4】 非ヒト・トランスジェニック動物であって、突然変異ヒト K C N E 1 および野生型ヒト K V L Q T 1 を含む該動物。