

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) **公開特許公報** (A) (11)特許出願公開番号

特開2001 - 252086

(P2001 - 252086A)

(43)公開日 平成13年9月18日(2001.9.18)

(51) Int.Cl ⁷	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 1 2 N 15/09	ZNA		A 6 1 K 45/00	
A 6 1 K 45/00			A 6 1 P 3/04	
A 6 1 P 3/04				3/10
				9/14
				11/06

審査請求 未請求 請求項の数 10 O L (全 12数) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2001 - 10163(P2001 - 10163)

(22)出願日 平成13年1月18日(2001.1.18)

(31)優先権主張番号 0001005

(32)優先日 平成12年1月18日(2000.1.18)

(33)優先権主張国 イギリス(GB)

(71)出願人 391008951

アストラゼネカ・アクチエボラーグ

スウェーデン国エス - 15185セーデルテイエ

(番地なし)

(72)発明者 ジョン・クレイグ・スミス

イギリス、エスケイ10・4ティジャー、チェシ

ャー、マックルズフィールド、オルダリー

・パーク

(74)代理人 100062144

弁理士 青山 稔 (外 1 名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 方 法

(57)【要約】

【課題】 PDH E1 遺伝子中のアレレ変異の分析のための方法および材料、ならびに、ピルビン酸デヒドロゲナーゼ活性の調節が治療上有益となり得る疾病、例えば糖尿病、喘息、肥満、敗血症および末梢血管疾患の診断および治療におけるPDH E1 多型性の用途を提供すること。

【解決手段】 配列番号2中の位置により定義されるPDH E1 遺伝子の1388位、および/または配列番号1に定義されるPDH E1 遺伝子のイントロン7の26位および161位のうち1またはそれ以上の位置にあるヒトの核酸配列を決定し;そして、PDH E1 遺伝子中の多型性を参照することによりその人間の体質を決定することを含む、人間のPDH E1 遺伝子中の多型性の診断のための方法により解決される。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 配列番号2中の位置により定義されるPDH E1 遺伝子の1388位、および/または配列番号1に定義されるPDH E1 遺伝子のイントロン7の26位および161位のうち1またはそれ以上の位置にあるヒトの核酸配列を決定し；そして、PDH E1 遺伝子中の多型性を参照することによりその人間の体質を決定することを含む、人間のPDH E1 遺伝子中の多型性の診断のための方法。

【請求項2】 多型性がさらに以下のように定義される：

位置	参照	領域	多型性
26	配列番号1	イントロン7	(GGCCAA) _n
161	配列番号1	イントロン7	C/A
1388	配列番号2	3'UTR	C/T

、請求項1に記載の方法。

【請求項3】 以下のハプロタイプ：

位置	参照	領域	多型性
26	配列番号1	イントロン7	(GGCCAA) ₂
161	配列番号1	イントロン7	A

の診断を含む、請求項2に記載の方法。

【請求項4】 配列番号1で示される核酸またはこれに対して少なくとも85%ホモロジーな配列；またはその相補鎖またはそれに対するアンチセンス配列または26もしくは161のうち少なくとも一方の位置を含む少なくとも20塩基を有するそのフラグメントを含む核酸。

【請求項5】 配列番号2中の位置により定義されるPDH E1 遺伝子の1388位、および/または配列番号1中の位置により定義されるPDH E1 遺伝子のイントロン7の26位および161位のうち1またはそれ以上の位置にPDH E1 遺伝子多型性を検出することのできる、アレレ特異的プ
ライマー。

【請求項6】 配列番号2中の位置により定義されるPDH E1 遺伝子の1388位、および/または配列番号1中の位置により定義されるPDH E1 遺伝子のイントロン7の26位および161位のうち1またはそれ以上の位置にPDH E1 遺伝子多型性を検出することのできる、アレレ特異的オリゴヌクレオチドプローブ。

【請求項7】 連鎖研究の際の遺伝子マーカーとしての、請求項2に定義される任意の多型性の用途。

【請求項8】 配列番号2中の位置により定義されるPDH E1 遺伝子の1388位、および/または配列番号1中の位置により定義されるPDH E1 遺伝子のイントロン7の26位および161位のうち1またはそれ以上の位置に多型性を有すると診断された人間においてPDH仲介疾患を治療するための医薬の製造における、PDH薬の用途。

【請求項9】 生物情報科学的分析における、下記のもの：

- i) 請求項1または2に定義される任意の多型性；
- ii) 請求項3に定義されるハプロタイプ；
- iii) 請求項4に定義される核酸配列、のうち任意の一つ

の用途。

【請求項10】 相同性探索、マッピング、ハプロタイプ決定、遺伝子型決定または薬理遺伝学的分析から選ばれる生物情報科学的分析を含む、請求項9に記載の用途。

【発明の詳細な説明】

【0001】本発明は、ヒトピルビン酸デヒドロゲナーゼE1 (PDH E1) 遺伝子中の多型性および新規な配列に関するものである。本発明はさらに、PDH E1 遺伝子中のアレレ変異の分析のための方法および材料、ならびに、ピルビン酸デヒドロゲナーゼ活性の調節が治療上有益となり得る疾病、例えば糖尿病、喘息、肥満、敗血症および末梢血管疾患の診断および治療におけるPDH E1 多型性の用途に関するものである。

【0002】複雑な分子の生合成および筋収縮のためのエネルギーの産生は、アデノシン三リン酸(ATP)内部の高エネルギーリン酸結合の加水分解によって仲介される。酸化的代謝においてATPはアセチル補酵素A(アセチルCoA)から生成され、これ自身は脂肪酸の酸化によって、または解糖経路によるグルコースの代謝の結果として産生される。グルコースからのアセチルCoAの形成速度を制御する重要な調節酵素がピルビン酸デヒドロゲナーゼ(PDH)であって、これは、ピルビン酸からアセチルCoAおよび二酸化炭素への酸化および同時にNADからNADHへの還元を触媒する。

【0003】PDHは、ピルビン酸からアセチルCoAへの変換を完結させるのに要する3つの酵素成分の多数のコピーを含む、糸粒体基質に存在する多酵素複合体である(PatelおよびRoche, 1990; FASEB J., 4:3224-3233)。E1(ピルビン酸デカルボキシラーゼ、E.C.1.2.4.1)はピルビン酸からの二酸化炭素の不可逆的離脱を触媒し；E2(ジヒドロリポアミドアセチルトランスフェラーゼ、E.C.2.3.1.12)はアセチルCoAの生成を触媒し；そしてE3(ジヒドロリポアミドデヒドロゲナーゼ、E.C.1.8.1.4)はNADをNADHに還元する。E1酵素は2個のサブユニットおよび2個のサブユニットで構成されるヘテロ四量体である。E1により触媒されるピルビン酸の脱炭酸がPDH複合体の働き全体の律速工程である。この工程はまた、PDH活性を調節するための主要メカニズムの一つを形成するリン酸化および脱リン酸化のサイクルの標的でもある。PDH複合体はさらにもう2種類の酵素活性を持っている：3つのセリン残基の位置でE1をリン酸化することのできる特異的キナーゼ(PDK)、および、リン酸化を逆転させる、緩く結合した特異的ホスファターゼである。E1上の3つのセリン残基のうち1つがリン酸化されるだけでE1は不活性となる。特異的ホスファターゼによりリン酸基を除去すると、活性が復帰する。したがって、活性(脱リン酸化された)状態のPDHの割合は、キナーゼおよびホスファターゼの活性の均衡によって決定される。キナーゼの活性はインピボでは、NAD/NADH、CoA/アセチル

ルCoAおよびADP/ATPといった代謝基質の相対濃度によって、ならびにピルビン酸自身の利用可能性によって調節することができ、故に良好に調節された応答性のPDH活性の制御が可能となる。

【0004】PDH複合体の遺伝的異常は、人間の原発性乳酸アシドーシスの最も一般的な原因である。症例の大多数はE1 サブユニットの欠陥に連鎖している。PDH複合体中の欠陥に関連する病理は、新生児の致命的乳酸アシドーシスから中枢神経系の甚だしい構造異常を伴う慢性の神経変性状態の範囲に至る、広範な臨床スペクトルに従っている。E1 の欠損は、男性および女性の間で異なったパターンの臨床症状を示す、X連鎖疾患である。加えて、ヘテロ接合の女性は、主としてX-不活性化のパターンの多様性、ならびに突然変異蛋白の発現、安定性および活性に及ぼす特異的遺伝子突然変異の影響の相違のため、この疾患の臨床的重篤度に幅広い多様性を示す。ピルビン酸デヒドロゲナーゼ欠損につながるPDH遺伝子の幾つかの突然変異が報告されている（総説についてはNIH OMIMデータベース、参照番号312170を参照されたい）。

【0005】インシュリン非依存性糖尿病（NIDDM）およびインシュリン依存性糖尿病（IDDM）の両者のような疾病状態では、脂質の酸化が増加し、同時にグルコースの利用が低下して、高血糖に寄与する。インシュリン依存性およびインシュリン非依存性糖尿病のいずれにおいてもPDHの活性は低下する。PDH活性低下のさらなる帰結はピルビン酸濃度の増加であり、これは肝臓のグルコース新生の基質としての乳酸の利用性を増す結果となる。糖尿病はさらに、インシュリン分泌の障害によっても悪化し、これは、膵臓細胞におけるPDH活性の低下に関連していることが示されている。PDHの活性を増加させることはグルコースの酸化速度を増加させ、よって全体としてのグルコース利用を高め、加えて肝臓のグルコース排出量を低下させることになり得ると考えられる。

【0006】グルコースの酸化は、脂肪酸の酸化よりも多くの酸素1モル当たりATP分子を産むことができ、故に、エネルギー需要がエネルギー供給を上回るかも知れない状態、例えば心筋虚血および再灌流、間歇性跛行、脳虚血および再灌流の際に、基質利用のバランスをグルコース代謝の方向にシフトさせることは、ATPレベルを維持する能力、ひいては機能を改善すると期待することができる。PDHの活性化はこの効果を有すると予想される。

【0007】PDHを活性化できる物質は、循環している乳酸の過剰を示す状態、例えば或る種の敗血症の病態の治療に有益であると予想される。

【0008】動物への急性投与後にPDHの活性を増強するジクロロ酢酸物質（Vary等、1988；*Circ. Shock*, 24:3-18）は、血糖の低下（Stacpoole等、1978、*N. Engl. J. Med.*、298、526-530）ならびに心筋虚血（BersinおよびS

tacpoole、1997；*American Heart Journal*、134:841-855）および乳酸血症（Stacpoole等、1983、*N. Engl. J. Med.*、309、390-396）の治療に、予想された効果を有することが示されている。

【0009】PDH E1 をコードしているcDNA配列は、以下の受理番号：L13318、J02734、J03503、X52709、X52710、J03575、M24848、L48690、D90084、M58568の下に、公的データベースに提出されている。本明細書中のヒトPDH E1 遺伝子のコード化領域および3'非翻訳領域（3' UTR）中の全ての位置は、別途記載のない限り、または文脈上明白でない限り、配列番号2（これは出願時にはEMBL受理番号L13318であった）中の位置を意味している。

【0010】本発明において、本発明者等は、ヒトPDH E1 遺伝子のイントロン7の配列を開示する。本明細書中のヒトPDH E1 遺伝子のイントロン7中の全ての位置は、別途記載のない限り、または文脈上明白でない限り、配列番号1に開示した位置を意味している。

【0011】PDH E1 遺伝子の構造上の構成はMaragos C等、*J Biol Chem* 264、12294-12298、1989によって公表されている。この遺伝子はXp22.2-22.1に位置している（Borglum A.D.等、*Hum. Genet.*、99、80-82、1997）、Dahl等（1991）、*Hum Genet.*、87:49-53は、コード化領域の900位およびマイクロサテライト（CA）_n反復におけるサイレント多型性を公表している。

【0012】DNA多型性はアミノ酸配列の変異を導き、その結果、変化した蛋白構造および機能活性を導き得る。多型性はさらに、mRNA合成、成熟、移送および安定性にも影響を及ぼし得る。アミノ酸変化を惹起しない多型性（サイレント多型性）または既知のコンセンサス配列のいずれをも変化させない多型性は、それにも拘わらず例えばmRNAの折り畳みまたは安定性を変化させることによる生物学的効果を持っていることがある。

【0013】多型性の知識は、特定の医薬を用いた治療に最も適合した患者を同定するのを助けるために使用することができる（これをしばしば「薬理遺伝学」と称する）。薬理遺伝学はさらに、薬物選択プロセスを援助するため、医薬研究に使用することができる。多型性は、ヒトゲノムのマッピングの際に、そして疾病の遺伝的要素を解明するために使用することができる。薬理遺伝学および多型性検出のその他の用途に関する背景の詳細について、読者に以下の参考文献を示す：Linder等（1997）、*Clinical Chemistry*、43、254；Marchall（1997）、*Nature Biotechnology*、15、1249；国際特許出願W097/40462、Spectra Biomedical；およびSchafer等（1998）、*Nature Biotechnology*、16、33。

【0014】臨床試験は、医薬による治療に対する患者の反応がしばしば不均質であることを示している。したがって、薬剤の設計および治療に対して改善されたアプローチの必要性が存在する。

【0015】本発明は、ヒトPDH E1 遺伝子の3'非翻訳領域(3'UTR)中のヌクレオチド多型性の発見に基づくものである。さらに本発明者等は、ヒトPDH E1 遺伝子のイントロン7の配列を開示し、イントロン7内部の2つの多型性を同定している。

【0016】本発明の一つの態様に従うと、配列番号2中の位置により定義されるPDH E1 遺伝子の1388位、および/または配列番号1に定義されるPDH E1 遺伝子のイントロン7の26位および161位のうち1またはそれ以上の位置にあるヒトの核酸配列を決定し、そして、PDH E1 遺伝子中の多型性を参照することによりその人間の体質を決定することを含む、人間のPDH E1 遺伝子中の多型性の診断のための方法が提供される。

【0017】人間という語は、PDH仲介疾患を有するまたは有すると疑われる人間、および、係る疾患に対する素因または感受性を試験されるかも知れない無症候性の人間の両者を包含する。各々の位置において、その人間は或るアレレに関してホモ接合、またはヘテロ接合であり得る。

【0018】「PDH仲介疾患」という語は、PDHのレベルの変化またはPDHの活性の変化が治療の有益性を有するであろう任意の疾患を意味する。

【0019】「PDH薬」という語は、PDHのレベルを変化させまたはPDHの活性を変化させる任意の薬物を意味する。PDHの活性を増強する薬物が好ましい。

【0020】多型性という語は、単一のヌクレオチド置換、ヌクレオチド挿入およびヌクレオチド除去を包含し、挿入および除去の場合には、或る遺伝子の一つの位置における1またはそれ以上のヌクレオチドの挿入または除去、ならびに可変的な数の反復DNA配列の挿入または除去を包含する。

【0021】本発明の別の態様では、本明細書に記載する診断法は、好ましくは、配列番号2中の位置により定義されるPDH E1 遺伝子の1388位の単一ヌクレオチド多型性がCおよび/またはTの存在であるような方法であ

位置	参照	領域	多型性
26	配列番号1	イントロン7	(GGCCAA) _n
161	配列番号1	イントロン7	C/A
1388	配列番号2	3'UTR	C/T

【0027】本発明に係る好ましい方法は、以下のハプロタイプ₂の診断を含む：

位置	参照	領域	多型性
26	配列番号1	イントロン7	(GGCCAA) ₂
161	配列番号1	イントロン7	A

【0028】単一ヌクレオチドの多型性の診断方法は、好ましくは増幅不応突然変異系によって配列が決定される方法である。ヘキサヌクレオチド反復の診断方法は、好ましくはポリアクリルアミドゲル電気泳動または毛細管電気泳動によって配列が決定される方法である。

【0029】本発明の別の態様では、本発明者等は、PDH仲介疾患の診断方法を提供し、この方法は、

*る。

【0022】本発明の別の態様では、本明細書に記載する診断法は、好ましくは、配列番号1中の位置により定義されるPDH E1 遺伝子のイントロン7の26位の多型性がヘキサヌクレオチド反復(GGCCAA)_nの存在または不在であるような方法である。好ましくはn=0-100である。より好ましくはn=0-20である。より好ましくはn=1-10である。より好ましくはn=2、3または4である。配列番号1に示す配列においては、n=2である。調査された集団において最も一般的であったアレレはn=3であった(実施例1を参照されたい)。

【0023】本発明の別の態様では、本明細書に記載する診断法は、好ましくは、配列番号1中の位置により定義されるPDH E1 遺伝子のイントロン7の161位の単一ヌクレオチド多型性がCおよび/またはAの存在であるような方法である。

【0024】イントロン7の161位のAは、配列番号1中の位置により定義されるイントロン7の26位のヘキサヌクレオチド反復(GGCCAA)_n[式中、n=2である]と強い関連があることが判明した(実施例1を参照されたい)。

【0025】PDH E1 遺伝子のイントロン7中のヌクレオチド位置の番号付けは、配列番号1の配列により定義される26位のヘキサヌクレオチド反復の数にしたがって変わるということが、当業者には理解できるであろう。例えば、配列番号1において26位のヘキサヌクレオチド反復の数は2であり、よってイントロン7の単一ヌクレオチド多型性に対応する位置は161位である。ヘキサヌクレオチド反復の数が3である時は、イントロン7の単一ヌクレオチド多型性の対応位置は167となるであろう。ヘキサヌクレオチド反復の数が4である時は、イントロン7の単一ヌクレオチド多型性の対応位置は173となり、以下同様である。

【0026】好ましくは本発明に係る多型性は、さらに以下のように定義される：

- i) 個体から試料の核酸を取得し、
- ii) 配列番号2中の位置により定義されるPDH E1 遺伝子の1388位、および/または配列番号1中の位置により定義されるPDH E1 遺伝子のイントロン7の26および161位のうち1またはそれ以上の位置における変異体ヌクレオチドの存在または不在を検出し；そして、
- iii) PDH E1 遺伝子中の多型性を参照することによ

り、この個体の体質を決定する、ことを含む。

【0030】配列番号2中の位置により定義されるPDH E1 遺伝子の1388位のアレレの変異は、C(公表されている塩基)から、好ましくはTへの単一塩基置換で構成されている。配列番号1中の位置により定義されるPDH E1

遺伝子のイントロン7の26位のアレレの変異は、ヘキサヌクレオチド反復(GGCCAA)nの挿入で構成されている。好ましくはn=0-100である。より好ましくはn=0-20である。より好ましくはn=1-10である。より好ましくはn=2、3または4である。配列番号1中の位置により定義されるPDH E1 遺伝子のイントロン7の161位のアレレの変異は、C(配列番号1に示す塩基)からAへの単一塩基置換で構成されている。その個体の体質は、任意の1、2、3または4個全ての位置のアレレ変異を参考にして、所望によりこの遺伝子の既知の(または既知となる)その他の多型性を組み合わせて決定することができる。

【0031】核酸の被験試料は、血液、痰、皮膚、気管支肺胞洗浄液、または個体から得られるその他の体液または組織の試料中に存在しているのが簡便である。被験試料は、被験試料中の配列に対応する核酸配列を等しく含み得、換言すると試料核酸中の全てまたは一部の領域*

*を、アレレ変異の分析の前に、任意の簡便な技術、例えばPCRを用いて最初に増幅できるということが理解できるであろう。

【0032】本発明に係る1またはそれ以上の多型性位置に変異ヌクレオチドがあるか無いかを検出するために使用できる、数多くの分析法が存在するということが、当業者には明らかであろう。一般に、アレレ変異の検出は、突然変異判別技術、所望により増幅反応、そして所望によりシグナル生成系を必要とする。第1表は、幾つかの突然変異検出技術を列挙しており、幾つかはPCRを基礎としている。これらは幾つかのシグナル生成系と組み合わせで使用することができ、それらから選択したものを第2表に列挙する。さらなる増幅技術を第3表に掲げる。アレレ変異の検出のための多くの現行法が、Nollau等、Clin.Chem.、43、1114-1120、1997;および標準的教科書、例えば「突然変異検出のための研究室プロトコル」、U.Landegren編、Oxford University Press、1996および「PCR」、第2版、NewtonおよびGraham、BIOS Scientific Publishers Limited、1997に総説されている。

【0033】

略語:

ALEX (商標)	増幅不応突然変異系線状伸長
APEX	整列させたプライマー伸長
ARMS (商標)	増幅不応突然変異系
b-DNA	分枝DNA
CMC	化学的ミスマッチ開裂
bp	塩基対
COPS	競合的オリゴヌクレオチドプライミング系
DGGE	変性勾配ゲル電気泳動
FRET	蛍光共鳴エネルギー転移
IDDM	インシュリン依存性糖尿病
LCR	リガーゼ連鎖反応
MASDA	多アレレ特異的診断検定
NASBA	核酸配列に基づく増幅
NIDDM	インシュリン非依存性糖尿病
OLA	オリゴヌクレオチドライゲーション検定
PCR	ポリメラーゼ連鎖反応
PDH	ピルビン酸デヒドロゲナーゼ
PDK	ピルビン酸デヒドロゲナーゼキナーゼ
PDK2	ピルビン酸デヒドロゲナーゼキナーゼイソ酵素2
PTT	蛋白末端切除試験
RFLP	制限フラグメント長多型性
SDA	鎖置換増幅
SNP	単一ヌクレオチド多型性
SSCP	一本鎖コンホメーション多型性分析
SSR	自己持続複製
TGGE	温度勾配ゲル電気泳動
3'UTR	3'非翻訳領域

【0034】第1表 - 突然変異検出技術

50 一般: DNA配列決定、ハイブリダイゼーションによる配

列決定

スキャン：PTT*、SSCP、DGGE、TGGE、Cleavase、ヘテロ二本鎖分析、CMC、酵素的ミスマッチ開裂

*注：プロモーター多型性の検出には有用でない。

ハイブリダイゼーションは以下を基礎とする：

固相ハイブリダイゼーション：ドットプロット、MASD A、逆ドットプロット、オリゴヌクレオチドアレイ（DNAチップ）。

液相ハイブリダイゼーション：タックマン（商標）- US-5210015およびUS-5487972(Hoffmann-La Roche)、分子 10
ピーコン - Tyagi等(1996)、Nature Biotechnology、14、303；WO95/13399(Public Health Inst.、ニューヨーク)。

伸長は以下を基礎とする：ARMS(商標)、ALEX(商標) - 欧州特許第EP332435号B1(Zeneca Limited)、COPS - Gibbs等(1989)、Nucleic Acids Research、17、2347。

組み込みは以下を基礎とする：ミニ配列決定、APEX

制限酵素は以下を基礎とする：RFLP、制限部位生成PCR

ライゲーションは以下を基礎とする：OLA

その他：インベーター検定

【0035】第2表 - シグナル生成または検出系

蛍光：FRET、蛍光消光、蛍光分極 - 英国特許第2228998号(Zeneca Limited)

その他：化学ルミネセンス、電気化学ルミネセンス、ラマン、放射性、比色、ハイブリダイゼーション保護検定、質量分析。

【0036】第3表 - さらになる増幅法

SSR、NASBA、LCR、SDA、b-DNA

【0037】好ましい突然変異検出技術は、ARMS(商標)、ALEX(商標)、COPS、タックマン、分子ピーコン、R 30
FLP、制限部位に基づくPCRおよびFRET技術、ポリアクリルアミドゲル電気泳動および毛細管電気泳動を包含する。

【0038】特に好ましい方法は、ARMS(商標)およびRFLPに基づく方法、ポリアクリルアミドゲル電気泳動および毛細管電気泳動を包含する。ARMS(商標)、ポリアクリルアミドゲル電気泳動および毛細管電気泳動は特に好ましい方法である。

【0039】さらになる態様では、本発明に係る診断法を使用して、糖尿病、喘息、肥満、敗血症、および末梢血 40
管疾患といったようなPDH仲介疾患の治療において治療的化合物の有効性を評価する。

【0040】1またはそれ以上の上記多型性が転写レベルおよび/またはメッセージの安定性に影響するか否かを検出する検定、例えばリポーターに基づく検定を考案することができる。

【0041】故に、PDH E1 遺伝子の特定のアレレ変異体を持っている個体は、異なる生理条件の下で蛋白の合成を調節する能力に相違を示すかも知れず、そして相異なる疾病に反応する変化した能力を示すかも知れな 50

い。さらに、アレレ変異の結果生ずる蛋白調節における相違は、薬物療法に対する個体の応答に直接的影響を及ぼし得る。本発明に係る診断方法は、係る物質に対する臨床的応答の予測、および治療的用量の決定の両者に対して有用となり得る。

【0042】さらなる態様において、本発明に係る診断方法は、PDHにより仲介される疾病に対する個体の素因を評価するのに使用される。これは、糖尿病、喘息、肥満、敗血症、および末梢血管疾患ならびにPDHにより仲介されるその他の疾病の発現に特に関連がある。本発明は、これらの病態の発現のリスクが特に高い個体を認識するために使用することができる。

【0043】低頻度多型性は、後に記載するハプロタイプに対して特に有用となり得る。ハプロタイプとは、単一（父系または母系）の染色体上の連鎖した多型性部位（例えば一つの遺伝子内）に見出される一組のアレレである。この遺伝子内部での組換えが無作為であるならば、 2^n ものハプロタイプ [ここで 2 は各々の多型性位置におけるアレレの数であり、そして n は多型性位置の数 20

である]が存在し得る。臨床応答に相関している突然変異または多型性を同定する一つのアプローチは、関心の持たれる集団中で同定され得る全てのハプロタイプを使用して関連試験を実施することである。各ハプロタイプの頻度は最も稀なアレレの頻度によって制限を受け、その結果、低頻度のアレレを伴う多型性は低頻度のハプロタイプのマーカーとして特に有用である。有害または異常事象といったような或る臨床上的特徴に関連する特定の突然変異または多型性は、その集団の中で頻度が低い傾向があるため、低頻度多型性はこれらの突然変異の同定の際にとりわけ有用となり得る（例えば、De Stefano V等、Ann Hum Genet(1998)62:481-90；およびKeightley AM等、Blood(1999)93:4277-83）。

【0044】さらなる態様では、本発明に係る診断方法を、PDH E1 遺伝子の1またはそれ以上のアレレ変異体を選択的に標的とする新たな薬物療法の開発に使用する。特定のアレレ変異体と、疾病の発現に対する素因または薬物療法に対する応答との間のつながりを同定することは、新たな薬物の設計上、重要な影響力を有する。その疾病プロセスに関係する変異体の生物活性を調節し、一方ではその他の変異体に及ぼす影響を最小化する薬物を設計することができる。

【0045】本発明に係るさらなる診断的態様では、制限酵素により認識される、所望により改変を施された部位の喪失または獲得を参考にすることによって、変異体ヌクレオチドの存在または不在を検出する。

【0046】本発明の別の態様に従い、以下の多型性のうち任意の一つを含む核酸が提供される：配列番号1中の位置により定義される26位に（GGCCAA） n を有する、配列番号1の核酸 [ここで、好ましくは $n=0-100$ 、より好ましくは $n=0-20$ 、より好ましくは $n=1-10$ 、より好ましく

はn=2、3または4である]；配列番号1中の位置により定義される161位にCまたはAを有する、配列番号1の核酸；またはその相補鎖またはそれに対するアンチセンス鎖または少なくとも一つの多型性を含む少なくとも20の塩基を有するそのフラグメント。

【0047】本発明に係る核酸は、配列番号1で示される核酸またはこれに対して少なくとも85%の相同性を有する配列；またはその相補鎖またはそれに対するアンチセンス配列または26もしくは161位のうち少なくとも一方を含む少なくとも20塩基を有するそのフラグメントを

10 含んでいる。
【0048】フラグメントは少なくとも17塩基、より好ましくは少なくとも20塩基、より好ましくは少なくとも30塩基である。相同性はスミス-ウォーターマンアルゴリズムに従って測定する。

【0049】本発明の範囲は自然界に見出される任意の核酸にまで拡大されるものではない。本発明に係る核酸は、例えば天然に共存する物質があれば少なくとも部分的にそれから精製することによって、好ましくは分離された形態となっている。

【0050】本明細書に開示する新規な配列を、本発明に係る別の態様で使用して、アンチセンス組み立て物の使用により細胞中の遺伝子の発現を調節することができる。本発明に係る遺伝子の発現を哺乳動物細胞でダウンレギュレーションする方法を可能にするため、例示的アンチセンス発現組み立て物を、例えばpREP10ベクター (Invitrogen Corporation) を使用して、容易に組み立てることができる。転写物は、このタイプの組み立て物によりトランスフェクトされた細胞内での遺伝子の翻訳を阻害すると予想される。アンチセンス転写物は、天然

30 の遺伝子転写物の翻訳を阻害するのに有効であり、そして本明細書に記載した効果（例えば、組織生理の調節）を誘起することができる。本明細書に開示する新規な遺伝子mRNAの任意の部分と相補的であり、且つこれとハイブリダイズすることのできるオリゴヌクレオチドは、治療用途を期待できる。1997年6月17日登録の米国特許第5639595号、「新規な薬物および試薬の同定」は、インビボ活性を示すオリゴヌクレオチド配列の同定方法を詳述しているが、これを引用して本明細書の一部とする。既知のポリヌクレオチドから誘導したランダムオリゴヌクレオチド配列を含む発現ベクターを細胞中に導入する。次にこの細胞を、所望のオリゴヌクレオチドの活性に起因する表現型について検定する。所望の表現型を有する細胞が同定されたならば、所望の活性を有するオリゴヌクレオチドの配列を同定することができる。同定は、ベクターの回収またはポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) 増幅および挿入された核酸材料を含む領域の配列決定によって達成することができる。アンチセンス療法のためのアンチセンス分子を合成することができる。これらのアンチセンス分子は、DNA、モノチオ燐酸塩 (エステル) ま

50

たはメチルホスホン酸塩 (エステル) のようなDNAの安定な誘導体、RNA、2'-O-アルキルRNAのようなRNAの安定な誘導体、またはその他の擬似オリゴヌクレオチドであってよい。1997年7月29日登録の米国特許第5652355号、「ハイブリッドオリゴヌクレオチドモノチオ燐酸塩 (エステル)」、および1997年7月29日登録の米国特許第5652356号、「逆転したキメラおよびハイブリッドオリゴヌクレオチド」は、生理学的に安定なアンチセンス分子の合成および効果を記載しており、これらを引用して本明細書の一部とする。アンチセンス分子は、マイクロ注入、リポソームカプセル化またはそのアンチセンス配列を有するベクターからの発現によって、細胞中に導入することができる。

【0051】本発明はさらに、本発明に係る多型性を検出することのできるヌクレオチドプライマーを提供する。

【0052】本発明に係る別の態様に従い、配列番号2中の位置により定義されるPDH E1 遺伝子の1388位、および/または配列番号1中の位置により定義されるPDH E1 遺伝子のイントロン7の26および161位のうち1またはそれ以上の位置にPDH E1 遺伝子の多型性を検出できるアレレ特異的プライマーが提供される。

【0053】アレレ特異的プライマーは、ARMS (商標) 検定のための使用といったように、一般に、特定の配列位置で1個のアレレを選択的に増幅することによりアレレ間の判別を可能にする、不変プライマーと共に、PCR反応のような増幅反応において使用される。このアレレ特異的プライマーは、好ましくは17-50ヌクレオチド、より好ましくは約17-35ヌクレオチド、より好ましくは約17-30ヌクレオチドである。

【0054】アレレ特異的プライマーは、好ましくは検出すべきアレレと正確に対応しているが、3'末端の約6-8ヌクレオチドが検出すべきアレレに対応し、残りのヌクレオチドの10個まで、例えば8、6、4、2、または1個までが、そのプライマーの性質に有意な影響を及ぼすことなく変化している、それらの誘導体もまた意図される。

【0055】プライマーは任意の簡便な合成法を用いて製造することができる。このような方法の例は、標準的教科書、例えば「オリゴヌクレオチドおよび類似体のためのプロトコル；合成および性質」、Methods in Molecular Biology Series；20巻；Sudhir Agrawal編、Human a ISBN:0-89603-247-7；1993；第1版に見出すことができる。必要ならば検出を容易にするため、プライマーを標識することができる。

【0056】本発明に係る別の態様に従い、配列番号2中の位置により定義されるPDH E1 遺伝子の1388位、および/または配列番号1中の位置により定義されるPDH E1 遺伝子のイントロン7の26および161位のうち1またはそれ以上の位置にPDH E1 遺伝子の多型性を検出できる

アレレ特異的オリゴヌクレオチドプローブが提供される。

【0057】このアレレ特異的オリゴヌクレオチドプローブは、好ましくは17-50ヌクレオチド、より好ましくは約17-35ヌクレオチド、より好ましくは約17-30ヌクレオチドである。

【0058】このようなプローブの設計は、通常の知識を有する分子生物学者にとっては明らかであろう。このようなプローブは、任意の簡便な長さ、例えば50塩基まで、40塩基まで、より簡便には30塩基までの長さ、例えば8-25または8-15塩基長を有する。一般にこのようなプローブは、当該遺伝子中の対応する野生型または変異体の座に完全に相補的な塩基配列を含んでいるであろう。しかしながら、必要とあらば、オリゴヌクレオチドプローブの判別力に不都合な影響を及ぼさない限り、1またはそれ以上のミスマッチを導入することもできる。本発明に係るプローブは、検出を容易にするため1またはそれ以上の標識を含んでよい。

【0059】本発明に係る別の態様に従い、本発明に係るアレレ特異的オリゴヌクレオチドプローブおよび/または本発明に係るアレレ特異的プライマーを含む診断キットが提供される。

【0060】この診断キットは、本発明方法での使用のための適当な包装および説明を含むことができる。このようなキットはさらに、適当な緩衝剤、ヌクレオチド、およびポリメラーゼ、例えば熱安定性ポリメラーゼ、例えばtaqポリメラーゼを含むことができる。

【0061】本発明に係る別の態様では、本発明に係る任意の多型性またはハプロタイプを、連鎖研究の際の遺伝的マーカーとして使用することができる。

【0062】本発明に係る別の態様に従い、i) 人間のPDH E1 遺伝子中の多型性の診断であって、配列番号2中の位置により定義されるPDH E1 遺伝子の1388位、および/または配列番号1中の位置により定義されるPDH E1 遺伝子のイントロン7の26および161位のうち1またはそれ以上の位置にある核酸の配列を決定し、そしてPDH E1 遺伝子中の多型性を参照することにより、その人間の体質を決定することを含む診断；および、ii) PDH薬の有効量を投与すること、を含む、治療を必要とする人間をPDH薬で治療する方法が提供される。

【0063】好ましくは、その人間の体質の決定は、臨床上有用である。臨床的有用性の例は、どの薬物もしくは薬物群を投与するかという決定、および/または薬物もしくは薬物群の有効量の確立を包含する。

【0064】PDHの活性を増強する薬物は、グルコース利用の疾病、例えば糖尿病および肥満に関連する疾病状態、および敗血症の際に遭遇するような乳酸の過剰産生およびその他の乳酸血症の原因に関連する疾病状態を包含する、幾つかの疾病状態において価値がある。加えて、PDHの活性を増強する薬物は、例えば末梢血管疾

患、冠動脈不全および或種の心筋障害、筋運動失調および脱力のような、組織への高エネルギー基質の供給が制限されている疾病において用途を有すると期待され得る。

【0065】本発明に係る別の態様に従い、配列番号2中の位置により定義されるPDH E1 遺伝子の1388位、および/または配列番号1中の位置により定義されるPDH E1 遺伝子のイントロン7の26および161位のうち1またはそれ以上の位置に多型性を有すると診断された人間においてPDH仲介疾患を治療するための医薬を製造する際の、PDH薬の用途が提供される。

【0066】本発明に係る別の態様に従い、配列番号2中の位置により定義されるPDH E1 遺伝子の1388位、および/または配列番号1中の位置により定義されるPDH E1 遺伝子のイントロン7の26および161位のうち1またはそれ以上の位置にある多型性について診断のための試験を受ける人間に、当該薬物を投与するための、PDH薬および説明を含む医薬のパックが提供される。

【0067】配列番号1は、初めてヒトPDH E1 遺伝子のイントロン7の配列を明らかにするものである。

【0068】故に本発明の別の態様において本発明者等は、配列番号1に開示するPDH E1 のイントロン7の遺伝子配列を提供する。

【0069】本発明の別の態様において本発明者等は、PDH E1 のイントロン7のフラグメントを提供する。フラグメントとは、例えば約8-50塩基、例えば10-30塩基または15-35塩基を有するプローブまたはプライマーとして有用な短い配列で始まり、配列番号1で示される配列の全長までであってこれを包含する、例えば約50、100または150塩基のより長い配列に至る、相補的DNAおよびRNA配列を包含する遺伝子の隣接領域を意味する。PDH E1 イントロン7遺伝子のいかなる簡便なフラグメントも、さらなる研究、治療または診断目的のための有用な遺伝子フラグメントとなり得る。さらなる簡便なフラグメントは、その末端が、1またはそれ以上の種類の遺伝子配列の内部の制限部位によって定義されるものを包含する。

【0070】本発明の別の態様において本発明者等は、ヒトPDH E1 イントロン7遺伝子配列の相同体を提供する。相同体とは、配列番号1に開示するヒトPDH E1 イントロン7遺伝子配列と比較して85%以上、簡便には90%以上、例えば95%の配列相同性を示す、同じまたは別の種の対応遺伝子配列を意味する。個々の相同体の全配列は、ハイブリダイゼーション、PCRおよび配列決定技術といった簡便な技術を使用して、配列番号1に開示する配列の任意の簡便な部分から開始して決定することができる。

【0071】本発明の別の態様では本発明者等は、PDH E1 イントロン7遺伝子配列と特異的にハイブリダイズすることのできるポリヌクレオチド配列を提供する。特

異的にハイブリダイズするとは、そのポリヌクレオチドが緊縮条件下で配列番号1に開示する配列またはその相補的配列と、他の遺伝子座を除外してハイブリダイズすることを意味する。ペプチド核酸はポリヌクレオチドに対する許容可能な等価物であり得ると考えられる。

【0072】PDH E1 イントロン7の遺伝子配列についての知識は、例えばアンチセンスDNAまたはRNAの使用によってその活性をインピボで調節する能力を提供する。

【0073】故に、本発明に係る別の態様に従い、本発明者等は、配列番号1に示す、PDH E1 イントロン7のポリヌクレオチド配列に対し相補的なアンチセンスDNAまたはアンチセンスRNAを提供する。相補的とは、二つの分子が二重螺旋分子を形成する塩基対であり得ることを意味する。配列番号1中の遺伝子と協力するためのアンチセンスDNAまたはRNAは、上に記載のような常套的手段によって、標準的分子生物学的または化学的合成によって製造することができる。所望により、アンチセンスDNAまたはアンチセンスRNAを化学的に修飾して、インピボでの分解を防ぎ、または細胞膜の通過を容易にすることができ、本発明に係る組み立て物にまで拡大される。

【0074】本発明の別の態様に従い、コンピューターにより読み取り可能な媒体上に保存した、本発明に係る少なくとも1個の新規なポリヌクレオチド配列を含む、当該媒体が提供される。このコンピューター読み取り可能媒体は、例えば相同性探索、マッピング、ハプロタイプ決定、遺伝子型決定または薬理遺伝学的分析もしくは他の任意の生物情報科学的分析に使用することができる。生物情報科学、遺伝子および蛋白の分析への実用指針、A D BaxevanisおよびB F F Ouellette編、John Wiley & Sons、1998を参照されたい。任意のコンピューター読み取り可能媒体、例えばコンパクトディスク、テープ、フロッピー（登録商標）ディスク、ハードドライブまたはコンピューターチップを使用することができる。

【0075】本発明に係るポリヌクレオチド配列またはその一部、とりわけ本明細書に定義した多型性に関連しそしてこれを同定する配列は、例えばハプロタイプおよびその他のサブグループ分け、例えば特定の薬物による治療に対する感受性の調査の点で、個人を特徴付けるための、価値ある情報源である。これらのアプローチは、その配列情報をコンピューター読み取り可能媒体中に保存し、次いでこの情報を、標準的生物情報科学プログラム中で、または「GCC」のような現行の探索手段を用いて配列データベースを探索するために使用することにより、最も容易に促進される。したがって、本発明に係るポリヌクレオチド配列は、配列同一性およびその他の探索的分析のために有用なデータベース中の構成要素として特に有用である。本明細書中使用する、コンピューター読み取り可能媒体中への配列情報の保存、および、「本発明に係るポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチド配列」に関連する配列データベースにおける使用と

は、有形の媒体、例えば好ましくはコンピューターにより読み取り可能な形態の、コンピューターディスクに還元され、変換されまたはその中に保存され得る、本発明に係るポリヌクレオチドのいかなる検出可能な化学的または物理的性質をも包含する。例えば、クロマトグラフィースキャンデータまたはピークデータ、写真スキャンまたはピークデータ、質量分析データ、配列ゲル（またはその他の）データ。

【0076】本発明は、1またはそれ以上の本発明に係るポリヌクレオチド配列をそこに保存した、コンピューター読み取り可能媒体を提供する。例えば、本発明に係るポリヌクレオチドの配列を含むポリヌクレオチド、本発明に係るポリヌクレオチドで構成されるポリヌクレオチド、本発明に係るポリヌクレオチドの一部を含むポリヌクレオチド[ここで、一部とは、本発明に係る多型性の少なくとも一つを包含する]、一組のポリヌクレオチド配列[ここで、この組は、本発明に係るポリヌクレオチド配列の少なくとも1個を包含する]、本発明に係るポリヌクレオチド配列を含むまたはこれにより構成されるデータの組、または本明細書中で定義した多型性の少なくとも一つを含む、その一部分、より成る群から選ばれる構成員を含み且つそれを該媒体上に保存している、コンピューター読み取り可能媒体が提供される。

【0077】コンピューターに基づく配列同定を行うための方法がさらに提供され、この方法は、コンピューター読み取り可能媒体中に本発明に係る多型性を含むポリヌクレオチド配列を提供し；そして、この多型性含有ポリヌクレオチド配列を、少なくとも1個の他のポリヌクレオチドまたはポリペプチド配列と比較して、同一性（相同性）を同定する、即ち多型性の存在についてスクリーニングする工程を含むものである。

【0078】本発明に係る別の態様は、以下のもののうち任意の一つを、生物情報科学的分析に使用することである：

- i) 上記定義による任意の多型性；
- ii) 上記定義によるハプロタイプ；または、
- iii) 上記定義による新規な核酸配列。

好ましくは、この用途は相同性探索、マッピング、ハプロタイプ決定、遺伝子型決定または薬理遺伝学的分析から選ばれる生物情報科学的分析を含む。

【0079】ここで本発明を以下の実施例に言及することにより説明するが、これは限定的なものではない。温度は全て摂氏である。

【0080】下記の実施例において、別途記載のない限り、以下の方法論および材料を適用した。

【0081】Perkin-Elmer Cetusより入手可能なAMPLIT AQ（商標）またはAMPLIT AQ GOLD（商標）を熱安定性DNAポリメラーゼの原料として使用する。

【0082】一般的な分子生物学的手法は、「分子クローニング - 研究室マニュアル」第2版、Sambrook、Fri

tschおよびManiatis (Cold Spring Harbor Laboratory, 1989) に記載の任意の方法に従うことができる。

【0083】電気泳動図は標準的方法で取得した：データはABI377データ採集ソフトウェアにより採集し、波形はABI Prism (商標) 配列決定分析 (2.1.2) によって作製した。

【0084】実施例1

多型性の同定

1. 方法

cDNAの調製

標準的実験プロトコル (ChomczynskiおよびSacchi, Anal. Biochem., 162, 156-159, 1987) を用いて、白人ドナー由来のリンパ芽球セルラインからRNAを調製し、第一鎖cDNAの作成に使用した (GublerおよびHoffman, Gene, 25, 263-269, 1983)。

*【0085】DNAの調製

以下の改変を施したプロトコル (Molecular Cloning: A Laboratory Manual, p392, Sambrook, FritschおよびManiatis, 第2版, Cold Spring Harbor Press, 1989) に従い、同じリンパ芽球セルラインからDNAを調製した。試料を3回フェノール抽出するのではなく、フェノール、次いでフェノール/クロロホルム、そして次にクロロホルムで抽出した。DNAは脱イオン水に溶解した。

【0086】鑄型の調製

10 鑄型は、下に開示するオリゴヌクレオチドプライマーおよびアニーリング温度を用いてPCRによって調製した。伸長温度は72、変性温度は94であり、各工程は1分間であった。一般に、各反応においてcDNA 100pgまたはゲノムDNA 50ngを使用し、40サイクルのPCRに付した。

*【0087】

フラグメント	前進オリゴ	逆オリゴ	アニーリング温度	MgCl ₂
1-526	1-20	505-526	60°	
310-741	310-331	720-741	64°	
632-1111	632-653	1089-1111	62°	

【0088】色素 - プライマー配列決定のための、前進プライマーを、オリゴヌクレオチドの5'末端にM13前進配列を含むよう修飾した (ABIプロトコルP/N 402114, Applied Biosystems)。

【0089】色素プライマー配列決定936はゲノムDNAから調製した。M13前進プライマーを用いる色素 - プライマー配列決定は、「AmpliTaq FS」(商標) DNAポリメラーゼを伴うABI Prism (商標) 色素プライマーサイクル配列決定キットのためのABIプロトコルP/N 402114に記載の通りとし、アニーリング温度を45とし、そしてDMSOを最終

【0090】各塩基のための伸長反応をプールし、エタノール/酢酸ナトリウム沈澱させ、洗浄し、ホルムアミド再懸濁した。

【0091】自動シーケンサー (ABI377, Applied Biosystems) 上で4.25%アクリルアミドゲルを稼働させた。

【0092】

2. 結果

新規な多型性

位置	参照	領域	アレレ1	アレレ2	RFLP	頻度
161	配列番号1	イントロン7	C	A	無し	4
1388	配列番号2	3'UTR	C	T	無し	4/56

【0093】

頻度は配列番号中のアレレ2のアレレ1の頻度である

n=3 49/56

【0094】イントロン7の161位のAは、(GGCCAA)₂アレレを有する4/56の染色体上にもみ見られた。

【0095】配列番号1

ヒトPDH E1 遺伝子のイントロン7。26位の (GGCCAA) n で始まるヘキサヌクレオチド反復をn=2で示す。

GTAAGGACAC CTGTGGTGGG GCCGGGGCCA AGGCCAAGGG TATGTC

<110> AstraZeneca AB

CTTG TGCAGAGCT TGGGATCTT AGAACATTG GAGAGTTTCA T TCTCATACA GGAGCAGGTC ATGTGAAAGT AAAATGGTTT GGGGCAG TTG GATTCATGCT TCGCCCTCC CCTGTTTATT ACCAG

【0096】

【配列表】

Morten, John R

Smith, John C

Anand, Rakesh

<120> Methods

<130> PDH E1alpha

<140>

<141>

<160> 2

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 175

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 1

gtaaggacac ctgtggtggg gccggggcca aggc
caaggg tatgtccttg tcagaccct 60
tgacgatctt agaaacattg gagagtttca ttct
cataca ggagcaggtc atgtgaaagt 120
aaaatggttt ggggcagttg gattcatgct tcgc
ccctcc cctgtttatt accag 175

<210> 2

<211> 1472

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 2

actgaggcgt ggcgtctgct ggggcacctg aagg
agactt gggggcacc cgcctgtgcc 60
tcctgggttg tgaggagtgc ccgctgccgc cact
gcctgt gcttcatgag gaagatgctc 120
gccgccgtct cccgcgtgct gtctggcgt tctc
agaagc cggcaagcag atgctggta 180
gcatcccgt aatttgcaa tgatgtaca ttg
aaatta agaaatgta ccttaccgg 240
ctggaagaag gccctctgt cacaacagt ctca
ccaggg aggatgggct caatactac 300
aggatgatgc agactgtacg ccgaatggag ttga
aagcag atcagctgta taaacagaaa 360
attattcgtg gtttctgtca ctgtgtgat ggtc
aggaag cttgctgtgt gggcctggag 420
gccggcatca accccacaga ccatctcatc acag
cctacc gggctcacgg ctttactttc 480
acccggggcc tttccgtccg agaaattctc gcag
agctta caggacgaaa aggaggttgt 540
gctaaagga aaggaggatc gatgcacatg tatg
ccaaga acttctacgg gggcaatggc 600
atcgtgggag cgcaggtgcc cctgggcgt ggga
ttgctc tagcctgtaa gtataatgga 660
aaagatgag tctgcctgac tttatatggc gatg
gtgctg ctaaccaggg ccagatattc 720
gaagcttaca acatggcagc tttgtgaaa ttac
cttgta ttttcatctg tgagaataat 780
cgctatggaa tgggaacgtc tgttgagaga gcgg
cagcca gcactgatta ctacaagaga 840

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	FI	テ-マコード(参考)
A 6 1 P 11/06		C 1 2 Q 1/68	A
C 1 2 Q 1/68		G 0 1 N 33/53	D
G 0 1 N 33/53		33/566	
33/566		C 1 2 N 15/00	Z N A A
(72)発明者 ラケッシュ・アナンド イギリス、エスケイ10・4ティジャー、チェ シャー、マックルズフィールド、オルダリ ー・パーク		(72)発明者 ジョン・エドワード・ノリス・モーテン イギリス、エスケイ10・4ティジャー、チェ シャー、マックルズフィールド、オルダリ ー・パーク	

专利名称(译)	方法		
公开(公告)号	JP2001252086A	公开(公告)日	2001-09-18
申请号	JP2001010163	申请日	2001-01-18
[标]申请(专利权)人(译)	阿斯利康(瑞典)有限公司		
申请(专利权)人(译)	阿斯利康Akuchieboragu		
[标]发明人	ジョンクレイグスミス ラケッシュアナンド ジョンエドワードノリスモーテン		
发明人	ジョン・クレイグ・スミス ラケッシュ・アナンド ジョン・エドワード・ノリス・モーテン		
IPC分类号	G01N33/53 A61K45/00 A61P3/04 A61P3/10 A61P9/14 A61P11/06 C12N15/09 C12Q1/68 C12Q1/6883 G01N33/566		
CPC分类号	A61P11/06 C12Q1/6883 C12Q2600/156 C12Q2600/172		
FI分类号	A61K45/00 A61P3/04 A61P3/10 A61P9/14 A61P11/06 C12Q1/68.A G01N33/53.D G01N33/566 C12N15/00.ZNA.A C12N15/00.A C12N15/00.AZN.A C12Q1/6883.C C12Q1/6883.Z		
F-TERM分类号	4B024/AA11 4B024/BA08 4B024/CA09 4B024/HA14 4B063/QA17 4B063/QA19 4B063/QQ44 4B063/QR08 4B063/QR33 4B063/QR42 4B063/QR55 4B063/QS25 4B063/QS34 4B063/QX02 4C084/AA17 4C084/NA14 4C084/ZA592 4C084/ZA702 4C084/ZB112 4C084/ZB352 4C084/ZC352		
优先权	2000001005 2000-01-18 GB		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

分析PDHE1 α 基因等位基因突变，以及诊断和诊断丙酮酸脱氢酶活性调节可能对治疗有益的疾病的方法和材料，例如糖尿病，哮喘，肥胖症，败血症和周围血管疾病。提供PDHE1 α 多态性在治疗中的用途。解决方案：PDHE1 α 基因的位置1388由SEQ ID NO：2中的位置和/或SEQ ID NO：1中定义的PDHE1 α 基因的内含子7的位置26和161中的一个或多个定义 将人核酸序列定位在该位置；以及诊断人PDHE1 α 基因中的多态性，包括通过参考PDHE1 α 基因中的多态性来确定人的组成。有待解决。