

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2004-275115

(P2004-275115A)

(43) 公開日 平成16年10月7日(2004.10.7)

(51) Int. Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/09	C 1 2 N 15/00 Z N A A	4 B O 2 4
A 6 1 K 38/00	A 6 1 P 25/08	4 B O 6 3
A 6 1 P 25/08	A 6 1 P 43/00 1 1 1	4 C O 8 4
A 6 1 P 43/00	C O 7 K 14/47	4 H O 4 5
C O 7 K 14/47	C 1 2 Q 1/68 A	
審査請求 未請求 請求項の数 26 O L (全 59 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2003-72979 (P2003-72979)
 (22) 出願日 平成15年3月18日 (2003.3.18)

(71) 出願人 503359821
 独立行政法人理化学研究所
 埼玉県和光市広沢2番1号
 (71) 出願人 502302466
 国立療養所静岡神経医療センター院長
 静岡県静岡市漆山886
 (74) 代理人 100089705
 弁理士 社本 一夫
 (74) 代理人 100076691
 弁理士 増井 忠式
 (74) 代理人 100075270
 弁理士 小林 泰
 (74) 代理人 100080137
 弁理士 千葉 昭男

最終頁に続く

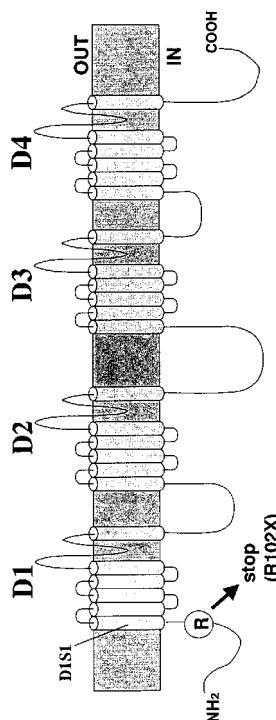
(54) 【発明の名称】 重篤な知的能力の退行を伴う難治小児てんかんにおける SCN2A 遺伝子の変異

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】本発明は重篤な知的能力の退行を伴う難治小児てんかんにおける SCN2A 遺伝子の疾患変異 (ミスセンス、ナンセンス、フレームシフト、スプライシングサイト変異など) の検出方法の提供。

【解決手段】本発明者らは77名の重症乳児ミオクロトーてんかん (SMEI) または非定型 SMEI と診断されたの患者のうちの、二次性全般化けいれん性発作を伴う難治症候性局在関連性てんかんの1名の患者の SCN2A 遺伝子において、R102Xを生じるナンセンス変異 (一塩基変異 (c.304C→T)) を見いだした。本発明は疾患変異 (ミスセンス、ナンセンス、フレームシフト、スプライシングサイト変異など) を有する SCN2A 遺伝子、およびそれを増幅するためのプライマーならびにプローブに関する。さらに、これらのプライマー及びプローブを用いた変異の検出方法を提供する。

【選択図】 図2



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ヒト S C N 2 A をコードする配列番号 1 の D N A 塩基配列において、疾患変異（ミスセンス、ナンセンス、フレームシフト、スプライシングサイト変異など）を有する、単離されたヒト S C N 2 A 遺伝子 D N A、またはその c D N A、もしくは対応する m R N A。

【請求項 2】

ヒト S C N 2 A をコードする配列番号 1 の D N A 塩基配列において、膜貫通セグメント D 1 S 1 の直前のアミノ酸をコードするコドンよりも上流側にナンセンス変異を有する、単離されたヒト S C N 2 A 遺伝子 D N A、またはその c D N A、もしくは対応する m R N A

10

【請求項 3】

ヒト S C N 2 A をコードする配列番号 1 の D N A 塩基配列において、10番目のアミノ酸から、膜貫通セグメント D 1 S 1 の直前のアミノ酸をコードする領域にナンセンス変異を有する、単離されたヒト S C N 2 A 遺伝子 D N A、またはその c D N A、もしくは対応する m R N A。

【請求項 4】

ヒト S C N 2 A をコードする配列番号 1 の D N A 塩基配列において、アルギニン 102 をコードするコドン（開始コドンからの位置 304 から 306）にナンセンス変異を有する、単離されたヒト S C N 2 A 遺伝子 D N A、またはその c D N A、もしくは対応する m R N A。

20

【請求項 5】

ナンセンス変異が、配列番号 1 の D N A 塩基配列中において位置 409（開始コドンから 304 番目の位置）のシトシンがチミンに置き換わる変異である、請求項 4 に記載の D N A、またはその c D N A、もしくは対応する m R N A。

【請求項 6】

請求項 1 ないし 5 に記載した D N A または c D N A の一部であって、疾患変異（ミスセンス、ナンセンス、フレームシフト、スプライシングサイト変異など）の上流側および下流側に対応するヒト S C N 2 A 遺伝子の領域をそれぞれ含む、連続した塩基配列またはその相補配列を有する一対の D N A 断片からなるプライマー対。

【請求項 7】

請求項 1 ないし 5 に記載した D N A または c D N A の一部の互いに重複しない塩基配列からなるプライマー対であって、疾患変異（ミスセンス、ナンセンス、フレームシフト、スプライシングサイト変異など）の領域を含むプライマーと、含まないプライマーの対。

30

【請求項 8】

各々が、10～100塩基の連続した塩基配列を有する一対の D N A 断片からなる請求項 6 または 7 に記載のプライマー対。

【請求項 9】

各々が、20～100塩基の連続した塩基配列を有する一対の D N A 断片からなる請求項 8 に記載のプライマー対。

【請求項 10】

それぞれ配列番号 2 および 3、配列番号 4 および 5、配列番号 6 および 7、配列番号 8 および 9、配列番号 10 および 11、配列番号 12 および 13、配列番号 14 および 15、配列番号 16 および 17、配列番号 18 および 19、配列番号 20 および 21、配列番号 22 および 23、配列番号 24 および 25、配列番号 26 および 27、配列番号 28 および 29、配列番号 30 および 31、配列番号 32 および 33、配列番号 34 および 35、配列番号 36 および 37、配列番号 38 および 39、配列番号 40 および 41、配列番号 42 および 43、配列番号 44 および 45、配列番号 46 および 47、配列番号 48 および 49、配列番号 50 および 51、配列番号 52 および 53、配列番号 54 および 55、配列番号 56 および 57、または、配列番号 58 および 59 の塩基配列を有する、請求項 6 に記載のプライマー対。

40

50

【請求項 1 1】

請求項 6 ないし 1 0 のいずれか一項に記載のプライマー対を構成する二つのプライマーのうち、いずれか一方のプライマー。

【請求項 1 2】

請求項 1 ないし 5 に記載の DNA の一部であって、ナンセンス変異の上流側の連続した 1 0 ~ 1 0 0 塩基からなる塩基配列であり、その 3 ' 末端が上記疾患変異（ミスセンス、ナンセンス、フレームシフト、スプライシングサイト変異など）に隣接した塩基である、プライマー。

【請求項 1 3】

請求項 1 ないし 5 に記載の c DNA の一部であって、ナンセンス変異の下流側に相当する 1 0 ~ 1 0 0 塩基からなる塩基配列であり、その 3 ' 末端が疾患変異（ミスセンス、ナンセンス、フレームシフト、スプライシングサイト変異など）に隣接した塩基である、プライマー。 10

【請求項 1 4】

請求項 1 ないし 5 に記載の DNA または c DNA、もしくは mRNA に含まれる、ヒト SCN2A の DNA 塩基配列における疾患変異（ミスセンス、ナンセンス、フレームシフト、スプライシングサイト変異など）を検出するためのプローブ。

【請求項 1 5】

請求項 1 ないし 5 に記載の DNA または c DNA の一部であって、疾患変異（ミスセンス、ナンセンス、フレームシフト、スプライシングサイト変異など）を含む領域の 1 0 ~ 1 0 0 塩基の連続した塩基配列、またはその相補配列からなる DNA 断片を含む、請求項 1 4 に記載のプローブ。 20

【請求項 1 6】

請求項 1 ないし 5 に記載の mRNA の一部であって、疾患変異（ミスセンス、ナンセンス、フレームシフト、スプライシングサイト変異など）を含む領域の 1 0 ~ 1 0 0 塩基の連続した塩基配列、またはその相補配列からなる RNA 断片を含む、請求項 1 4 に記載のプローブ。

【請求項 1 7】

重篤な知的能力の退行を伴う難治小児てんかんの素因を有する、または重篤な知的能力の退行を伴う難治小児てんかんであると思われるヒトの血液または組織試料から調製したゲノム DNA 抽出物または c DNA を用意し、 30

請求項 6、8、9 または 1 0 のいずれか 1 項に記載のプライマー対の 1 対ないし全部の対を用い、上記 DNA を鋳型として DNA の増幅を行い、

増幅した DNA の塩基配列を解析して、増幅した DNA が請求項 1 に記載の疾患変異（ミスセンス、ナンセンス、フレームシフト、スプライシングサイト変異など）を含むか否かを調べ、そして、

上記疾患変異（ミスセンス、ナンセンス、フレームシフト、スプライシングサイト変異など）が存在する場合は、当該ヒトの血液または組織試料に含まれる SCN2A 遺伝子に重篤な知的能力の退行を伴う難治小児てんかんに関連する変異が存在すると判断する方法。

【請求項 1 8】

重篤な知的能力の退行を伴う難治小児てんかんの素因を有する、または重篤な知的能力の退行を伴う難治小児てんかんであると思われるヒトの血液または組織試料から調製したゲノム DNA または c DNA を用意し、 40

必要なら該 DNA を増幅させ、

該ゲノム DNA または c DNA に請求項 1 2 または 1 3 に記載のプライマーを接触させ、ダイデオキシヌクレオシドを用いて 1 塩基のみ DNA を増幅し、

その増幅産物の質量分析により請求項 1 ないし 5 に記載の疾患変異（ミスセンス、ナンセンス、フレームシフト、スプライシングサイト変異など）の有無を判断し、

上記疾患変異（ミスセンス、ナンセンス、フレームシフト、スプライシングサイト変異など）が存在する場合は、当該ヒトの血液または組織試料に含まれる SCN2A 遺伝子に重 50

篤な知的能力の退行を伴う難治小児てんかんに関連する変異が存在すると判断する方法。

【請求項 19】

重篤な知的能力の退行を伴う難治小児てんかんの素因を有する、または重篤な知的能力の退行を伴う難治小児てんかんであると思われるヒトの血液または組織試料から調製したゲノムDNAまたはcDNAを用意し、

必要なら該DNAを増幅させ、

該ゲノムDNAまたはcDNAに請求項14ないし16のいずれか1項に記載のプロープが特異的にハイブリダイズするかどうか調べることを含む一塩基多型を検出する方法により、該ゲノムDNAまたはcDNA中の請求項1に記載の疾患変異（ミスセンス、ナンセンス、フレームシフト、スプライシングサイト変異など）の有無を検出し、

10

上記疾患変異（ミスセンス、ナンセンス、フレームシフト、スプライシングサイト変異など）が存在する場合は、当該ヒトの血液または組織試料に含まれるSCN2A遺伝子に重篤な知的能力の退行を伴う難治小児てんかんに関連する変異が存在すると判断する方法。

【請求項 20】

重篤な知的能力の退行を伴う難治小児てんかんの素因を有する、または重篤な知的能力の退行を伴う難治小児てんかんであると思われるヒトの血液または組織試料から調製したゲノムDNA抽出物またはcDNAを用意し、

請求項6から9のいずれか1項に記載のプライマー対の1対を用い、上記DNAを鋳型としてDNAを増幅を行い、

増幅したDNAの有無を判断して、

20

増幅DNA断片があれば、当該ヒトの血液または組織試料に含まれるSCN2A遺伝子に重篤な知的能力の退行を伴う難治小児てんかんに関連する疾患変異（ミスセンス、ナンセンス、フレームシフト、スプライシングサイト変異など）が存在すると判断する方法。

【請求項 21】

請求項6、8、9または10のいずれか1項に記載したプライマー対の1対ないし全部の対を含む、重篤な知的能力の退行を伴う難治小児てんかんの素因を有するか否かを配列解析により診断するためのキット。

【請求項 22】

請求項12または13に記載のプライマーを一つないし全部を含む、重篤な知的能力の退行を伴う難治小児てんかんの素因を有するか否かを質量分析法により診断するためのキット。

30

【請求項 23】

請求項14ないし16のいずれか1項に記載したプロープを一つないし全部を含む、重篤な知的能力の退行を伴う難治小児てんかんの素因を有するか否かを診断するためのキット。

【請求項 24】

請求項6から9のいずれか1項に記載したプライマー対の1対ないし全部の対を含む、重篤な知的能力の退行を伴う難治小児てんかんの素因を有するか否か増幅産物の有無により診断するためのキット。

【請求項 25】

請求項1ないし5に記載のナンセンス変異を有するヒトSCN2A遺伝子にコードされるタンパク質。

40

【請求項 26】

重篤な知的能力の退行を伴う難治小児てんかんの素因を有する、または重篤な知的能力の退行を伴う難治小児てんかんであると思われるヒトの血液または組織試料から調製したゲノムDNA抽出物またはcDNAを用意し、当該ヒトの血液または組織試料に含まれるSCN2A遺伝子に重篤な知的能力の退行を伴う難治小児てんかんに関連する変異を検出し診断する方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

50

【発明の属する技術分野】

本発明は、重篤な知的能力の退行を伴う難治小児てんかんにおける、神経の電位型ナトリウムチャンネルタイプII遺伝子(SCN2A)に生じる疾患変異(ミスセンス、ナンセンス、フレームシフト、スプライシングサイト変異など)、およびその変異を利用した重篤な知的能力の退行を伴う難治小児てんかんの診断に関する。

【0002】**【従来の技術】**

近年、熱性発作プラスを伴う全般性てんかん(GEFS+)、および、重症乳児ミオクロニーてんかん(SMEI)などの、様々なタイプのてんかんの患者および家族に多くの遺伝子異常が報告されており、それらの原因となる遺伝子のいくつかが明らかとなった。

10

【0003】

てんかんは特発性てんかんおよび症候性てんかんに分類される。これまでに同定された特発性てんかんの原因遺伝子のほとんどは、中枢神経システム(CNS)で発現するイオンチャンネル遺伝子をコードする。電位型ナトリウムチャンネル遺伝子はてんかんの原因となる遺伝子のグループの一つである。したがって、いくつかのタイプのてんかんは、神経チャンネル病の分類に含まれる。

【0004】

良性のてんかんであるGEFS+においては、神経系における電位型ナトリウムチャンネルタイプI遺伝子(SCN1A)、ナトリウムチャンネル1アクセサリサブユニット遺伝子(SCN1B)および神経系における電位型ナトリウムチャンネルタイプII遺伝子(SCN2A)にミスセンス変異が同定されている。Wallaceらは、GEFS+を患っている大家族における染色体19上のナトリウムチャンネル1アクセサリサブユニット遺伝子(SCN1B)のミスセンス変異を最初に同定した(たとえば、非特許文献1参照。)。この発見に続いて、Escaygrらは、GEFS+ファミリーの中における、染色体2上の電位型ナトリウムチャンネルサブユニット(Nav1.1)遺伝子(SCN1A)の接合体ミスセンス変異を同定した(例えば、非特許文献2参照。)

20

【0005】

本発明者らは以前に、GEFS+の患者の神経系の電位型ナトリウムチャンネルタイプII(Nav1.2)遺伝子であるSCN2Aのミスセンス変異について報告し、さらに細胞全体パッチクランプレコーディング(whole-cell patch clamp recordings)によってチャンネルの機能不全を明らかにした(例えば、非特許文献3参照。)

30

【0006】

一方、より重篤な難治のてんかんの一つであるSMEIにおいては最近、Claesらは、7人のSMEI患者においてSCN1Aの変異を同定した。これらの変異はヘテロ接合性で新規に発見されたものであった(4つのフレームシフト、1つのナンセンス、1つのスプライズドナー、および1つのミスセンス)(たとえば、非特許文献4参照。)。また、本発明者らは、何人かの日本人のSMEI患者においてSCN1A変異を同定し、それらのほとんどはナンセンス変異であった(たとえば、非特許文献5、非特許文献6、または特願02/236838参照。)。このように、SMEIの患者においては多くのSCN1Aのナンセンス変異が同定されている。このように、重症の難治性てんかんに関して、種々の原因が解明され、その治療指針も次第に確立されつつあるが、しかし、重篤な知的能力の退行を伴う難治小児てんかんには、SCN1Aの変異によっては説明できない症例、すなわち、典型的なSMEIに属さないと思われる症例が知られている。

40

【0007】

重篤な知的能力の退行を伴う難治小児てんかんは、難治の強直間代発作、に加えて運動失調および精神機能低下を伴うため、GEFS+に比べて症状が重篤であり、的確な診断により病状の経過を予測し、早期に治療計画を立てることが重要である。したがってその原因遺伝子における変異を同定することは、その変異の有無の検出により早期の診断を可能にする。また、原因遺伝子の変異から重篤な知的能力の退行を伴う難治小児てんかんの症

50

状を引き起こすメカニズムを解明できる可能性がある。したがって、SMEI以外の重篤な知的能力の退行を伴う難治小児てんかんの早期診断・治療のためにも、原因遺伝子の変異の同定が望まれている。

【0008】

【非特許文献1】

Wallace, R. H., et al., Febrile seizures and generalized epilepsy associated with a mutation in the Na⁺-channel beta1 subunit gene, Nat. Genet., 1998, 19(4), p. 366-370

10

【0009】

【非特許文献2】

Escayg, A., et al., Mutations of SCN1A, encoding a neuronal sodium channel, in two families with GFS+2., Nat. Genet., 2000, 24(4), p.343-345

【0010】

【非特許文献3】

Sugawara, T., et al., A missense mutation of the Na⁺ channel alpha II subunit gene Na(v)1.2 in a patient with febrile and afebrile seizures causes channel dysfunction., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2001, 98(11), p.6384-6389

20

【0011】

【非特許文献4】

Claes, L., et al., De novo mutations in the sodium-channel gene SCN1A cause severe re myoclonic epilepsy of infancy., Am. J. Hum. Genet., 2001, 68(6), p.1327-1332

30

【0012】

【非特許文献5】

Sugawara, T., et al., Frequent mutations of SCN1A in severe myoclonic epilepsy in infancy., Neurology, 2002, 58, p.1122-1124

【0013】

【非特許文献6】

Fujiwara, T., et al., Mutations of sodium channel alpha subunit type 1 (SCN1A) in intractable childhood epilepsies with frequent generalized tonic-clonic seizures., Brain, 2002, 126(3), p.531-546

40

【0014】

【非特許文献7】

Sugawara T., et al., Nav1.1 mutations cause febrile seizures associated with afebrile seizures. Neurology, 2001, 57, p.703-705

【0015】

50

【非特許文献 8】

I w a s a k i H . , e t a l . , D N A R e s . , 2 0 0 2 , 9 (2) , p . 5 9 - 6 2

【0016】

【非特許文献 9】

P l a n e l l s - C a s e s , R . , N e u r o n a l d e a t h a n d p e r i n a t a l l e t h a l i t y i n v o l t a g e - g a t e d s o d i u m c h a n n e l a l p h a (I I) - d e f i c i e n t m i c e , B i o p h y s . J . , 2 0 0 0 , 7 8 , p . 2 8 7 8 - 2 8 9 1

【0017】

【発明が解決しようとする課題】

本発明は、重篤な知的能力の退行を伴う難治小児てんかんの原因解明、診断および治療の可能性を探るため、上記てんかんにおける新規な遺伝子変異を突き止めることを目的とする。

【0018】

本発明はさらに重篤な知的能力の退行を伴う難治小児てんかんに伴う、変異遺伝子、該遺伝子同定に使用するプライマーおよびプローブ、それらを用いた変異の検出方法、さらに該方法に用いる診断用キットを提供する。

【0019】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは S M E I 非典型例と診断されていた患者の一人であり、精神発達遅滞を有する難治の症候性てんかんの患者から S C N 2 A の新規なナンセンス変異を同定した。

【0020】

すなわち、重症乳児ミオクロニーてんかん (S M E I)、非定型 S M E I または S M E I に類似した疾患であると診断されていた患者のうち、神経系におけるナトリウムチャンネルタイプ I タンパク質 (N a _v 1 . 1) をコードする遺伝子 (S C N 1 A) に変異を持たない患者において、神経系におけるナトリウムチャンネルタイプ I I タンパク質 (N a _v 1 . 2) をコードする遺伝子 (S C N 2 A) を分析したところ、S C N 2 A 遺伝子に一つのナンセンス変異が存在することを見いだした。S C N 2 A のナンセンス変異の同定は、従来例がなく、本発明が初めてである。この変異は、重篤な知的能力の退行を伴う難治小児てんかんの一つである二次性全般化けいれん発作を伴う症候性局在関連性てんかんと診断された、29歳の女性の患者の遺伝子から同定された。具体的には、この変異は、1塩基変異 (c . 3 0 4 C T : 3 0 4 は開始コドンから数えた位置、C はシトシン、T はチミンを示す。以下同様。) により遺伝子内終止コドン A r g 1 0 2 S t o p (A r g はアルギニンを、S t o p は終止コドンを示す。以降は R 1 0 2 X と表記する。) を生じるナンセンス変異であった。また、この変異はヘテロ接合体であることを確認した (図 1 参照) 。この患者においては S C N 2 A のナンセンス変異が遺伝子的原因となっていると推測される。

【0021】

上述のように、ナトリウムチャンネルタンパク質の遺伝子 S C N 1 A の「ナンセンス」変異は重篤なてんかんの原因であることが分かっている。今回、新たに重篤なてんかんの患者において、別のナトリウムチャンネルタンパク質の遺伝子 S C N 2 A に「ナンセンス」変異が見つかったことは、S C N 2 A においてもナンセンス変異が重篤なてんかんの原因となることを示す。

【0022】

したがって、本発明はヒトから単離および所望により増幅された D N A 、 c D N A または m R N A であって、S C N 2 A 遺伝子の塩基配列 (配列番号 1) 中のいずれかの領域において起こるナンセンス変異を有する、単離されたヒト S C N 2 A 遺伝子 D N A 、もしくはその c D N A 、または対応する m R N A を含む。

【0023】

10

20

30

40

50

本発明において発見されたSCN2AのR102Xナンセンス変異により、変異型の遺伝子からはN末端側の101アミノ酸からなる短いタンパク質が産生される。SCN2Aの102番目のアルギニンは最初の膜貫通セグメントD1S1よりもN末端側にあるため(図2参照)、変異型の遺伝子より産生される短いタンパク質は細胞質に可溶であると考えられる。ここで、SCN2Aナンセンス変異が最初の膜貫通セグメントD1S1よりも上流側に存在すれば、結果として産生される変異型タンパク質は細胞質に可溶性となるため、そのような変異による産物はナンセンス変異R102Xによる産物と同様の影響を及ぼす可能性が大きい。

【0024】

したがって本発明の一態様において、本発明はヒトから単離および所望により増幅されたDNA、cDNAまたはmRNAであって、SCN2A遺伝子の塩基配列(配列番号1)中における膜貫通セグメントD1S1の直前のアミノ酸をコードするコドンよりも上流側の領域にナンセンス変異を有する、単離されたヒトSCN2A遺伝子DNA、もしくはそのcDNA、または対応するmRNAを含む。ここで、膜貫通セグメントD1S1の直前のアミノ酸をコードするコドンよりも上流側の領域の変異とは、たとえば102番目からD1S1の直前のアミノ酸をコードする領域の変異であってよく、あるいは、10番目から101番目のアミノ酸をコードする領域、30番目から101番目のアミノ酸をコードする領域、50番目から101番目のアミノ酸をコードする領域、70番目から101番目のアミノ酸をコードする領域、または90番目から101番目のアミノ酸のいずれかをコードする領域の変異であってもよい。

【0025】

本発明のDNA、cDNAまたはmRNAの具体例は、SCN2A遺伝子の塩基配列(配列番号1)中においてアルギニン102をコードするコドン(開始コドンからの位置304から306)にナンセンス変異を有する、単離されたヒトSCN2A遺伝子DNA、もしくはそのcDNA、または対応するmRNAを含む。そのような変異の例は、開始コドンから304番目のシトシンがチミンに置き換わる変異である。

【0026】

本発明の別の態様において本発明はヒトから単離および増幅されたDNA、cDNA、またはmRNAであって、SCN2A遺伝子の塩基配列(配列番号1)中において、膜貫通セグメントD1S1以後のアミノ酸をコードするコドンのいずれかの領域にナンセンス変異を有する、単離されたヒトSCN2A遺伝子DNA、またはそのcDNA、もしくは対応するmRNAを含む。

【0027】

上記のヒトSCN2A遺伝子の変異情報に基づいて重篤な知的能力の退行を伴う難治小児てんかんの素因を持つ、または、発症中の発作が重篤な知的能力の退行を伴う難治小児てんかんであると思われる患者の診断を行うことができる。

SCN2A遺伝子の配列決定による変異解析

変異の有無を判断するための一方法として、被験者のSCN2A遺伝子を取り出し、その塩基配列を決定し、上記の変異のいずれかが含まれているか調べることが可能である。SCN2A遺伝子はたとえば、(非特許文献3)に記載された方法によって、ヒトの組織または血液から単離することができる。簡単に述べると、被験者のヘパリン処理した血液サンプルからゲノムDNAを抽出し、ゲノムDNAはPCRなどの適当な手段により増幅し、配列決定により解析する。PCRプライマーは、SCN2A遺伝子(GenBankアクセッションNo. M94055; 配列番号1)およびゲノム配列(BACクローンがカバーするコーディング領域; Research genetics)を比較することで同定したSCN2Aの26のエキソンの全てを増幅するように設計すればよい。このように、本発明の変異を含む領域を増幅できるように設計したプライマーは本発明に含まれる。具体的には、たとえば、配列番号2ないし59に示す塩基配列を有するプライマーからなるプライマー対が使用でき、これらもまた本発明に含まれる。PCR産物の塩基配列を解析してSCN2Aのナンセンス変異の有無を確認する。変異解析の方法は、たとえば、

非特許文献7に記載されている。ヒト組織からのゲノムDNAまたはcDNAの抽出、そのPCR増幅操作およびPCR産物の配列解析は、いずれも市販のキットおよび/または装置を用いて行うことができる。

【0028】

SCN2A遺伝子は患者の組織または血液からmRNAを抽出し、逆転写反応によりcDNAを調製してもよい。得られたcDNAは必要に応じてPCRなどにより増幅させ、配列解析に用いてもよい。

変異領域を増幅させるためのプライマー

重篤な知的能力の退行を伴う難治小児てんかんの診断は、上述のように被験者から単離したゲノムDNAを、配列番号2ないし59に示すプライマーを含むプライマーを用いて、本発明の変異の少なくとも一つを含む領域を増幅するプライマー対によって増幅し、PCR産物をクローニングしてSCN2Aの遺伝子の塩基配列を解析を行うことで、または、PCR産物を後述するプローブと結合させる方法などによって、本発明の変異の有無を調べることにより行うことができる。本発明は、本発明の変異を含む領域を増幅するためのプライマーを提供する。

10

【0029】

本発明のプライマーは、ヒトSCN2A遺伝子の領域であって、上記の変異の少なくとも一つの領域の上流側および下流側に対応するヒトSCN2A遺伝子の領域をそれぞれ含む、連続した塩基配列またはその相補配列を有する一对のDNA断片からなるプライマー対を含む。望ましくはこのプライマーの長さは、各々が10~100塩基の連続した塩基配列を有するDNA断片からなるプライマー対であり、さらに望ましくは20~100塩基の連続した塩基配列を有するDNA断片からなるプライマー対である。プライマーは必要により標識を結合させて用いてもよい。本発明のプライマーは、当業者に既知のホスホリアミダイト法などの核酸合成法により合成することができ、また、この操作は市販の核酸合成装置を用いて行うことも可能である。

20

【0030】

通常はプライマーは上記の変異を含む領域を挟んだ1対のDNA断片からなる。対の一方のプライマーが変異領域を含んでも、含まなくてもよい。プライマー対の一方が変異領域を含む場合、被験者のSCN2A遺伝子に変異が存在する場合にのみ、DNAが増幅されるようににすることができ、この方法によっても変異の検出が可能である(たとえば、非特許文献8参照)。

30

マススペクトルによる変異検出用のプライマー

上記の変異を有する領域を増幅するプライマーに加えて、本発明は変異をマススペクトルにより検出するためのプライマーも提供する。

【0031】

マススペクトルによる変異の検出法では、SNP部位に隣接するプライマー、すなわち、プライマーの3'末端がSNP部位の直前にあたる塩基であるものを、作成し、PCRなどによって増幅された変異を含む領域のDNAを鋳型として、ddNTPを用いて1塩基分だけプライマー伸長を行う。ddNTPは、通常のPCRで用いるヌクレオシドdNTPと異なり、リボースの3'水酸基が水素に置き換わっている。ddNTPを用いて伸長反応を行うと、1塩基付加された後は、伸長反応生成物には3'末端に水酸基がないため、それ以上の伸長反応は起こらない。その結果、伸長反応生成物はプライマーに1塩基付加したオリゴヌクレオチドとなる。生成物の質量分析により、付加したddNTPを識別し、変異の有無および変異の塩基を同定することができる。

40

【0032】

本発明のマススペクトルによる変異検出に用いてもよいプライマーは、ヒトSCN2A遺伝子の領域の塩基配列の一部であって、上記ナンセンス変異のうちの一つの上流側の連続した10~100塩基からなる塩基配列であり、3'末端が上記ナンセンス変異に隣接した塩基であるプライマーである。または、ヒトSCN2A遺伝子の領域の塩基配列の相補鎖の一部であって、上記ナンセンス変異のうちの一つの下流側に相当する10~100塩

50

基からなる塩基配列であって、3'末端が上記ナンセンス変異の部位に隣接した塩基であるプライマーである。望ましくはこれらのプライマーは10~50塩基からなる塩基配列であり、さらに望ましくは10~40塩基、さらに望ましくは10~20塩基である。

【0033】

本発明のマススペクトルによる変異検出に用いてもよいプライマーは、上記の遺伝子増幅用のプライマーと同様に合成し入手することができる。

プローブ

本発明は、上記のSCN2A遺伝子における疾患変異(ミスセンス、ナンセンス、フレームシフト、スプライシングサイト変異など)を検出するためのプローブも提供する。プローブはDNAであってもよく、またはRNAであってもよい。

10

【0034】

本発明の一つの態様において、本発明のプローブはヒトSCN2A遺伝子の領域のDNA配列またはそのcDNAの一部であって、本発明の疾患変異(ミスセンス、ナンセンス、フレームシフト、スプライシングサイト変異など)の一つを含む領域の10~100塩基、好ましくは20~100塩基の連続した塩基配列、またはその相補配列からなるDNA断片を含むプローブである。

【0035】

本発明の別の態様において、本発明のプローブはヒトSCN2A遺伝子のmRNAのRNA配列の一部であって、本発明の疾患変異(ミスセンス、ナンセンス、フレームシフト、スプライシングサイト変異など)の一つを含む領域の10~100塩基、好ましくは20~100塩基の連続した塩基配列、またはその相補配列からなるRNA断片を含むプローブである。

20

【0036】

本発明のプローブはSCN2A遺伝子またはその断片とのハイブリダイゼーションの確認を容易にする手段、たとえば蛍光ラベル、放射性同位体元素(RI)、およびビオチンなどによる標識を付してもよい。また、本発明のプローブには上記の配列の他のDNA配列を付加してもよく、付加するDNAの配列はSCN2A遺伝子配列とは関連がない、すなわち、該遺伝子との相同性がなくてもよい。

【0037】

さらに、プローブは、遺伝子チップの形式で適当な担体に付着させておくこともできる。または、プローブをビーズまたはマルチウェルプレート中の担体等に固定化しておくこともできる。

30

【0038】

本発明のプローブは、上述のプライマーと同様、ホスホロアミダイト法などの化学合成により調製でき、この操作は市販の核酸合成装置を用いて行うことができる。

【0039】

プローブおよびヒトSCN2A遺伝子またはその断片である試料DNAまたは試料RNAのハイブリダイゼーションの条件には、反応の特異性が保たれる限りは特別の制限はない。反応の特異性を保つためには、ハイブリダイゼーション条件のストリンジェンシーを調節して行う。

40

【0040】

ハイブリダイゼーション条件のストリンジェンシーは、塩強度、有機溶媒(例えば、ホルムアミド)、および、温度の条件によって変化させることができる。すなわち、塩強度を減じるか、有機溶媒濃度を増加させるか、またはハイブリダイゼーション温度を上昇させることによってストリンジェンシーは増大する。また、ストリンジェンシーはその他の条件によっても変化させることができる。すなわち、ハイブリダイゼーション時間、洗浄時間によっても変化させることができる。

【0041】

通常は、ハイブリダイゼーションの条件は低いストリンジェンシーでおこなうことで、ハイブリダイゼーションが確実に起こるようにする。その後の洗浄は、ストリンジェンシー

50

を増大させた条件でおこなうことで、特異性の低いものを解離させ、特異性の高いもののみがハイブリダイゼーションを保っていられるようにする。洗浄は、そのストリンジェンシーを増大させながら複数回繰り返すことが望ましい。ストリンジェンシーの最適条件の設定は、それぞれのプローブの特質により異なっており、このような条件設定は当業者が通常行っているものである。したがって、本発明のプローブを用いる方法において、そのプローブに最適のストリンジェンシーを設定し、これを使うことは、本発明の範囲内である。

【0042】

一つの好ましい態様としては、たとえば、750 mM NaCl、75 mMクエン酸ナトリウムを含むハイブリダイゼーション緩衝液中で、50以上の温度で一晩以上ハイブリダイゼーションを行う。ハイブリダイゼーションの条件は低いストリンジェンシーで行う。

10

【0043】

ハイブリダイゼーション後の洗浄は、塩強度の減少、温度の増大などハイブリダイゼーションの条件よりは高いストリンジェンシーで行う。たとえば、100 - 500 mM NaCl、10 - 50 mMクエン酸ナトリウムを含む洗浄緩衝液で室温以上で5 - 20分程度洗浄した後、さらに、10 - 100 mM NaCl、1 - 10 mMクエン酸ナトリウムを含む洗浄緩衝液を用いて50以上で10 - 30分程度洗浄する。

変異の検出方法

上述のヒトSCN2A遺伝子の変異を検出は、上記の本発明のプライマーおよびプローブを用いて、組織DNAのSNPsを検出する方法として当業者によく知られている方法で行うことができる。

20

【0044】

たとえば、上述したように、SCN2A遺伝子の本発明に記載した変異の領域の塩基配列を解析することで、変異の有無およびその塩基を同定することができる。

【0045】

PCR-SSCP法も利用可能である。PCR-SSCP法では、上記の変異を含む領域のDNAをPCR等の方法により増幅し、増幅産物を変性させて一本鎖DNAとして単離する。この一本鎖DNAをアニーリングした後、非変性ゲル電気泳動に供し、正常DNAとは異なるバンドが現れた場合に、そのサンプルには変異が存在すると判断するものである。これは、変異が導入されることで、ヌクレオチド分子内の水素結合の様式が変化し、正常DNAと変異DNAとは異なる三次元構造を取りうることに基づくものである。したがって、この方法では、変異の位置およびその塩基は同定できないが、何らかの変異の有無は知ることができる。

30

【0046】

PCR増幅産物の有無から変異を検出することもできる。用いたプライマーに対応する変異が試料中のSCN2A遺伝子に存在する場合にのみ、その変異領域のDNAを特異的に増幅するようにプライマーを設計することで行うことができる。このようなプライマーも本発明の範囲内である。

【0047】

上述したマスペクトルを用いた変異の検出方法により、得られたDNA断片の質量から変異の有無およびその塩基を同定してもよい。

40

変異DNA断片に特異的にハイブリダイズするプローブのハイブリダイゼーションの有無に基づいて検出することもできる。その場合のプローブは、蛍光標識、放射性標識、酵素標識などの適当な標識により、検出を容易にすることも可能である。また、プローブはDNAチップ上の担体に固定し、マイクロアレーとして用いることもできる。別の態様においては、プローブはビーズまたはマルチウェルプレート中の担体等に固定化してもよい。

【0048】

上記の例を含む、変異を検出する方法であって、本発明のプライマーまたはプローブを用いる方法は全て本発明の範囲内である。

50

診断

本発明の方法により変異を含むDNAの増幅が認められたときは、被験者に重篤な知的能力の退行を伴う難治小児てんかんの素因がある、または重篤な知的能力の退行を伴う難治小児てんかんであると診断する。

診断用キット

本発明は、上述の本発明のプライマー対の少なくとも一つ以上を含む、被験者が重篤な知的能力の退行を伴う難治小児てんかんであるか否かを診断するためのキットも提供する。このキットは、プライマー対の他に、組織または体液DNAの抽出手段、DNA希釈用緩衝液、反応容器、陽性対照サンプル、陰性対照サンプル、説明書、パッケージなどを適宜含んでよい。キットはさらに、DNA増幅のための試薬を含んでもよい。

10

【0049】

本発明は、上述の本発明のマススペクトルによる変異の分析に用いてもよいプライマーの少なくとも一つ以上を含む、被験者が重篤な知的能力の退行を伴う難治小児てんかんであるか否かを診断するためのキットも提供する。このキットは、プライマーの他に、組織または体液DNAの抽出手段、DNA増幅のための試薬、DNA希釈用緩衝液、反応容器、陽性対照サンプル、陰性対照サンプル、説明書、パッケージなどを適宜含んでよい。キットはさらに、マススペクトル測定用試薬（例えば、マトリックス）を含んでもよい。

【0050】

本発明は、上述の本発明のプローブの少なくとも一つ以上含む、被験者が重篤な知的能力の退行を伴う難治小児てんかんであるか否かを診断するためのキットも提供する。このキットは、プローブの他に、組織または体液DNAの抽出手段、DNA希釈用緩衝液、ハイブリダイゼーションに適切なストリンジェンシーの緩衝液、ハイブリダイゼーションに適切なストリンジェンシーの洗浄液、反応容器、陽性対照サンプル、陰性対照サンプル、説明書、パッケージなどを適宜含んでよい。一態様においては、プローブはマルチウェルプレート中の担体に固定化されていてもよい。

20

タンパク質

本発明のSCN2Aのミスセンス変異を含む遺伝子によりコードされる、不完全長N_α1、2のタンパク質も本発明の範囲に含まれる。このようなタンパク質は、イオンチャネルタンパク質の機能を制御する分子となり得る。さらに、重篤な知的能力の退行を伴う難治小児てんかんの症状の発生原因を突き止めることによる治療法の開発に貢献する。

30

抗体

重篤な知的能力の退行を伴う難治小児てんかんの診断は、重篤な知的能力の退行を伴う難治小児てんかん患者の変異したSCN2A遺伝子がコードする変異タンパク質またはその断片に特異的な抗体を用いて行うことが可能である。

【0051】

本発明の一態様として、抗体はポリクローナル抗体であってもよい。ポリクローナル抗体は、本発明のSCN2Aのナンセンス変異のいずれか1つを含むヒトSCN2A遺伝子DNAまたは当該変異を含むSCN2A遺伝子DNA断片がコードする、タンパク質またはペプチドを哺乳類動物に投与して免疫し、免役した動物の血液からの抗血清またはIgG画分として得られる。哺乳類動物の免疫方法、または血液からの抗血清の抽出方法およびIgG画分の分離の方法は当業者に周知である。

40

【0052】

本発明の望ましい態様では、抗体はモノクローナル抗体であってもよい。モノクローナル抗体は、本発明のSCN2Aの疾患変異（ミスセンス、ナンセンス、フレームシフト、スプライシングサイト変異など）のいずれか1つを含むヒトSCN2A遺伝子DNAまたは当該変異を含むSCN2A遺伝子DNA断片がコードする、タンパク質またはペプチドを哺乳類動物に投与して、該動物の抗体産生細胞を抽出し、該細胞をミエロマ細胞と融合させ、融合細胞から上記のいずれか一つの変異によるタンパク質またはペプチドに特異的な抗体を産生するハイブリドーマをクローニングし、得られたハイブリドーマを抗体産生条件で培養することにより製造できる。

50

【0053】

本発明の抗体を用い、免疫化学的検査法（例えば、ELISA（Enzyme linked immunosolvent assay）法、蛍光標識法、ラジオイムノアッセイ等）により患者の神経組織標本と特異的に反応するか否かに基づいて、患者が重篤な知的能力の退行を伴う難治小児てんかんの素因を有するか否か、または、てんかんの発作が重篤な知的能力の退行を伴う難治小児てんかんによるものであるか否かを診断することが可能である。

以下に、実施例を記載して本発明をより詳細に説明する。

【0054】

【実施例】

実施例1 SMEI患者のSCN1AおよびSCN2Aの変異解析

患者

重症乳児ミオクロニーてんかん（SMEI）、非定型SMEIまたはSMEIに類似した疾患であると臨床的に診断された77人のお互いに関連のない日本人患者を募った。参加した患者またはその保護者からは、それぞれ、国立療養所静岡神経医療センターの倫理審査委員会に承認された書面でのインフォームド・コンセントを得た。

【0055】

また、正常人100人についても同様にインフォームド・コンセントを得た。

変異解析

SCN1AおよびSCN2Aの変異解析方法は、発明者らの以前の論文に記載された方法により行った（非特許文献3、5）。簡単に述べると、患者および正常人のヘパリン処理した血液サンプルからゲノムDNAを市販の製品（QIAamp DNA Blood Midi Kit（商標）、キアゲン）を用いて抽出した。ゲノムDNAはPyrobest（商標）（TaKaRa、東京、日本）を用いてPCRにより増幅し、配列決定により解析した。

【0056】

SCN1Aの変異を配列決定により解析するためにSCN1A遺伝子の増幅に用いたPCRプライマーは、特願02/236838に記載のプライマーである。簡単に述べると、SCN1A遺伝子（GenBankアクセッションNo. AY043484）およびゲノム配列（GenBankアクセッションNos. AC010127およびAC021673）を比較することで同定したSCN1Aの26のコーディングエキソンのすべてを増幅するように設計したプライマーである。SCN2Aの変異を解析するために用いたPCRプライマーは、SCN2A遺伝子（GenBankアクセッションNo. M94055）およびゲノム配列（BACクローンがカバーするコーディング領域；Research genetics）を比較することで同定したSCN2Aの26のエキソン、のすべてを増幅するように設計した。SCN2Aのエキソンを増幅するために用いたプライマーの塩基配列は配列番号2ないし59に示した。患者および正常人からのそれぞれのPCR産物はダイデオキシ・ターミネーター・キットを用いて直接配列決定をし、自動シーケンサー（モデルABI3700、アプライドバイオシステムズ、ニュージャージー州、米国）で解析した。

【0057】

結果

非定型のSMEI患者においては、以前よりSCN1Aの変異が多く発見されていたので、最初にSCN1Aの変異を解析した。77人のSMEIまたは非定型のSMEI患者からのSCN1Aの26のエキシソンの完全な配列決定の後、それらのSCN1Aコーディング領域に全く変異のなかった27人の患者をさらなるSCN2Aの変異の解析のために選抜した。これらのサンプルのうちの一つに、発明者らは1塩基変異（c.304C→T）により遺伝子内終止コドンR102Xを生じるナンセンス変異を発見した。

実施例2 ヘテロ接合体変異の確認

患者

10

20

30

40

50

実施例 1 において、SCN2A にナンセンス変異が認められた患者は、29 歳の女性である。その患者の家族の病歴およびその患者自身の症状は以下の通りである。その患者の母親はいくつかの熱性けいれんを 6 歳まで患っていた。その患者の兄(弟)の息子は 2 歳で熱性けいれんを患った。その患者は同様の病歴がなく、精神運動性の発達は、2 歳で運動過剰症および自閉症になるまでは正常であった。

【0058】

発作は、1 歳 7 ヶ月の時に顕れた。その患者は 1 日に何度か突然に前に倒れた。その患者はフェノバルビタールを服用し始め、そして間もなく発作はなくなった。薬物療法は 4 歳 5 ヶ月の時に中断した。脳波は、最初は遅い波のみを示したが、3 年後にはスパイク活性が現れ、そして増加したことが報告された。6 歳の時、主に睡眠中にけいれん性の発作が発症し、そして週に 1 - 2 度、しばしば群をなして繰り返した。発作の前に、頭が左前方にいく偏向運動、または、左上肢の間代性の運動が起こった。そして薬物療法が再開されたが、投薬量が増えると、その患者は無感情な表情(放心様の発作)の短時間の症状を断続的に示し、および手の短時間の筋弛緩の症状により、手にあったものを落としてしまうようになった。そのとき、脳波図(EEG)は、頻繁な左右対称の鋭い波、または、中心部 - 頭頂部 - 側頭部において最大振幅のスパイク波を示した。

10

【0059】

10 歳で発明者らの所属する病院に入院したときには、脳波図(EEG)でスパイク波の放出に付随して、上肢の筋弛緩が頻繁にみられた。頭は前方に傾き、その患者は手を垂れた。これらの弛緩性の運動は、多剤投与(カルバマゼピン(carbamazepin)を含む 5 種類の薬剤)をバルプロ酸(valproate)単一薬剤療法に切り替えると生じなくなった。そして脳波図(EEG)は大きく改善された: 左右対称性の放出が消え、そして右側の中心部 - 頭頂部 - 側頭部における鋭い波のみが観察された。しかしながら、発作時の脳波図(EEG)記録による脳の一部分の始まりで示されるけいれん性の発作は、さまざまな治療法の試みにも関わらず、治療が困難であり、そしてその患者はなお、週ごとのけいれんを起こしていた。発作を誘発するどんな要因も見つからなかった。

20

【0060】

神経学的な異常はなかったが、その患者は重度の知的および精神運動発達の遅滞があった。MRI は中程度の広汎性の脳萎縮を示した。てんかんの診断は重篤な知的能力の退行を伴う難治小児てんかんの一つである、二次性全般化けいれん発作を伴う症候性局在関連性てんかんである。その患者は現在保護作業所に参加している。

30

【0061】

サブクローニングと変異解析

患者のゲノム DNA は実施例 1 と同様に調製し、配列番号 3 および 4 に示したプライマーを用いて PCR により増幅した。PCR 産物は TOPO TA cloning (登録商標) を用いて pCR 2.1 (登録商標) vecto-TOPO (登録商標) (Invitrogen Co., カールスバッド、カリフォルニア州、米国) にサブクローニングし、37 の PCR 陽性コロニーを選抜した。PCR 陽性コロニーは、エキソン 2 特異的プライマー (5' - GAAGCATCTATCTTCAATGTC - 3' (配列番号 3) および 5' - GCTAACGATTGAGTAAAGG - 3' (配列番号 4)) により PCR 増幅性を確かめて選抜した。それぞれのコロニーからのプラスミドクローンは M13 forward (5' - TTGTAACAACGACGGCCAG) および reverse (5' - ACACAGGAACAAGCTATG) プライマーを用いて挿入配列を解析した。プラスミドクローンの挿入配列を解析することで、それぞれの対立遺伝子の配列を解析した。

40

【0062】

結果

配列解析した 37 クローンのうち 15 は R102X のナンセンス変異を示した(図 1)。この結果から、この患者のヘテロ接合性が示された。

【0063】

50

この変異は100人の正常対照群にはみられなかった。また、この患者の両親はSCN2Aのコーディング領域に変異を持たなかった。

図2にこのSCN2Aの変異の位置を図示する。変異残基R102XはN末端の間に位置し、SCN2AがコードするNav1.2の第1の膜貫通セグメントD1S1にも届かない位置である。

【0064】

考察

R102Xナンセンス変異により生体内では、101アミノ酸のみからなる切りつめられた形のタンパク質を産生すると考えられる。上記のように、Arg102はSCN2AがコードするNav1.2の第1の膜貫通セグメントD1S1よりもN末端側にあるため、変異型の遺伝子産物である切りつめられた形のタンパク質は、細胞内N末端側の短い形であるといえる。したがって、この変異型のタンパク質は細胞質に可溶であり、そして、電位型ナトリウムチャネルとしての機能を持たないはずである。この患者はヘテロ接合体変異であることから、単純にはSCN2Aの機能は50%損失するものと推測できる。

【0065】

しかしながら、マウスにおける研究では、SCN2A欠損ヘテロ接合体(+/-、ホモ接合体は致命的であった)マウスには、脳における重大な病理学上の変化、重大な行動異常、およびけいれんはみられなかった(たとえば、非特許文献9参照)。それにも関わらず、SCN2AのR102Xナンセンス変異の患者は、頻繁に起こるけいれん発作を伴う重症のタイプのてんかんであり、中程度の広汎性脳萎縮がみられた。ヒトにおけるNav1.2のナンセンス変異のヘテロ接合性と、+/-マウスとは同等の関係にないのかもしれない。しかしながら、ナンセンス変異のヘテロ接合性においては、SCN2Aの50%機能損失の影響以外の作用、すなわち、変異タンパク質の優性阻害効果により、けいれん発作と萎縮をともなう重症のてんかんを引き起こす可能性が浮かび上がる。

【0066】

実際に、R102Xナンセンス変異による変異型Nav1.2を発現するヒト培養細胞の電気生理学的な性質を評価したところ、このタンパク質はナトリウムチャネルとしての機能は持たないことがわかった。さらに、この変異型タンパク質を天然型タンパク質とを同時に発現するヒト培養細胞においては、SCN2Aの機能は50%の低下ではなく、80%の低下を示し、変異型タンパク質に優性阻害効果があるという結果が認められた。したがって、ナンセンス変異による産物はイオンチャネルとして機能しないばかりでなく、天然型の機能を低減させる効果を有すると考えられる。

【0067】

また、これまでに良性のてんかんであるGEFS+患者においては、SCN1AおよびSCN2A遺伝子にミスセンス変異が見いだされてきた。一方で重篤な難治性のてんかんであるSMEIにおいてはSCN1Aに多くのナンセンス変異が同定されてきた。これは、イオンチャネルにおけるナンセンス変異はより重篤なてんかんを引き起こす傾向を示唆するものと考えられる。したがって、SCN2A全領域においても、ナンセンス変異の存在は難治てんかんの原因となると示唆される。

【0068】

【発明の効果】

本発明は、重篤な知的能力の退行を伴う難治小児てんかんの原因である新たな遺伝子変異を突き止め、この難病の診断ならびに新治療法の開発に貢献する。また、本発明は、重篤な知的能力の退行を伴う難治小児てんかんの分子病理学的な原因解明のためのNav1.2(電位型ナトリウムチャネルタイプII型)および変異型(短縮型)Nav1.2の機能および動物モデルによる研究の突破口になると期待される。

【0069】

【配列表】

10

20

30

40

SEQUENCE LISTING

- <110> RIKEN
Shizuoka Medical Institute of Neurological Disorders
- <120> Mutation of SCN2A gene in febrile induced intractable epilepsy
- <130> R-606-11 10
- <160> 59
- <210> 1
<211> 6328
<212> DNA
<213> Homo sapiens 20
- <220>
<221> source
<222> 1..6328
<223> /organism="Homo sapiens"
/db_xref="taxon:9606"
/chromosome="2q23-24.3" 30
/tissue_type="brain"
- <220>
<221> 5' UTR
<222> 1..105

<220>

<221> CDS

<222> 106..6123

<223> /codon_start=1
 /product="voltage-gated sodium channel"
 /protein_id="AAA18895.1"
 /db_xref="GI:457879"

10

<220>

<221> 3' UTR

<222> 6124..6328

<308> GenBank accession No. M94055

20

<400> 1

ttcttgggtgc cagcttatca atcccaaact ctgggtgtaa aagattctac agggcacttt 60

cttatgcaag gagctaaaca gtgattaaag gaggcaggatg aaaag atg gca cag tca 117

Met Ala Gln Ser

30

1

gtg ctg gta ccg cca gga cct gac agc ttc cgc ttc ttt acc agg gaa 165

Val Leu Val Pro Pro Gly Pro Asp Ser Phe Arg Phe Phe Thr Arg Glu

5 10 15 20

tcc ctt gct gct att gaa caa cgc att gca gaa gag aaa gct aag aga 213

40

Ser Leu Ala Ala Ile Glu Gln Arg Ile Ala Glu Glu Lys Ala Lys Arg

25	30	35		
ccc aaa cag gaa cgc aag gat gag gat gat gaa aat ggc cca aag cca			261	
Pro Lys Gln Glu Arg Lys Asp Glu Asp Asp Glu Asn Gly Pro Lys Pro				
40	45	50		
aac agt gac ttg gaa gca gga aaa tct ctt cca ttt att tat gga gac			309	10
Asn Ser Asp Leu Glu Ala Gly Lys Ser Leu Pro Phe Ile Tyr Gly Asp				
55	60	65		
att cct cca gag atg gtg tca gtg ccc ctg gag gat ctg gac ccc tac			357	
Ile Pro Pro Glu Met Val Ser Val Pro Leu Glu Asp Leu Asp Pro Tyr				
70	75	80		20
tat atc aat aag aaa acg ttt ata gta ttg aat aaa ggg aaa gca atc			405	
Tyr Ile Asn Lys Lys Thr Phe Ile Val Leu Asn Lys Gly Lys Ala Ile				
85	90	95	100	
ict cga ttc agt gcc acc cct gcc ctt tac att tta act ccc ttc aac			453	
Ser Arg Phe Ser Ala Thr Pro Ala Leu Tyr Ile Leu Thr Pro Phe Asn				
105	110	115		30
cct att aga aaa tta gct att aag att ttg gta cat tct tta ttc aat			501	
Pro Ile Arg Lys Leu Ala Ile Lys Ile Leu Val His Ser Leu Phe Asn				
120	125	130		
atg ctc att atg tgc acg att ctt acc aac tgt gta ttt atg acc atg			549	
Met Leu Ile Met Cys Thr Ile Leu Thr Asn Cys Val Phe Met Thr Met				40
135	140	145		

agt aac cct cca gac tgg aca aag aat gtg gag tat acc ttt aca gga	597	
Ser Asn Pro Pro Asp trp Thr Lys Asn Val Glu Tyr Thr Phe Thr Gly		
150 155 160		
att tat act ttt gaa tca ctt att aaa ata ctt gca agg ggc ttt tgt	645	
Ile Tyr Thr Phe Glu Ser Leu Ile Lys Ile Leu Ala Arg Gly Phe Cys		10
165 170 175 180		
tta gaa gat ttc aca ttt tta cgg gat cca tgg aat tgg ttg gat ttc	693	
Leu Glu Asp Phe Thr Phe Leu Arg Asp Pro trp Asn trp Leu Asp Phe		
185 190 195		
aca gtc att act ttt gca tat gtg aca gag ttt gtg gac ctg ggc aat	741	20
Thr Val Ile Thr Phe Ala Tyr Val Thr Glu Phe Val Asp Leu Gly Asn		
200 205 210		
gtc tca gcg ttg aga aca ttc aga gtt ctc cga gca ttg aaa aca att	789	
Val Ser Ala Leu Arg Thr Phe Arg Val Leu Arg Ala Leu Lys Thr Ile		
215 220 225		30
tca gtc att cca ggc ctg aag acc att gtg ggg gcc ctg atc cag tca	837	
Ser Val Ile Pro Gly Leu Lys Thr Ile Val Gly Ala Leu Ile Gln Ser		
230 235 240		
gtg aag aag ctt tct gat gtc atg atc ttg act gtg ttc tgt cta agc	885	
Val Lys Lys Leu Ser Asp Val Met Ile Leu Thr Val Phe Cys Leu Ser		
245 250 255 260		40

gtg ttt gcg cta ata gga ttg cag ttg ttc atg ggc aac cta cga aat 933
 Val Phe Ala Leu Ile Gly Leu Gln Leu Phe Met Gly Asn Leu Arg Asn
 265 270 275

aaa tgt ttg caa tgg cct cca gat aat tct tcc ttt gaa ata aat atc 981
 Lys Cys Leu Gln trp Pro Pro Asp Asn Ser Ser Phe Glu Ile Asn Ile
 280 285 290

10

act tcc ttc ttt aac aat tca ttg gat ggg aat ggt act act ttc aat 1029
 Thr Ser Phe Phe Asn Asn Ser Leu Asp Gly Asn Gly Thr Thr Phe Asn
 295 300 305

agg aca gtg agc ata ttt aac tgg gat gaa tat att gag gat aaa agt 1077
 Arg Thr Val Ser Ile Phe Asn trp Asp Glu Tyr Ile Glu Asp Lys Ser
 310 315 320

20

cac ttt tat ttt tta gag ggg caa aat gat gct ctg ctt tgt ggc aac 1125
 His Phe Tyr Phe Leu Glu Gly Gln Asn Asp Ala Leu Leu Cys Gly Asn
 325 330 335 340

agc tca gat gca ggc cag tgt cct gaa gga tac atc tgt gtg aag gct 1173
 Ser Ser Asp Ala Gly Gln Cys Pro Glu Gly Tyr Ile Cys Val Lys Ala
 345 350 355

30

ggt aga aac ccc aac tat ggc tac acg agc ttt gac acc ttt agt tgg 1221
 Gly Arg Asn Pro Asn Tyr Gly Tyr Thr Ser Phe Asp Thr Phe Ser trp
 360 365 370

40

gcc ttt ttg tcc tta ttt cgt ctc atg act caa gac ttc tgg gaa aac 1269
 Ala Phe Leu Ser Leu Phe Arg Leu Met Thr Gln Asp Phe trp Glu Asn
 375 380 385

ctt tat caa ctg aca cta cgt gct gct ggg aaa acg tac atg ata ttt 1317
 Leu Tyr Gln Leu Thr Leu Arg Ala Ala Gly Lys Thr Tyr Met Ile Phe
 390 395 400

10

ttt gtg ctg gtc att ttc ttg ggc tca ttc tat cta ata aat ttg atc 1365
 Phe Val Leu Val Ile Phe Leu Gly Ser Phe Tyr Leu Ile Asn Leu Ile
 405 410 415 420

ttg gct gtg gtg gcc atg gcc tat gag gaa cag aat cag gcc aca ttg 1413
 Leu Ala Val Val Ala Met Ala Tyr Glu Glu Gln Asn Gln Ala Thr Leu
 425 430 435

20

gaa gag gct gaa cag aag gaa gct gaa ttt cag cag atg ctc gaa cag 1461
 Glu Glu Ala Glu Gln Lys Glu Ala Glu Phe Gln Gln Met Leu Glu Gln
 440 445 450

ttg aaa aag caa caa gaa gaa gct cag gcg gca gct gca gcc gca tct 1509
 Leu Lys Lys Gln Gln Glu Glu Ala Gln Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ser
 455 460 465

30

gct gaa tca aga gac ttc agt ggt gct ggt ggg ata gga gtt ttt tca 1557
 Ala Glu Ser Arg Asp Phe Ser Gly Ala Gly Gly Ile Gly Val Phe Ser
 470 475 480

40

gag agt tct tca gta gca tct aag ttg agc tcc aaa agt gaa aaa gag 1605

Glu Ser Ser Ser Val Ala Ser Lys Leu Ser Ser Lys Ser Glu Lys Glu			
485	490	495	500
ctg aaa aac aga aga aag aaa aag aaa cag aaa gaa cag tct gga gaa	1653		
Leu Lys Asn Arg Arg Lys Lys Lys Lys Gln Lys Glu Gln Ser Gly Glu			
	505	510	515
gaa gag aaa aat gac aga gtc cta aaa tcg gaa tct gaa gac agc ata	1701		10
Glu Glu Lys Asn Asp Arg Val Leu Lys Ser Glu Ser Glu Asp Ser Ile			
	520	525	530
aga aga aaa ggt ttc cgt ttt tcc ttg gaa gga agt agg ctg aca tat	1749		
Arg Arg Lys Gly Phe Arg Phe Ser Leu Glu Gly Ser Arg Leu Thr Tyr			
	535	540	545
gaa aag aga ttt tct tct cca cac cag tcc tta ctg agc atc cgt ggc	1797		
Glu Lys Arg Phe Ser Ser Pro His Gln Ser Leu Leu Ser Ile Arg Gly			
	550	555	560
tcc ctt ttc tct cca aga cgc aac agt agg gcg agc ctt ttc agc ttc	1845		
Ser Leu Phe Ser Pro Arg Arg Asn Ser Arg Ala Ser Leu Phe Ser Phe			30
565	570	575	580
aga ggt cga gca aag gac att ggc tct gag aat gac ttt gct gat gat	1893		
Arg Gly Arg Ala Lys Asp Ile Gly Ser Glu Asn Asp Phe Ala Asp Asp			
	585	590	595
gag cac agc acc ttt gag gac aat gac agc cga aga gac tct ctg ttc	1941		40
Glu His Ser Thr Phe Glu Asp Asn Asp Ser Arg Arg Asp Ser Leu Phe			

600	605	610		
gtg ccg cac aga cat gga gaa cgg cgc cac agc aat gtc agc cag gcc			1989	
Val Pro His Arg His Gly Glu Arg Arg His Ser Asn Val Ser Gln Ala				
615	620	625		
agc cgt gcc tcc agg gtg ctc ccc atc ctg ccc atg aat ggg aag atg			2037	10
Ser Arg Ala Ser Arg Val Leu Pro Ile Leu Pro Met Asn Gly Lys Met				
630	635	640		
cat agc gct gtg gac tgc aat ggt gtg gtc tcc ctg gtc ggg ggc cct			2085	
His Ser Ala Val Asp Cys Asn Gly Val Val Ser Leu Val Gly Gly Pro				
645	650	655	660	20
ict acc ctc aca tct gct ggg cag ctc cta cca gag ggc aca act act			2133	
Ser Thr Leu Thr Ser Ala Gly Gln Leu Leu Pro Glu Gly Thr Thr Thr				
665	670	675		
gaa aca gaa ata aga aag aga cgg tcc agt tct tat cat gtt tcc atg			2181	
Glu Thr Glu Ile Arg Lys Arg Arg Ser Ser Ser Tyr His Val Ser Met				
680	685	690		30
gat tta ttg gaa gat cct aca tca agg caa aga gca atg agt ata gcc			2229	
Asp Leu Leu Glu Asp Pro Thr Ser Arg Gln Arg Ala Met Ser Ile Ala				
695	700	705		
agt att ttg acc aac acc atg gaa gaa ctt gaa gaa tcc aga cag aaa			2277	
Ser Ile Leu Thr Asn Thr Met Glu Glu Leu Glu Glu Ser Arg Gln Lys				40
710	715	720		

tgc cca cca tgc tgg tat aaa ttt gct aat atg tgt ttg att tgg gac 2325
 Cys Pro Pro Cys trp Tyr Lys Phe Ala Asn Met Cys Leu Ile trp Asp
 725 730 735 740

tgt tgt aaa cca tgg tta aag gtg aaa cac ctt gtc aac ctg gtt gta 2373
 Cys Cys Lys Pro trp Leu Lys Val Lys His Leu Val Asn Leu Val Val
 745 750 755

10

atg gac cca ttt gtt gac ctg gcc atc acc atc tgc att gtc tta aat 2421
 Met Asp Pro Phe Val Asp Leu Ala Ile Thr Ile Cys Ile Val Leu Asn
 760 765 770

aca ctc ttc atg gct atg gag cac tat ccc atg acg gag cag ttc agc 2469
 Thr Leu Phe Met Ala Met Glu His Tyr Pro Met Thr Glu Gln Phe Ser
 775 780 785

20

agt gta ctg tct gtt gga aac ctg gtc ttc aca ggg atc ttc aca gca 2517
 Ser Val Leu Ser Val Gly Asn Leu Val Phe Thr Gly Ile Phe Thr Ala
 790 795 800

gaa atg ttt ctc aag ata att gcc atg gat cca tat tat tac ttt caa 2565
 Glu Met Phe Leu Lys Ile Ile Ala Met Asp Pro Tyr Tyr Tyr Phe Gln
 805 810 815 820

30

gaa ggc tgg aat att ttt gat ggt ttt att gtg agc ctt agt tta atg 2613
 Glu Gly trp Asn Ile Phe Asp Gly Phe Ile Val Ser Leu Ser Leu Met
 825 830 835

40

gaa ctt ggt ttg gca aat gtg gaa gga ttg tca gtt ctc cga tca ttc 2661
 Glu Leu Gly Leu Ala Asn Val Glu Gly Leu Ser Val Leu Arg Ser Phe
 840 845 850

cgg ctg ctc cga gtt ttc aag ttg gca aaa tct tgg cca act cta aat 2709
 Arg Leu Leu Arg Val Phe Lys Leu Ala Lys Ser trp Pro Thr Leu Asn
 855 860 865

10

atg cta att aag atc att ggc aat tct gtg ggg gct cta gga aac ctc 2757
 Met Leu Ile Lys Ile Ile Gly Asn Ser Val Gly Ala Leu Gly Asn Leu
 870 875 880

acc ttg gta ttg gcc atc atc gtc ttc att ttt gct gtg gtc ggc atg 2805
 Thr Leu Val Leu Ala Ile Ile Val Phe Ile Phe Ala Val Val Gly Met
 885 890 895 900

20

cag ctc ttt ggt aag agc tac aaa gaa tgt gtc tgc aag att tcc aat 2853
 Gln Leu Phe Gly Lys Ser Tyr Lys Glu Cys Val Cys Lys Ile Ser Asn
 905 910 915

gat tgt gaa ctc cca cgc tgg cac atg cat gac ttt ttc cac tcc ttc 2901
 Asp Cys Glu Leu Pro Arg trp His Met His Asp Phe Phe His Ser Phe
 920 925 930

30

ctg atc gtg ttc cgc gtg ctg tgt gga gag tgg ata gag acc atg tgg 2949
 Leu Ile Val Phe Arg Val Leu Cys Gly Glu trp Ile Glu Thr Met trp
 935 940 945

40

gac tgt atg gag gtc gct ggc caa acc atg tgc ctt act gtc ttc atg 2997

Asp Cys Met Glu Val Ala Gly Gln Thr Met Cys Leu Thr Val Phe Met			
950	955	960	
atg gtc atg gtg att gga aat cta gtg gtt ctg aac ctc ttc ttg gcc	3045		
Met Val Met Val Ile Gly Asn Leu Val Val Leu Asn Leu Phe Leu Ala			
965	970	975	980
ttg ctt ttg agt tcc ttc agt tct gac aat ctt gct gcc act gat gat	3093		10
Leu Leu Leu Ser Ser Phe Ser Ser Asp Asn Leu Ala Ala Thr Asp Asp			
	985	990	995
gat aac gaa atg aat aat ctc cag att gct gtg gga agg atg cag aaa	3141		
Asp Asn Glu Met Asn Asn Leu Gln Ile Ala Val Gly Arg Met Gln Lys			
	1000	1005	1010
gga atc gat ttt gtt aaa aga aaa ata cgt gaa ttt att cag aaa gcc	3189		
Gly Ile Asp Phe Val Lys Arg Lys Ile Arg Glu Phe Ile Gln Lys Ala			
	1015	1020	1025
ttt gtt agg aag cag aaa gct tta gat gaa att aaa ccg ctt gaa gat	3237		
Phe Val Arg Lys Gln Lys Ala Leu Asp Glu Ile Lys Pro Leu Glu Asp			30
	1030	1035	1040
cta aat aat aaa aaa gac agc tgt att tcc aac cat acc acc ata gaa	3285		
Leu Asn Asn Lys Lys Asp Ser Cys Ile Ser Asn His Thr Thr Ile Glu			
1045	1050	1055	1060
ata ggc aaa gac ctc aat tat ctc aaa gac gga aat gga act act agt	3333		40
Ile Gly Lys Asp Leu Asn Tyr Leu Lys Asp Gly Asn Gly Thr Thr Ser			

1065	1070	1075		
ggc ata ggc agc agt gta gaa aaa tat gtc gtg gat gaa agt gat tac			3381	
Gly Ile Gly Ser Ser Val Glu Lys Tyr Val Val Asp Glu Ser Asp Tyr				
1080	1085	1090		
atg tca ttt ata aac aac cct agc ctc act gtg aca gta cca att gct			3429	10
Met Ser Phe Ile Asn Asn Pro Ser Leu Thr Val Thr Val Pro Ile Ala				
1095	1100	1105		
gtt gga gaa tct gac ttt gaa aat tta aat act gaa gaa ttc agc agc			3477	
Val Gly Glu Ser Asp Phe Glu Asn Leu Asn Thr Glu Glu Phe Ser Ser				
1110	1115	1120		20
gag tca gat atg gag gaa agc aaa gag aag cta aat gca act agt tca			3525	
Glu Ser Asp Met Glu Glu Ser Lys Glu Lys Leu Asn Ala Thr Ser Ser				
1125	1130	1135	1140	
tct gaa ggc agc acg gtt gat att gga gct ccc gcc gag gga gaa cag			3573	
Ser Glu Gly Ser Thr Val Asp Ile Gly Ala Pro Ala Glu Gly Glu Gln				
1145	1150	1155		30
cct gag gtt gaa cct gag gaa tcc ctt gaa cct gaa gcc tgt ttt aca			3621	
Pro Glu Val Glu Pro Glu Glu Ser Leu Glu Pro Glu Ala Cys Phe Thr				
1160	1165	1170		
gaa gac tgt gta cgg aag ttc aag tgt tgt cag ata agc ata gaa gaa			3669	
Glu Asp Cys Val Arg Lys Phe Lys Cys Cys Gln Ile Ser Ile Glu Glu				40
1175	1180	1185		

ggc aaa ggg aaa ctc tgg tgg aat ttg agg aaa aca tgc tat aag ata 3717
 Gly Lys Gly Lys Leu trp trp Asn Leu Arg Lys Thr Cys Tyr Lys Ile
 1190 1195 1200

gtg gag cac aat tgg ttc gaa acc ttc att gtc ttc atg att ctg ctg 3765
 Val Glu His Asn trp Phe Glu Thr Phe Ile Val Phe Met Ile Leu Leu
 1205 1210 1215 1220

10

agc agt ggg gct ctg gcc ttt gaa gat ata tac att gag cag cga aaa 3813
 Ser Ser Gly Ala Leu Ala Phe Glu Asp Ile Tyr Ile Glu Gln Arg Lys
 1225 1230 1235

acc att aag acc atg tta gaa tat gct gac aag gtt ttc act tac ata 3861
 Thr Ile Lys Thr Met Leu Glu Tyr Ala Asp Lys Val Phe Thr Tyr Ile
 1240 1245 1250

20

ttc att ctg gaa atg ctg cta aag tgg gtt gca tat ggt ttt caa gtg 3909
 Phe Ile Leu Glu Met Leu Leu Lys trp Val Ala Tyr Gly Phe Gln Val
 1255 1260 1265

tat ttt acc aat gcc tgg tgc tgg cta gac ttc ctg att gtt gat gtc 3957
 Tyr Phe Thr Asn Ala trp Cys trp Leu Asp Phe Leu Ile Val Asp Val
 1270 1275 1280

30

ica ctg gtt agc tta act gca aat gcc ttg ggt tac tca gaa ctt ggt 4005
 Ser Leu Val Ser Leu Thr Ala Asn Ala Leu Gly Tyr Ser Glu Leu Gly
 1285 1290 1295 1300

40

gcc atc aaa tcc ctc aga aca cta aga gct ctg agg cca ctg aga gct 4053
 Ala Ile Lys Ser Leu Arg Thr Leu Arg Ala Leu Arg Pro Leu Arg Ala
 1305 1310 1315

tig tcc cgg ttt gaa gga atg agg gct gtt gta aat gct ctt tta gga 4101
 Leu Ser Arg Phe Glu Gly Met Arg Ala Val Val Asn Ala Leu Leu Gly
 1320 1325 1330

10

gcc att cca tct atc atg aat gta ctt ctg gtt tgt ctg atc ttt tgg 4149
 Ala Ile Pro Ser Ile Met Asn Val Leu Leu Val Cys Leu Ile Phe trp
 1335 1340 1345

cta ata ttc agt atc atg gga gtg aat ctc ttt gct ggc aag ttt tac 4197
 Leu Ile Phe Ser Ile Met Gly Val Asn Leu Phe Ala Gly Lys Phe Tyr
 1350 1355 1360

20

cat tgt att aat tac acc act gga gag atg ttt gat gta agc gtg gtc 4245
 His Cys Ile Asn Tyr Thr Thr Gly Glu Met Phe Asp Val Ser Val Val
 1365 1370 1375 1380

aac aac tac agt gag tgc aaa gct ctc att gag agc aat caa act gcc 4293
 Asn Asn Tyr Ser Glu Cys Lys Ala Leu Ile Glu Ser Asn Gln Thr Ala
 1385 1390 1395

30

agg tgg aaa aat gtg aaa gta aac ttt gat aac gta gga ctt gga tat 4341
 Arg trp Lys Asn Val Lys Val Asn Phe Asp Asn Val Gly Leu Gly Tyr
 1400 1405 1410

40

ctg tct cta ctt caa gta gcc acg ttt aag gga tgg atg gat att atg 4389

Leu Ser Leu Leu Gln Val Ala Thr Phe Lys Gly trp Met Asp Ile Met		
1415	1420	1425
tat gca gct gtt gat tca cga aat gta gaa tta caa ccc aag tat gaa	4437	
Tyr Ala Ala Val Asp Ser Arg Asn Val Glu Leu Gln Pro Lys Tyr Glu		
1430	1435	1440
gac aac ctg tac atg tat ctt tat ttt gtc atc ttt att att ttt ggt	4485	10
Asp Asn Leu Tyr Met Tyr Leu Tyr Phe Val Ile Phe Ile Ile Phe Gly		
1445	1450	1455
tca ttc ttt acc ttg aat ctt ttc att ggt gtc atc ata gat aac ttc	4533	
Ser Phe Phe Thr Leu Asn Leu Phe Ile Gly Val Ile Ile Asp Asn Phe		
1465	1470	1475
aac caa cag aaa aag aag ttt gga ggt caa gac att ttt atg aca gaa	4581	
Asn Gln Gln Lys Lys Lys Phe Gly Gly Gln Asp Ile Phe Met Thr Glu		
1480	1485	1490
gaa cag aag aaa tac tac aat gca atg aaa aaa ctg ggt tca aag aaa	4629	
Glu Gln Lys Lys Tyr Tyr Asn Ala Met Lys Lys Leu Gly Ser Lys Lys		30
1495	1500	1505
cca caa aaa ccc ata cct cga cct gct aac aaa ttc caa gga atg gtc	4677	
Pro Gln Lys Pro Ile Pro Arg Pro Ala Asn Lys Phe Gln Gly Met Val		
1510	1515	1520
ttt gat ttt gta acc aaa caa gtc ttt gat atc agc atc atg atc ctc	4725	40
Phe Asp Phe Val Thr Lys Gln Val Phe Asp Ile Ser Ile Met Ile Leu		

1525	1530	1535	1540		
atc tgc ctt aac atg gtc acc atg atg gtg gaa acc gat gac cag agt				4773	
Ile Cys Leu Asn Met Val Thr Met Met Val Glu Thr Asp Asp Gln Ser					
	1545	1550	1555		
caa gaa atg aca aac att ctg tac tgg att aat ctg gtg ttt att gtt				4821	10
Gln Glu Met Thr Asn Ile Leu Tyr trp Ile Asn Leu Val Phe Ile Val					
	1560	1565	1570		
ctg ttc act gga gaa tgt gtg ctg aaa ctg atc tct ctt cgt tac tac				4869	
Leu Phe Thr Gly Glu Cys Val Leu Lys Leu Ile Ser Leu Arg Tyr Tyr					
	1575	1580	1585		20
tat ttc act att gga tgg aat att ttt gat ttt gtg gtg gtc att ctc				4917	
Tyr Phe Thr Ile Gly trp Asn Ile Phe Asp Phe Val Val Val Ile Leu					
	1590	1595	1600		
icc att gta gga atg ttt ctg gct gaa ctg ata gaa aag tat ttt gtg				4965	
Ser Ile Val Gly Met Phe Leu Ala Glu Leu Ile Glu Lys Tyr Phe Val					
	1605	1610	1615	1620	30
icc cct acc ctg ttc cga gtg atc cgt ctt gcc agg att ggc cga atc				5013	
Ser Pro Thr Leu Phe Arg Val Ile Arg Leu Ala Arg Ile Gly Arg Ile					
	1625	1630	1635		
cta cgt ctg atc aaa gga gca aag ggg atc cgc acg ctg ctc ttt gct				5061	
Leu Arg Leu Ile Lys Gly Ala Lys Gly Ile Arg Thr Leu Leu Phe Ala					40
	1640	1645	1650		

ttg atg atg tcc ctt cct gcg ttg ttt aac atc ggc ctc ctt ctt ttc 5109
 Leu Met Met Ser Leu Pro Ala Leu Phe Asn Ile Gly Leu Leu Leu Phe
 1655 1660 1665

ctg gtc atg ttc atc tac gcc atc ttt ggg atg tcc aat ttt gcc tat 5157
 Leu Val Met Phe Ile Tyr Ala Ile Phe Gly Met Ser Asn Phe Ala Tyr
 1670 1675 1680

10

gtt aag agg gaa gtt ggg atc gat gac atg ttc aac ttt gag acc ttt 5205
 Val Lys Arg Glu Val Gly Ile Asp Asp Met Phe Asn Phe Glu Thr Phe
 1685 1690 1695 1700

ggc aac agc atg atc tgc ctg ttc caa att aca acc tct gct ggc tgg 5253
 Gly Asn Ser Met Ile Cys Leu Phe Gln Ile Thr Thr Ser Ala Gly trp
 1705 1710 1715

20

gat gga ttg cta gca cct att ctt aat agt gga cct cca gac tgt gac 5301
 Asp Gly Leu Leu Ala Pro Ile Leu Asn Ser Gly Pro Pro Asp Cys Asp
 1720 1725 1730

cct gac aaa gat cac cct gga agc tca gtt aaa gga gac tgt ggg aac 5349
 Pro Asp Lys Asp His Pro Gly Ser Ser Val Lys Gly Asp Cys Gly Asn
 1735 1740 1745

30

cca tct gtt ggg att ttc ttt ttt gtc agt tac atc atc ata tcc ttc 5397
 Pro Ser Val Gly Ile Phe Phe Phe Val Ser Tyr Ile Ile Ile Ser Phe
 1750 1755 1760

40

ctg gtt gtg ctg aac atg tac atc gcg gtc atc ctg gag aac ttc agt 5445
 Leu Val Val Leu Asn Met Tyr Ile Ala Val Ile Leu Glu Asn Phe Ser
 1765 1770 1775 1780

gtt gct act gaa gaa agt gca gag cct ctg agt gag gat gac ttt gag 5493
 Val Ala Thr Glu Glu Ser Ala Glu Pro Leu Ser Glu Asp Asp Phe Glu
 1785 1790 1795

10

atg ttc tat gag gtt tgg gag aag ttt gat ccc gat gcg acc cag ttt 5541
 Met Phe Tyr Glu Val trp Glu Lys Phe Asp Pro Asp Ala Thr Gln Phe
 1800 1805 1810

ata gag ttt gcc aaa ctt tct gat ttt gca gat gcc ctg gat cct cct 5589
 Ile Glu Phe Ala Lys Leu Ser Asp Phe Ala Asp Ala Leu Asp Pro Pro
 1815 1820 1825

20

ctt ctc ata gca aaa ccc aac aaa gtc cag ctc att gcc atg gat ctg 5637
 Leu Leu Ile Ala Lys Pro Asn Lys Val Gln Leu Ile Ala Met Asp Leu
 1830 1835 1840

ccc atg gtg agt ggt gac cgg atc cac tgt ctt gac atc tta ttt gct 5685
 Pro Met Val Ser Gly Asp Arg Ile His Cys Leu Asp Ile Leu Phe Ala
 1845 1850 1855 1860

30

ttt aca aag cgt gtt ttg ggt gag agt gga gag atg gat gcc ctt cga 5733
 Phe Thr Lys Arg Val Leu Gly Glu Ser Gly Glu Met Asp Ala Leu Arg
 1865 1870 1875

40

ata cag atg gaa gag cga ttc atg gca tca aac ccc tcc aaa gtc tct 5781

Ile Gln Met Glu Glu Arg Phe Met Ala Ser Asn Pro Ser Lys Val Ser		
1880	1885	1890
tat gag ccc att acg acc acg ttg aaa cgc aaa caa gag gag gtg tct	5829	
Tyr Glu Pro Ile Thr Thr Thr Leu Lys Arg Lys Gln Glu Glu Val Ser		
1895	1900	1905
gct att att atc cag agg gct tac aga cgc tac ctc ttg aag caa aaa	5877	10
Ala Ile Ile Ile Gln Arg Ala Tyr Arg Arg Tyr Leu Leu Lys Gln Lys		
1910	1915	1920
gtt aaa aag gta tca agt ata tac aag aaa gac aaa ggc aaa gaa tgt	5925	
Val Lys Lys Val Ser Ser Ile Tyr Lys Lys Asp Lys Gly Lys Glu Cys		
1925	1930	1935
		1940
gat gga aca ccc atc aaa gaa gat act ctc att gat aaa ctg aat gag	5973	
Asp Gly Thr Pro Ile Lys Glu Asp Thr Leu Ile Asp Lys Leu Asn Glu		
	1945	1950
		1955
aat tca act cca gag aaa acc gat atg acg cct tcc acc acg tct cca	6021	
Asn Ser Thr Pro Glu Lys Thr Asp Met Thr Pro Ser Thr Thr Ser Pro		30
	1960	1965
		1970
ccc tcg tat gat agt gtg acc aaa cca gaa aaa gaa aaa ttt gaa aaa	6069	
Pro Ser Tyr Asp Ser Val Thr Lys Pro Glu Lys Glu Lys Phe Glu Lys		
1975	1980	1985
gac aaa tca gaa aag gaa gac aaa ggg aaa gat atc agg gaa agt aaa	6117	40
Asp Lys Ser Glu Lys Glu Asp Lys Gly Lys Asp Ile Arg Glu Ser Lys		

1990

1995

2000

aag taa aaagaaacca agaattttcc attttggat caattgttta cagcccgtga 6173

Lys

2005

tggtgatgig ttigtgtcaa caggactccc acaggaggtc tatgccaac tgactgtttt 6233

10

tacaaatgta tacttaaggt cagtgcctat aacaagacag agacctctgg tcagcaaact 6293

20

ggaactcagt aaactggaga aatagtatcg atggg

6328

<210> 2

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> forward primer for amplifying exon 1 of SCN2A gene

<400> 2

tgcttttttt cctcccgtg

20

40

<210> 3

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> reverse primer for amplifying exon 1 of SCN2A gene

10

<400> 3

tccagcatct tagtgatact

20

<210> 4

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

20

<220>

<223> foward primer for amplifying exon 2 of SCN2A gene

<400> 4

gaagcatcta tcttcatgtc

20

30

<210> 5

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> reverse primer for amplifying exon 2 of SCN2A gene

40

<400> 5

gctaacgatt gagtaaaagg

20

<210> 6

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

10

<220>

<223> foward primer for amplifying exon 3 of SCN2A gene

<400> 6

tgaggttgct gagttataga

20

20

<210> 7

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> reverse primer for amplifying exon 3 of SCN2A gene

30

<400> 7

aatcagggtc tggtaacag

20

<210> 8

<211> 20

<212> DNA

40

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> foward primer for amplifying exon 4 of SCN2A gene

<400> 8

igtacttgta aattaaccac

20

10

<210> 9

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

20

<223> reverse primer for amplifying exon 4 of SCN2A gene

<400> 9

gattggaaga aaactatgat

20

<210> 10

<211> 20

30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> foward primer for amplifying exon 5 of SCN2A gene

<400> 10

40

gtcttgagag cttgaaaac

20

<210> 11		
<211> 20		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220>		10
<223> reverse primer for amplifying exon 5 of SCN2A gene		
<400> 11		
gcaaagaatc aaatccatcc	20	
<210> 12		
<211> 20		20
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> foward primer for amplifying exon 6 of SCN2A gene		
<400> 12		30
ccaggacaag ctcgatgat	20	
<210> 13		
<211> 20		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		40

<220>

<223> reverse primer for amplifying exon 6 of SCN2A gene

<400> 13

tcccagttaa atatgctcac 20

<210> 14

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> foward primer for amplifying exon 7 of SCN2A gene

<400> 14

gtgaaaaaac tctttagcca 20

<210> 15

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> reverse primer for amplifying exon 7 of SCN2A gene

<400> 15

tgagtgggac tggatgagtg 20

<210> 16

10

20

30

40

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> foward primer for amplifying exon 8 of SCN2A gene

10

<400> 16

iggcatatat taaaacagga

20

<210> 17

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

20

<220>

<223> reverse primer for amplifying exon 8 of SCN2A gene

<400> 17

gcaaaaatgga agagagattt

20

30

<210> 18

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> foward primer for amplifying exon 9 of SCN2A gene

40

<400> 18		
accgaactca agagaattgc	20	
<210> 19		
<211> 20		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		10
<220>		
<223> reverse primer for amplifying exon 9 of SCN2A gene		
<400> 19		
ctaatgcaa ctaccttgcc	20	
<210> 20		20
<211> 20		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> foward primer for amplifying exon 10 of SCN2A gene		30
<400> 20		
cttccatatg aatgccatt	20	
<210> 21		
<211> 20		
<212> DNA		40
<213> Artificial Sequence		

<220>

<223> reverse primer for amplifying exon 10 of SCN2A gene

<400> 21

tcacactac tctgaaagca 20

<210> 22

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> foward primer for amplifying exon 11 of SCN2A gene

<400> 22

gttttcaga atgccagctc 20

<210> 23

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> reverse primer for amplifying exon 11 of SCN2A gene

<400> 23

gaacaaactc ccagcctttg 20

40

<210> 24

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> foward primer for amplifying exon 12 of SCN2A gene

10

<400> 24

gtgagctttt tacatctgag

20

<210> 25

<211> 20

<212> DNA

20

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> reverse primer for amplifying exon 12 of SCN2A gene

<400> 25

ccaatgagtta tgcacggatt

20

30

<210> 26

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

40

<223> foward primer for amplifying exon 13 of SCN2A gene

<400> 26		
tgttcctcca gcagattaac	20	
<210> 27		
<211> 20		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		10
<220>		
<223> reverse primer for amplifying exon 13 of SCN2A gene		
<400> 27		
igtcaagata tacatggcca	20	
<210> 28		
<211> 20		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		20
<220>		
<223> foward primer for amplifying exon 14 of SCN2A gene		30
<400> 28		
cggtgttcaa gagtatttc	20	
<210> 29		
<211> 20		
<212> DNA		40
<213> Artificial Sequence		

<220>

<223> reverse primer for amplifying exon 14 of SCN2A gene

<400> 29

tggtatggca atccaattg 20

10

<210> 30

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> foward primer for amplifying exon 15 of SCN2A gene

20

<400> 30

igcagagcat taacactggt ct 22

<210> 31

<211> 22

<212> DNA

30

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> reverse primer for amplifying exon 15 of SCN2A gene

<400> 31

tagacaatag gaagtggcct tg 22

40

<210> 32

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> foward primer for amplifying exon 16 of SCN2A gene

10

<400> 32

gggtgcaaga acaatcttag

20

<210> 33

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

20

<220>

<223> reverse primer for amplifying exon 16 of SCN2A gene

<400> 33

cttaacagga aggaaacacg

20

30

<210> 34

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> foward primer for amplifying exon 17 of SCN2A gene

40

<400> 34

cggattggca ttatgtttaa

20

<210> 35

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

10

<220>

<223> reverse primer for amplifying exon 17 of SCN2A gene

<400> 35

gttgttggat aggtatagat

20

20

<210> 36

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

30

<220>

<223> foward primer for amplifying exon 18 of SCN2A gene

<400> 36

ttgtaagcgg aagctatctt

20

<210> 37

<211> 20

40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> reverse primer for amplifying exon 18 of SCN2A gene

<400> 37

ttgaaggaa agggaaaaga

20

10

<210> 38

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> foward primer for amplifying exon 19 of SCN2A gene

<400> 38

aacattaac ctccagcct

20

20

<210> 39

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> reverse primer for amplifying exon 19 of SCN2A gene

30

40

<400> 39

cctctcactg tgaatgaga

20

<210> 40

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

10

<220>

<223> foward primer for amplifying exon 20 of SCN2A gene

<400> 40

ctgggtgatt ttgaaactca

20

20

<210> 41

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> reverse primer for amplifying exon 20 of SCN2A gene

30

<400> 41

gtattatggg catctggtaa

20

<210> 42

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

40

<220>

<223> foward primer for amplifying exon 21 of SCN2A gene

<400> 42

attgttggtt ggcttttcac

20

<210> 43

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

10

<220>

<223> reverse primer for amplifying exon 21 of SCN2A gene

<400> 43

tgccagcatt tattgtcatt

20

<210> 44

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

30

<220>

<223> foward primer for amplifying exon 22 of SCN2A gene

<400> 44

tigcccaaaa agtgaataca

20

40

<210> 45

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> reverse primer for amplifying exon 22 of SCN2A gene

10

<400> 45

gtgattagag aaaatcatcc

20

<210> 46

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

20

<220>

<223> foward primer for amplifying exon 23 of SCN2A gene

<400> 46

atgtgagatt tgaaggttca

20

30

<210> 47

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> reverse primer for amplifying exon 23 of SCN2A gene

40

<400> 47

tttgggtgatt gcattttgga

20

<210> 48

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

10

<220>

<223> foward primer for amplifying exon 24 of SCN2A gene

<400> 48

atagaatgaa atgtgggagc

20

20

<210> 49

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> reverse primer for amplifying exon 24 of SCN2A gene

30

<400> 49

ttcaagctat ttaggctagc

20

<210> 50

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

40

<220>

<223> foward primer for amplifying exon 25 of SCN2A gene

<400> 50

gtgaggatta aagatgtggt 20

<210> 51

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> reverse primer for amplifying exon 25 of SCN2A gene

<400> 51

tttatttggg agtttgggat 20

<210> 52

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> foward primer for amplifying part of exon 26 of SCN2A gene

<400> 52

atacatgtac ctaactgtcc 20

10

20

30

40

<210> 53

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> reverse primer for amplifying part of exon 26 of SCN2A gene

10

<400> 53

agccagcaga ggttgtaatt

20

<210> 54

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

20

<220>

<223> foward primer for amplifying part of exon 26 of SCN2A gene

<400> 54

catgttcac tacgcatct

20

30

<210> 55

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> reverse primer for amplifying part of exon 26 of SCN2A gene

40

<400> 55

ggcaaactct ataaactggg

20

<210> 56

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

10

<220>

<223> foward primer for amplifying part of exon 26 of SCN2A gene

<400> 56

catcataacc ttcttggtg

20

20

<210> 57

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> reverse primer for amplifying part of exon 26 of SCN2A gene

30

<400> 57

cctcctcttg ttgcgttc

20

<210> 58

<211> 20

<212> DNA

40

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> foward primer for amplifying part of exon 26 of SCN2A gene

<400> 58

ggatccactg tcttgacatc

20

10

<210> 59

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> reverse primer for amplifying part of exon 26 of SCN2A gene

20

<400> 59

gcactgacct taagtataca

20

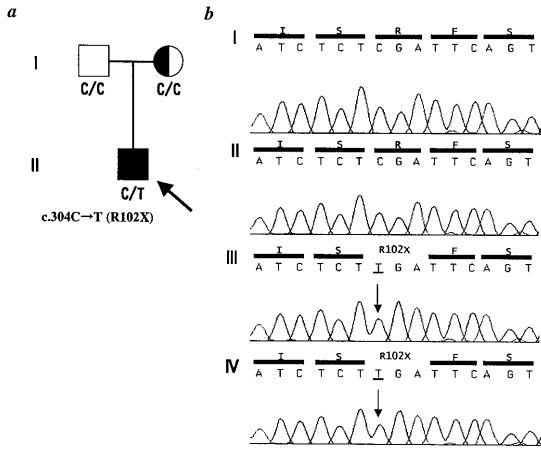
【図面の簡単な説明】

【図 1】図 1 a は、熱性けいれん（母親）と重篤な知的能力の退行を伴う難治小児てんかん（発端者：矢印で示す）の日本人家族の家系樹である。c . 3 0 4 C T ナンセンス変異は発端者にのみ見られた。丸は女性、四角は男性、塗りつぶされた四角は重篤な知的能力の退行を伴う難治小児てんかん、塗りつぶされた半円は熱性けいれんを表す。図 1 b は、ナンセンス変異 R 1 0 2 X のエレクトロフェログラムである。ゲノム PCR 産物を p C R 2 . 1 プラスミドベクターにサブクローニングし、別々に配列決定した（実施例参照）。独立したクローンから得られた配列を例として I から I V までに示す。I および I I は天然型の配列を示し、I I I および I V はアルギニン残基が終止コドンに変異した配列を示す。

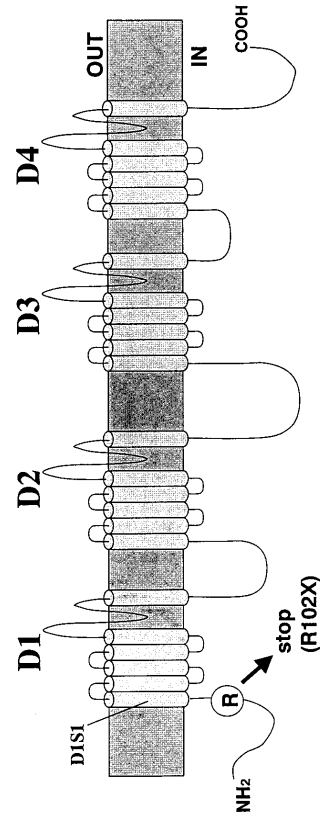
【図 2】図 2 は、S C N 2 A にコードされるタンパク質における変異 R 1 0 2 X の位置を示す模式図である。

40

【 図 1 】



【 図 2 】



フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード(参考)
C 1 2 Q 1/68	G 0 1 N 33/53	M
G 0 1 N 33/53	G 0 1 N 33/566	
G 0 1 N 33/566	A 6 1 K 37/02	

(74)代理人 100096013
弁理士 富田 博行

(74)代理人 100092886
弁理士 村上 清

(72)発明者 山川 和弘
埼玉県和光市広沢 2 番 1 号 理化学研究所内

(72)発明者 井上 有史
静岡県静岡市漆山 8 8 6 国立療養所静岡神経医療センター内

F ターム(参考) 4B024 AA11 BA80 CA03 CA04 CA09 CA12 CA20 HA11 HA13 HA14
HA20
4B063 QA13 QA17 QA19 QQ02 QQ08 QQ43 QQ53 QQ79 QR08 QR32
QR35 QR40 QR42 QR56 QR62 QS16 QS25 QS34 QS36 QX01
QX02
4C084 AA02 AA06 AA07 BA01 BA08 BA22 BA23 CA18 MA01 NA14
ZA062 ZC412
4H045 AA10 BA10 CA40

专利名称(译)	儿童顽固性癫痫中scn2a基因的突变并伴有精神智力的衰退		
公开(公告)号	JP2004275115A	公开(公告)日	2004-10-07
申请号	JP2003072979	申请日	2003-03-18
[标]申请(专利权)人(译)	独立行政法人理化学研究所 国家疗养院静冈神经医学中心主任		
申请(专利权)人(译)	独立行政法人理化学研究所 国家疗养院静冈神经医学中心主任		
[标]发明人	山川和弘 井上有史		
发明人	山川 和弘 井上 有史		
IPC分类号	G01N33/53 A61K38/00 A61P25/08 A61P43/00 C07K14/47 C12N15/09 C12Q1/68 G01N33/566		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A A61P25/08 A61P43/00.111 C07K14/47 C12Q1/68.A G01N33/53.M G01N33/566 A61K37/02 A61K38/00 A61K38/16 C12N15/00.A C12N15/00.AZN.A		
F-TERM分类号	4B024/AA11 4B024/BA80 4B024/CA03 4B024/CA04 4B024/CA09 4B024/CA12 4B024/CA20 4B024/HA11 4B024/HA13 4B024/HA14 4B024/HA20 4B063/QA13 4B063/QA17 4B063/QA19 4B063/QQ02 4B063/QQ08 4B063/QQ43 4B063/QQ53 4B063/QQ79 4B063/QR08 4B063/QR32 4B063/QR35 4B063/QR40 4B063/QR42 4B063/QR56 4B063/QR62 4B063/QS16 4B063/QS25 4B063/QS34 4B063/QS36 4B063/QX01 4B063/QX02 4C084/AA02 4C084/AA06 4C084/AA07 4C084/BA01 4C084/BA08 4C084/BA22 4C084/BA23 4C084/CA18 4C084/MA01 4C084/NA14 4C084/ZA062 4C084/ZC412 4H045/AA10 4H045/BA10 4H045/CA40		
代理人(译)	小林 泰 千叶昭夫 村上 清		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

解决的问题：提供一种在顽固的儿童癫痫伴有严重智力衰退的情况下检测SCN2A基因疾病突变（缺失，无意义，移码，剪接位点突变等）的方法。在77名患有严重婴儿肌阵挛性癫痫（SMEI）或非典型SMEI的患者中，本发明人被诊断出患有顽固的症状性定位与继发性全身性惊厥性癫痫发作。我们发现一个无意义的突变（单核苷酸突变（c.304C→T））导致一名癫痫患者的SCN2A基因中出现R102X。本发明涉及具有疾病突变（缺失，无义，移码，剪接位点突变等）的SCN2A基因，引物和用于扩增其的探针。此外，提供了使用这些引物和探针检测突变的方法。[选择图]图2

