

(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2014-122170

(P2014-122170A)

(43) 公開日 平成26年7月3日(2014.7.3)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C07K 14/47 (2006.01)	C07K 14/47 ZNA	4B024
GO1N 37/00 (2006.01)	GO1N 37/00 IO2	4B029
GO1N 33/53 (2006.01)	GO1N 33/53 D	4H045
C07K 16/18 (2006.01)	C07K 16/18	
C12N 15/115 (2010.01)	C12N 15/00 H	
審査請求 未請求 請求項の数 10 O L (全 26 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2012-278388 (P2012-278388)
 (22) 出願日 平成24年12月20日 (2012.12.20)

(71) 出願人 000006769
 ライオン株式会社
 東京都墨田区本所1丁目3番7号
 (74) 代理人 100089118
 弁理士 酒井 宏明
 (74) 代理人 100113398
 弁理士 寺崎 直
 (72) 発明者 内山 千代子
 東京都墨田区本所一丁目3番7号 ライオン株式会社内
 (72) 発明者 栗田 啓
 東京都墨田区本所一丁目3番7号 ライオン株式会社内
 Fターム(参考) 4B024 AA11 CA01 CA09 HA12 HA14
 4B029 AA07 BB17 BB20 CC03 FA12
 4H045 AA10 AA30 BA14 BA17 BA18

(54) 【発明の名称】 高血糖リスク判定用マーカーペプチドおよびその用途

(57) 【要約】

【課題】本発明の目的は、生体内の高血糖リスクを精度良く判定可能なマーカー物質を提供することにある。

【解決手段】本発明は、以下の発明を提供する：高血糖リスク判定用マーカーペプチド；前記高血糖リスク判定用マーカーペプチドに結合する抗体またはアプタマー；前記高血糖リスク判定用マーカーペプチドに結合する抗体またはアプタマーが担体に固相化された、マイクロアレイ；被験者から採取された生体試料における、前記高血糖リスク判定用マーカーペプチドの量または有無を測定する、高血糖リスクの判定方法；および、前記抗体またはアプタマー、もしくは、前記マイクロアレイを含む、高血糖リスク判定用キット。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

下記の (A) ~ (O) からなる群から選択される、高血糖リスク判定用マーカーペプチド。

(A) 配列番号 1 のアミノ酸配列のうちの連続する 5 個以上のアミノ酸残基を含むポリペプチド；

(B) 配列番号 1 のアミノ酸配列のうちの連続する 5 個以上のアミノ酸残基において、1 または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(C) 配列番号 1 のアミノ酸配列のうちの連続する 5 個以上のアミノ酸残基と 90% 以上の相同性を有するアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

10

(D) 配列番号 1 のアミノ酸配列中、1 または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列のうちの、連続する 5 個以上のアミノ酸残基を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(E) 配列番号 1 のアミノ酸配列と 90% 以上の相同性を有するアミノ酸配列のうちの、連続する 5 個以上のアミノ酸残基を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(F) 配列番号 2 のアミノ酸配列のうちの連続する 5 個以上のアミノ酸残基を含むポリペプチド；

20

(G) 配列番号 2 のアミノ酸配列のうちの連続する 5 個以上のアミノ酸残基において、1 または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(H) 配列番号 2 のアミノ酸配列のうちの連続する 5 個以上のアミノ酸残基と 90% 以上の相同性を有するアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(I) 配列番号 2 のアミノ酸配列中、1 または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列のうちの、連続する 5 個以上のアミノ酸残基を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；および

(J) 配列番号 2 のアミノ酸配列と、90% 以上の相同性を有するアミノ酸配列のうちの連続する 5 個以上のアミノ酸残基を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

30

(K) 配列番号 3 のアミノ酸配列のうちの連続する 5 個以上のアミノ酸残基を含むポリペプチド；

(L) 配列番号 3 のアミノ酸配列のうちの連続する 5 個以上のアミノ酸残基において、1 または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(M) 配列番号 3 のアミノ酸配列のうちの連続する 5 個以上のアミノ酸残基と 90% 以上の相同性を有するアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

40

(N) 配列番号 3 のアミノ酸配列中、1 または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列のうちの、連続する 5 個以上のアミノ酸残基を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；および

(O) 配列番号 3 のアミノ酸配列と、90% 以上の相同性を有するアミノ酸配列のうちの連続する 5 個以上のアミノ酸残基を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド

【請求項 2】

請求項 1 に記載の高血糖リスク判定用マーカーペプチドに結合する抗体またはアプタマー。

【請求項 3】

50

請求項 1 に記載の高血糖リスク判定用マーカーペプチドに結合する抗体またはアプタマーが担体に固相化された、マイクロアレイ。

【請求項 4】

被験者から採取された生体試料における、請求項 1 に記載の高血糖リスク判定用マーカーペプチドの量または有無を測定する、高血糖リスクの判定方法。

【請求項 5】

被験者から採取された生体試料における、請求項 1 に記載の高血糖リスク判定用マーカーペプチドの量が、健常者から採取された生体試料における当該量に比べて低い場合に、高血糖リスクが高いと判定する請求項 4 に記載の判定方法。

【請求項 6】

被験者から採取された生体試料における、請求項 1 に記載の高血糖リスク判定用マーカーペプチドの量が、高血糖者から採取された生体試料における当該量に比べて同一または低い場合に、高血糖リスクが高いと判定する請求項 4 に記載の判定方法。

【請求項 7】

請求項 1 に記載の高血糖リスク判定用マーカーペプチドの量の測定を、質量分析法と、請求項 2 に記載の抗体またはアプタマーを用いる免疫測定法と、請求項 3 に記載のマイクロアレイを用いる免疫測定法との中から選ばれる方法により行う、請求項 4 ~ 6 のいずれか一項に記載の判定方法。

【請求項 8】

生体試料が、唾液である請求項 4 ~ 7 のいずれか一項に記載の判定方法。

【請求項 9】

請求項 2 の抗体またはアプタマー、もしくは、請求項 3 のマイクロアレイを含む、高血糖リスク判定用キット。

【請求項 10】

更にガムを含む、請求項 9 に記載のキット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、高血糖リスク判定用マーカーペプチドおよびその用途に関する。

【背景技術】

【0002】

2011年の我が国の糖尿病罹患者は1,000万人を超え、世界で第6番目に多い。糖尿病は、重篤な段階には網膜症、壊疽などの合併症を引き起こし、その合併症によって命を落とす危険性もある深刻な症状である。日本人は食べた物を消費しにくく、貯め込み易い体質であることから、糖尿病になりやすいと言われているが、食事の摂取の仕方や運動によって糖尿病への罹患、重篤化を予防することが推奨されている。

【0003】

糖尿病予備軍として、高血糖状態が挙げられる。この段階から定期的な血糖状態の把握とそれに適した生活習慣の維持及び改善が必要である。その場合、非侵襲的かつ常時採取可能な検体であれば、家庭でのセルフメディケーションが可能になる。

【0004】

Cystatinは抗酸化作用のある一連のペプチド群である。特許文献1にはCystatin-Cを糖尿病検出の際のバイオマーカーとして用い得ることが記載されている。特許文献2には、Cystatin-Cを糖尿病の検査パラメーターとして用い得ることが記載されている。特許文献3には抗Cystatin-SN抗体を含有する大腸癌および/または大腸ポリープの診断薬が記載されている。Cystatin-Cは精液、髄液に多く存在し、唾液には少量しか存在しない。一方、Cystatin-SNは主に唾液、涙液に存在する。

【0005】

Basic salivary prolin-rich protein 1及びB

10

20

30

40

50

asic salivary prolin-rich protein 2は、プロリンに富む非周期性なアミノ酸配列部分を含むプロリンリッチタンパク質（プロリンリッチペプチド）の一種である。非特許文献1には、糖尿病モデルラットの唾液腺内プロリンリッチペプチドの発現が、コントロール群と比較して低下していたこと、及び、インスリン投与により糖尿病モデルラットのプロリンリッチペプチド発現低下が改善されたことが記載されている。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0006】

【特許文献1】特表2011-515680号公報

10

【特許文献2】特表2012-507020号公報

【特許文献3】国際公開第06/064844号

【非特許文献】

【0007】

【非特許文献1】Int J Exp Path, 90, 412-422

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

しかしながら、採取部位を問わず唾液からも正確に検出できる高血糖リスクマーカーペプチド、及びこれを用いた高血糖リスクの検出方法は、いずれも今のところ知られていない。また、Cystatin-SN、Basic salivary prolin-rich protein 1及びBasic salivary prolin-rich protein 2が高血糖と関連していることは、これまで知られていなかった。Cystatin-SNのCystatin-Cに対する相同性スコアは54.6099に過ぎないことから、Cystatin-SNとCystatin-Cとは構造上も大きく異なるタンパク質であると言える。

20

【0009】

本発明の目的は、生体内の高血糖リスクを精度良く判定可能なマーカー物質を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

30

【0010】

本発明は、以下の〔1〕～〔10〕を提供する。

〔1〕下記の(A)～(O)からなる群から選択される、高血糖リスク判定用マーカーペプチド。

(A) 配列番号1のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基を含むポリペプチド；

(B) 配列番号1のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基において、1または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(C) 配列番号1のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

40

(D) 配列番号1のアミノ酸配列中、1または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列のうちの、連続する5個以上のアミノ酸残基を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(E) 配列番号1のアミノ酸配列と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列のうちの、連続する5個以上のアミノ酸残基を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(F) 配列番号2のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基を含むポリペプチド；

50

(G) 配列番号2のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基において、1または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(H) 配列番号2のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(I) 配列番号2のアミノ酸配列中、1または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列のうちの、連続する5個以上のアミノ酸残基を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；および

(J) 配列番号2のアミノ酸配列と、90%以上の相同性を有するアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(K) 配列番号3のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基を含むポリペプチド；

(L) 配列番号3のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基において、1または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(M) 配列番号3のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(N) 配列番号3のアミノ酸配列中、1または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列のうちの、連続する5個以上のアミノ酸残基を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；および

(O) 配列番号3のアミノ酸配列と、90%以上の相同性を有するアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド

〔2〕上記〔1〕に記載の高血糖リスク判定用マーカーペプチドに結合する抗体またはアプタマー。

〔3〕上記〔1〕に記載の高血糖リスク判定用マーカーペプチドに結合する抗体またはアプタマーが担体に固相化された、マイクロアレイ。

〔4〕被験者から採取された生体試料における、上記〔1〕に記載の高血糖リスク判定用マーカーペプチドの量または有無を測定する、高血糖リスクの判定方法。

〔5〕被験者から採取された生体試料における、請求項1に記載の高血糖リスク判定用マーカーペプチドの量が、健常者から採取された生体試料における当該量に比べて低い場合に、高血糖リスクが高いと判定する上記〔4〕に記載の判定方法。

〔6〕被験者から採取された生体試料における、請求項1に記載の高血糖リスク判定用マーカーペプチドの量が、高血糖者から採取された生体試料における当該量に比べて同一または低い場合に、高血糖リスクが高いと判定する上記〔4〕に記載の判定方法。

〔7〕上記〔1〕に記載の高血糖リスク判定用マーカーペプチドの量の測定を、質量分析法と、上記〔2〕に記載の抗体またはアプタマーを用いる免疫測定法と、上記〔3〕に記載のマイクロアレイを用いる免疫測定法との中から選ばれる方法により行う、上記〔4〕～〔6〕のいずれか一項に記載の判定方法。

〔8〕生体試料が、唾液である上記〔4〕～〔7〕のいずれか一項に記載の判定方法。

〔9〕上記〔2〕の抗体またはアプタマー、もしくは、上記〔3〕のマイクロアレイを含む、高血糖リスク判定用キット。

〔10〕更にガムを含む、上記〔9〕に記載のキット。

【発明の効果】

【0011】

本発明によれば、高血糖リスクを精度良く判定できる。本発明を利用して医師の診断に先立って高血糖リスクの判定を行えば、高血糖の予防策を早期に講じることができ、高血

10

20

30

40

50

糖症、糖尿病などの疾病の罹患を未然に防ぐことができ、健康維持に有用である。

【図面の簡単な説明】

【0012】

【図1】図1は、各被験者群のCystatin-SNペプチド断片のピーク強度を示す図である。

【図2】図2は、各被験者群のBasic salivary proline-rich protein 2ペプチド断片のピーク強度を示す図である。

【図3】図3は、各被験者群のBasic salivary proline-rich protein 1ペプチド断片のピーク強度を示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0013】

本発明において高血糖リスクの判定とは、被験者が高血糖かどうか、既に正常レベルに戻ったかどうか、または今後高血糖になる可能性があるかどうかの判定（評価、判別、鑑別、推定）を行うこと、または被験者が高血糖リスクになる可能性を有するか有しないかの区別（分類）を行うことを意味する。高血糖リスクの判定は、被験者が高血糖かどうか、既に正常レベルに戻ったかどうか、および今後高血糖になる可能性があるかどうかの判定を意味する。高血糖リスクの判定の精度は、被験者のうち、通常、統計学的に有意な割合の被験者において、高血糖リスクを正しく判定できる程度であり、例えば50%以上、60%以上、70%以上、80%以上、85%以上、90%以上の被験者において高血糖リスクを正しく判定できる程度である。本発明の判定方法は、医師の診断前の予備的な判定方法として有用である。

【0014】

本発明において高血糖とは、空腹時血糖が110mg/dL以上および/またはヘモグロビンA1cが5.8%以上である状態を言う。

【0015】

本発明における被験者は、通常は動物であり、好ましくは、ヒト、実験動物（マウス、ラット、モルモット、ハムスター、ウサギなど）であり、より好ましくはヒトである。

【0016】

(1) 本発明のマーカーペプチド

本発明の高血糖リスク判定用マーカーペプチドは、上記の(A)～(O)からなる群から選択される1以上である。

【0017】

本発明の高血糖リスク判定用マーカーペプチドを用いて高血糖リスクを判定する場合、(A)～(O)から選ばれる1種類を用いればよいが、2種類以上を組み合わせるとより高精度な判定が可能である。2種類以上の組み合わせの場合、(A)～(E)から選ばれる1種以上と、(F)～(J)から選ばれる1種以上と、(K)～(O)から選ばれる1種以上と、のうちから選ばれる2種類以上の組み合わせであることが好ましい。

【0018】

(1-1) (A)～(C)について

(A)～(C)において、配列番号1のアミノ酸配列は、ヒトCystatin-SNペプチドをコードするアミノ酸配列であり（全長141アミノ酸）、アクセッション番号P01037.3にてデータベースに登録されている。Cystatin-SNの、Cystatinファミリーに含まれるほかのタイプに対する相同性スコアは以下のとおりいずれも低い：Cystatin-C（54.6099%）、Cystatin-M（27.6596%）、Cystatin-E（27.6596%）、Cystatin-F（26.2411%）、Cystatin-A（17.3469%）、Cystatin-B（14.2857%）である（括弧内は相同性スコア）。なお、上記相同性スコアはMultiple Sequence Alignment by CLUSTALW (<http://www.genome.jp/tools/clustalw/>) にアミノ酸配列を入力して算出した値である。

10

20

30

40

50

【0019】

(A)～(C)において、配列番号1のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基は、配列番号1のアミノ酸配列のうちの連続する7個以上のアミノ酸残基であることが好ましく、連続する10個以上のアミノ酸残基であることが好ましく、連続する12個以上のアミノ酸残基であることがより好ましく、連続する14個以上のアミノ酸残基であることが更により好ましく、連続する15個以上のアミノ酸残基であることが特に好ましい。上限の規定は特にはなく、配列番号1のアミノ酸配列の全長(141残基)またはこれを超えていてもよいが、例えば、200個以下、100個以下、90個以下、80個以下、70個以下、60個以下、50個以下、40個以下、30個以下、20個以下である。

10

【0020】

(A)～(C)において、配列番号1のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基において、5個以上のアミノ酸残基にはアミノ酸残基番号25位～39位の少なくとも一部が含まれることが好ましく、5個以上のアミノ酸残基が配列番号1のアミノ酸残基番号25位～39位の中の連続する5個以上のアミノ酸残基であることがより好ましい。5個以上のアミノ酸残基が配列番号1のアミノ酸残基番号25位～39位のアミノ酸配列であること、または配列番号1のアミノ酸配列であることが好ましい。

【0021】

(A)は、配列番号1のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基を含むポリペプチドであればよく、配列番号1のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基からなるポリペプチドであることが好ましい。

20

【0022】

(B)は、配列番号1のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基において、1または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチドであればよく、配列番号1のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基において、1または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列からなり、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチドであることが好ましい。

【0023】

(C)は、配列番号1のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチドであればよく、配列番号1のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなる、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチドであることが好ましい。

30

【0024】

(B)において、1または数個のアミノ酸残基の変異は、アミノ酸配列中の1つの領域に存在していてもよいが、複数の異なる領域に存在していてもよい。用語「1または数個」は、マーカーペプチドの機能または特性を大きく損なわない範囲を示すものである。「1個または数個」とは、例えば、「1～14個」、「1～10個」、「1～7個」、「1～5個」、「1個～3個」、「1個または2個」または「1個」をいう。

40

【0025】

アミノ酸配列において変異(欠失、付加、置換または挿入)が許容されるアミノ酸残基の位置は、当業者に自明である。具体的には、当業者は、1)同種の活性を有する複数のタンパク質のアミノ酸配列(例、配列番号1により表されるアミノ酸配列、および他の高血糖リスク判定用マーカーペプチドのアミノ酸配列)を比較し、2)相対的に保存されている領域、および相対的に保存されていない領域を明らかにし、次いで、3)相対的に保存されている領域および相対的に保存されていない領域から、それぞれ、機能に重要な役割を果たし得る領域および機能に重要な役割を果たし得ない領域を予測できるので、構造および機能の相関性を認識できる。したがって、当業者は、高血糖リスク判定用マーカーのアミノ酸配列において変異が許容されるアミノ酸残基の位置を推定できる。

50

【0026】

アミノ酸残基の置換による変異を含む場合、アミノ酸残基の置換は、保存的置換であってもよい。本明細書中で用いられる場合、用語「保存的置換」とは、所定のアミノ酸残基を、類似の側鎖を有するアミノ酸残基で置換することをいう。類似の側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーは、当該分野で周知であり、例えば、塩基性側鎖を有するアミノ酸（例、リジン、アルギニン、ヒスチジン）、酸性側鎖を有するアミノ酸（例、アスパラギン酸、グルタミン酸）、非荷電性極性側鎖を有するアミノ酸（例、アスパラギン、グルタミン、セリン、スレオニン、チロシン、システイン）、非極性側鎖を有するアミノ酸（例、グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、トリプトファン）、位分岐側鎖を有するアミノ酸（例、スレオニン、バリン、イソロイシン）、芳香族側鎖を有するアミノ酸（例、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン）、ヒドロキシル基（例、アルコール性、フェノール性）含有側鎖を有するアミノ酸（例、セリン、スレオニン、チロシン）、および硫黄含有側鎖を有するアミノ酸（例、システイン、メチオニン）が挙げられる。好ましくは、アミノ酸の保存的置換は、アスパラギン酸とグルタミン酸との間での置換、アルギニンとリジンとヒスチジンとの間での置換、トリプトファンとフェニルアラニンとの間での置換、フェニルアラニンとバリンとの間での置換、ロイシンとイソロイシンとアラニンとの間での置換、およびグリシンとアラニンとの間での置換であってもよい。

10

【0027】

(C)において、アミノ酸配列に対する相同性（例えば、同一性、類似性）は90%以上であるが、好ましくは95%、特に好ましくは98%以上、より好ましくは99%以上である。

20

【0028】

アミノ酸配列の相同性（例えば、同一性、類似性）は、Multiple Sequence Alignment by CLUSTALW (<http://www.genome.jp/tools/clustalw/>) にアミノ酸配列を入力して算出することができる。また、例えばKarlinおよびAltschulによるアルゴリズムBLAST (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90, 5873 (1993)) やPearsonによるFASTA (Methods Enzymol., 183, 63 (1990)) を用いて決定することができる。このアルゴリズムBLASTに基づいて、BLASTP、BLASTNとよばれるプログラムが開発されているので (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov> 参照)、これらのプログラムをデフォルト設定で用いて、アミノ酸配列の相同性を計算してもよい。

30

【0029】

(A)としては、例えば(A-1)~(A-9)が挙げられる：

(A-1) 配列番号1のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基からなるポリペプチド；

(A-2) 配列番号1のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基を含み、かつ、前記5個以上のアミノ酸残基にはアミノ酸残基番号25位~39位の少なくとも一部が含まれる、ポリペプチド；

40

(A-3) 配列番号1のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基からなり、かつ、前記5個以上のアミノ酸残基にはアミノ酸残基番号25位~39位の少なくとも一部が含まれる、ポリペプチド；

(A-4) 配列番号1のアミノ酸配列のうちのアミノ酸残基番号25位~39位から選ばれる連続する5個以上のアミノ酸残基を含むポリペプチド；

(A-5) 配列番号1のアミノ酸配列のうちのアミノ酸残基番号25位~39位から選ばれる連続する5個以上のアミノ酸残基からなるポリペプチド；

(A-6) 配列番号1のアミノ酸配列のうちのアミノ酸残基番号25位~39位を含むポリペプチド；

(A-7) 配列番号1のアミノ酸配列のうちのアミノ酸残基番号25位~39位からなる

50

ポリペプチド；

(A - 8) 配列番号 1 のアミノ酸配列を含むポリペプチド；および

(A - 9) 配列番号 1 のアミノ酸配列からなるポリペプチド。

【0030】

(B) としては、例えば (B - 1) ~ (B - 9) が挙げられる：

(B - 1) 配列番号 1 のアミノ酸配列のうちの連続する 5 個以上のアミノ酸残基において、1 または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列からなり、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(B - 2) 配列番号 1 のアミノ酸配列のうちの連続する 5 個以上のアミノ酸残基であり、かつ、前記 5 個以上のアミノ酸残基にはアミノ酸残基番号 25 位 ~ 39 位の少なくとも一部が含まれるアミノ酸配列において、1 または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(B - 3) 配列番号 1 のアミノ酸配列のうちの連続する 5 個以上のアミノ酸残基であり、かつ、前記 5 個以上のアミノ酸残基にはアミノ酸残基番号 25 位 ~ 39 位の少なくとも一部が含まれるアミノ酸配列において、1 または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列からなり、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(B - 4) 配列番号 1 のアミノ酸配列のうちのアミノ酸残基番号 25 位 ~ 39 位から選ばれる連続する 5 個以上のアミノ酸残基において、1 または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(B - 5) 配列番号 1 のアミノ酸配列のうちのアミノ酸残基番号 25 位 ~ 39 位から選ばれる連続する 5 個以上のアミノ酸残基において、1 または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列からなり、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(B - 6) 配列番号 1 のアミノ酸配列のアミノ酸残基番号 25 位 ~ 39 位のアミノ酸配列において、1 または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(B - 7) 配列番号 1 のアミノ酸配列のアミノ酸残基番号 25 位 ~ 39 位のアミノ酸配列において、1 または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列からなり、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(B - 8) 配列番号 1 のアミノ酸配列において、1 または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；および

(B - 9) 配列番号 1 のアミノ酸配列において、1 または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列からなり、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド。

【0031】

(C) としては、例えば (C - 1) ~ (C - 9) が挙げられる：

(C - 1) 配列番号 1 のアミノ酸配列のうちの連続する 5 個以上のアミノ酸残基と 90 % 以上の相同性を有するアミノ酸配列からなる、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(C - 2) 配列番号 1 のアミノ酸配列のうちの連続する 5 個以上のアミノ酸残基であり、かつ、前記 5 個以上のアミノ酸残基にはアミノ酸残基番号 25 位 ~ 39 位の少なくとも一部が含まれるアミノ酸配列と 90 % 以上の相同性を有するアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(C - 3) 配列番号 1 のアミノ酸配列のうちの連続する 5 個以上のアミノ酸残基であり、かつ、前記 5 個以上のアミノ酸残基にはアミノ酸残基番号 25 位 ~ 39 位の少なくとも一部が含まれるアミノ酸配列と 90 % 以上の相同性を有するアミノ酸配列からなり、高血糖

10

20

30

40

50

リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(C-4) 配列番号1のアミノ酸配列のうちのアミノ酸残基番号25位～39位から選ばれる連続する5個以上のアミノ酸残基と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(C-5) 配列番号1のアミノ酸配列のうちのアミノ酸残基番号25位～39位から選ばれる連続する5個以上のアミノ酸残基と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなり、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(C-6) 配列番号1のアミノ酸配列のアミノ酸残基番号25位～39位のアミノ酸配列と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(C-7) 配列番号1のアミノ酸配列のアミノ酸残基番号25位～39位のアミノ酸配列と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなり、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(C-8) 配列番号1のアミノ酸配列と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；および

(C-9) 配列番号1のアミノ酸配列と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなり、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド。

【0032】

(1-2)(D)～(E)について

(D)～(E)において、配列番号1のアミノ酸配列については、上記項目(1-1)にて説明したとおりである。

【0033】

(D)～(E)において、配列番号1のアミノ酸配列中にそれぞれの変異を有するアミノ酸配列のうち、連続する5個以上のアミノ酸残基は、連続する7個以上のアミノ酸残基であることが好ましく、連続する10個以上のアミノ酸残基であることが好ましく、連続する12個以上のアミノ酸残基であることがより好ましく、連続する14個以上のアミノ酸残基であることが更により好ましく、15個以上のアミノ酸残基であることが特に好ましい。上限の規定は特にはなく、配列番号1のアミノ酸配列中にそれぞれの変異を有するアミノ酸配列の全長(141残基)またはこれを超えていてもよいが、例えば、200個以下、100個以下、90個以下、80個以下、70個以下、60個以下、50個以下、40個以下、30個以下、20個以下である。

【0034】

(D)において、配列番号1のアミノ酸配列中、1または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列のうち、連続する5個以上のアミノ酸残基を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチドであればよく、配列番号1のアミノ酸配列中、1または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列のうち、連続する5個以上のアミノ酸残基からなり、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチドであることが好ましい。

【0035】

(E)は、配列番号1のアミノ酸配列と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列のうち、連続する5個以上のアミノ酸残基を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチドであればよく、配列番号1のアミノ酸配列と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列のうち、連続する5個以上のアミノ酸残基からなり、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチドであることが好ましい。

【0036】

(D)における1または数個のアミノ酸残基の変異は、上記項目(1-1)において(B)に関し説明したのと同様である。

【0037】

(E)における相同性は、上記項目(1-1)において(C)に関し説明したのと同様である。

10

20

30

40

50

【0038】

(A) ~ (E) からなる群に含まれるペプチドとしては、(A - 2) ~ (A - 7)、(B - 2) ~ (B - 7) 及び (C - 2) ~ (C - 7) からなる群に含まれるペプチドが好ましく、(A - 6) および (A - 7) のペプチドがより好ましく、(A - 7) のペプチドが更に好ましい。

【0039】

(1 - 3) (F) ~ (H) について

(F) ~ (H) において、配列番号2のアミノ酸配列は、Basic salivary proline-rich protein2をコードするアミノ酸配列であり(全長416アミノ酸)、アクセッション番号P02812.3でデータベースに登録されている。

10

【0040】

(F) ~ (H) において、配列番号2のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基は、配列番号2のアミノ酸配列のうちの連続する10個以上のアミノ酸残基であることが好ましく、連続する15個以上のアミノ酸残基であることが好ましく、連続する20個以上のアミノ酸残基であることがより好ましく、連続する22個以上のアミノ酸残基であることが更に好ましく、連続する23個以上のアミノ酸残基であることが更に好ましく、連続する24個以上のアミノ酸残基であることがとりわけ好ましく、連続する25個以上のアミノ酸残基であることが特に好ましい。上限の規定は特にはなく、配列番号2のアミノ酸配列の全長(416残基)またはこれを超えていてもよいが、例えば、500個以下、400個以下、300個以下、200個以下、100個以下、90個以下、80個以下、70個以下、60個以下、50個以下、40個以下、30個以下である。

20

【0041】

(F) ~ (H) において、配列番号2のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基において、5個以上のアミノ酸残基にはアミノ酸残基番号17位~112位の少なくとも一部が含まれることが好ましく、アミノ酸残基番号59位~83位の少なくとも一部が含まれることがより好ましい。5個以上のアミノ酸残基が配列番号2のアミノ酸残基番号17位~112位の中の連続する5個以上のアミノ酸残基であることが更に好ましく、アミノ酸残基番号59位~83位の中の連続する5個以上のアミノ酸残基であることが更に好ましい。配列番号2のアミノ酸残基番号17位~112位は、Basic prolin-rich peptide IB-1である。5個以上のアミノ酸残基が配列番号2のアミノ酸残基番号59位~83位のアミノ酸配列であること、配列番号2のアミノ酸残基番号17位~112位のアミノ酸配列であること、または配列番号2のアミノ酸配列であることが好ましく、配列番号2のアミノ酸残基番号59位~83位のアミノ酸配列であることまたは配列番号2のアミノ酸残基番号17位~112位のアミノ酸配列であることがより好ましく、配列番号2のアミノ酸残基番号59位~83位のアミノ酸配列であることが更に好ましい。

30

【0042】

(F) は、配列番号2のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基を含むポリペプチドであればよく、配列番号2のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基からなるポリペプチドであることが好ましい。

40

【0043】

(G) は、配列番号2のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基において、1または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチドであればよく、配列番号2のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基において、1または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列からなり、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチドであることが好ましい。

【0044】

(H) は、配列番号2のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基と90

50

%以上の相同性を有するアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチドであればよく、配列番号2のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなる、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチドであることが好ましい。

【0045】

(G)において、1または数個のアミノ酸残基の変異は、アミノ酸配列中の1つの領域に存在していてもよいが、複数の異なる領域に存在していてもよい。用語「1または数個」は、マーカーペプチドの機能または特性を大きく損なわない範囲を示すものである。「1個または数個」とは、例えば、「1~41個」、「1~35個」、「1~30個」、「1~25個」、「1~20個」、「1~15個」、「1~10個」、「1~7個」、「1~5個」、「1個~3個」、「1個または2個」または「1個」をいう。

10

【0046】

(H)における相同性は、上記項目(1-1)において(C)に関し説明したのと同様である。

【0047】

(F)としては、例えば(F-1)~(F-15)が挙げられる：

(F-1)配列番号2のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基からなるポリペプチド；

(F-2)配列番号2のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基を含み、かつ、前記5個以上のアミノ酸残基にはアミノ酸残基番号59位~83位の少なくとも一部が含まれる、ポリペプチド；

20

(F-3)配列番号2のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基からなり、かつ、前記5個以上のアミノ酸残基にはアミノ酸残基番号59位~83位の少なくとも一部が含まれる、ポリペプチド；

(F-4)配列番号2のアミノ酸配列のうちのアミノ酸残基番号59位~83位から選ばれる連続する5個以上のアミノ酸残基を含むポリペプチド；

(F-5)配列番号2のアミノ酸配列のうちのアミノ酸残基番号59位~83位から選ばれる連続する5個以上のアミノ酸残基からなるポリペプチド；

(F-6)配列番号2のアミノ酸配列のうちのアミノ酸残基番号59位~83位を含むポリペプチド；

30

(F-7)配列番号2のアミノ酸配列のうちのアミノ酸残基番号59位~83位からなるポリペプチド；

(F-8)配列番号2のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基を含み、かつ、前記5個以上のアミノ酸残基にはアミノ酸残基番号17位~112位の少なくとも一部が含まれる、ポリペプチド；

(F-9)配列番号2のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基からなり、かつ、前記5個以上のアミノ酸残基にはアミノ酸残基番号17位~112位の少なくとも一部が含まれる、ポリペプチド；

(F-10)配列番号2のアミノ酸配列のうちのアミノ酸残基番号17位~112位から選ばれる連続する5個以上のアミノ酸残基を含むポリペプチド；

40

(F-11)配列番号2のアミノ酸配列のうちのアミノ酸残基番号17位~112位から選ばれる連続する5個以上のアミノ酸残基からなるポリペプチド；

(F-12)配列番号2のアミノ酸配列のうちのアミノ酸残基番号17位~112位を含むポリペプチド；

(F-13)配列番号2のアミノ酸配列のうちのアミノ酸残基番号17位~112位からなるポリペプチド；

(F-14)配列番号2のアミノ酸配列を含むポリペプチド；および

(F-15)配列番号2のアミノ酸配列からなるポリペプチド。

【0048】

(G)としては、例えば(G-1)~(G-15)が挙げられる：

50

(G - 1) 配列番号 2 のアミノ酸配列のうちの連続する 5 個以上のアミノ酸残基において、1 または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列からなり、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(G - 2) 配列番号 2 のアミノ酸配列のうちの連続する 5 個以上のアミノ酸残基であり、かつ、前記 5 個以上のアミノ酸残基にはアミノ酸残基番号 59 位～83 位の少なくとも一部が含まれるアミノ酸配列において、1 または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(G - 3) 配列番号 2 のアミノ酸配列のうちの連続する 5 個以上のアミノ酸残基であり、かつ、前記 5 個以上のアミノ酸残基にはアミノ酸残基番号 59 位～83 位の少なくとも一部が含まれるアミノ酸配列において、1 または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列からなり、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(G - 4) 配列番号 2 のアミノ酸配列のうちのアミノ酸残基番号 59 位～83 位から選ばれる連続する 5 個以上のアミノ酸残基において、1 または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(G - 5) 配列番号 2 のアミノ酸配列のうちのアミノ酸残基番号 59 位～83 位から選ばれる連続する 5 個以上のアミノ酸残基において、1 または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列からなり、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(G - 6) 配列番号 2 のアミノ酸配列のアミノ酸残基番号 59 位～83 位のアミノ酸配列において、1 または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(G - 7) 配列番号 2 のアミノ酸配列のアミノ酸残基番号 59 位～83 位のアミノ酸配列において、1 または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列からなり、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(G - 8) 配列番号 2 のアミノ酸配列のうちの連続する 5 個以上のアミノ酸残基であり、かつ、前記 5 個以上のアミノ酸残基にはアミノ酸残基番号 17 位～112 位の少なくとも一部が含まれるアミノ酸配列において、1 または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(G - 9) 配列番号 2 のアミノ酸配列のうちの連続する 5 個以上のアミノ酸残基であり、かつ、前記 5 個以上のアミノ酸残基にはアミノ酸残基番号 17 位～112 位の少なくとも一部が含まれるアミノ酸配列において、1 または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列からなり、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(G - 10) 配列番号 2 のアミノ酸配列のうちのアミノ酸残基番号 17 位～112 位から選ばれる連続する 5 個以上のアミノ酸残基において、1 または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(G - 11) 配列番号 2 のアミノ酸配列のうちのアミノ酸残基番号 17 位～112 位から選ばれる連続する 5 個以上のアミノ酸残基において、1 または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列からなり、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(G - 12) 配列番号 2 のアミノ酸配列のアミノ酸残基番号 17 位～112 位のアミノ酸配列において、1 または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(G - 13) 配列番号 2 のアミノ酸配列のアミノ酸残基番号 17 位～112 位のアミノ酸配列において、1 または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列

10

20

30

40

50

からなり、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(G-14) 配列番号2のアミノ酸配列において、1または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；および

(G-15) 配列番号2のアミノ酸配列において、1または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列からなり、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド。

【0049】

(H)としては、例えば(H-1)~(H-15)が挙げられる；

(H-1) 配列番号2のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなる、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(H-2) 配列番号2のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基であり、かつ、前記5個以上のアミノ酸残基にはアミノ酸残基番号59位~83位の少なくとも一部が含まれるアミノ酸配列と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(H-3) 配列番号2のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基であり、かつ、前記5個以上のアミノ酸残基にはアミノ酸残基番号59位~83位の少なくとも一部が含まれるアミノ酸配列と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなり、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(H-4) 配列番号2のアミノ酸配列のうちのアミノ酸残基番号59位~83位から選ばれる連続する5個以上のアミノ酸残基と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(H-5) 配列番号2のアミノ酸配列のうちのアミノ酸残基番号59位~83位から選ばれる連続する5個以上のアミノ酸残基と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなり、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(H-6) 配列番号2のアミノ酸配列のアミノ酸残基番号59位~83位のアミノ酸配列と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(H-7) 配列番号2のアミノ酸配列のアミノ酸残基番号59位~83位のアミノ酸配列と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなり、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(H-8) 配列番号2のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基であり、かつ、前記5個以上のアミノ酸残基にはアミノ酸残基番号17位~112位の少なくとも一部が含まれるアミノ酸配列と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(H-9) 配列番号2のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基であり、かつ、前記5個以上のアミノ酸残基にはアミノ酸残基番号17位~112位の少なくとも一部が含まれるアミノ酸配列と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなり、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(H-10) 配列番号2のアミノ酸配列のうちのアミノ酸残基番号17位~112位から選ばれる連続する5個以上のアミノ酸残基と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(H-11) 配列番号2のアミノ酸配列のうちのアミノ酸残基番号17位~112位から選ばれる連続する5個以上のアミノ酸残基と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなり、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(H-12) 配列番号2のアミノ酸配列のアミノ酸残基番号17位~112位のアミノ酸配列と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(H-13) 配列番号2のアミノ酸配列のアミノ酸残基番号17位~112位のアミノ酸

10

20

30

40

50

配列と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなり、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(H-14) 配列番号2のアミノ酸配列と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；および

(H-15) 配列番号2のアミノ酸配列と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなり、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド。

【0050】

(1-4) (I) ~ (J) について

(I) ~ (J) において、配列番号2のアミノ酸配列については、上記項目(1-3)にて説明したとおりである。

10

【0051】

(I) ~ (J) において、配列番号2のアミノ酸配列中にそれぞれの変異を有するアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基は、配列番号2のアミノ酸配列のうちの連続する10個以上のアミノ酸残基であることが好ましく、連続する15個以上のアミノ酸残基であることが好ましく、連続する20個以上のアミノ酸残基であることがより好ましく、連続する22個以上のアミノ酸残基であることが更に好ましく、連続する23個以上のアミノ酸残基であることが更により好ましく、連続する24個以上のアミノ酸残基であることがとりわけ好ましく、連続する25個以上のアミノ酸残基であることが特に好ましい。上限の規定は特にはなく、配列番号2のアミノ酸配列の全長(416残基)またはこれを超えていてもよいが、例えば、500個以下、400個以下、300個以下、200個以下、100個以下、90個以下、80個以下、70個以下、60個以下、50個以下、40個以下、30個以下である。

20

【0052】

(I) において、配列番号2のアミノ酸配列中、1または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列のうちの、連続する5個以上のアミノ酸残基を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチドであればよく、配列番号2のアミノ酸配列中、1または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列のうちの、連続する5個以上のアミノ酸残基からなり、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチドであることが好ましい。

30

【0053】

(J) は、配列番号2のアミノ酸配列と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列のうちの、連続する5個以上のアミノ酸残基を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチドであればよく、配列番号2のアミノ酸配列と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列のうちの、連続する5個以上のアミノ酸残基からなり、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチドであることが好ましい。

【0054】

(I) における1または数個のアミノ酸残基の変異は、上記項目(1-3)において(G)に関し説明したのと同様である。

【0055】

(J) における相同性は、上記項目(1-1)において(C)に関し説明したのと同様である。

40

【0056】

(F) ~ (J) からなる群から選ばれるペプチドとしては、(F-2) ~ (F-13)、(G-2) ~ (G-13) 及び(H-2) ~ (H-13) からなる群に含まれるペプチドが好ましく、(F-6)、(F-7)、(G-6)、(G-7)、(H-6) 及び(H-7) からなる群に含まれるペプチドがより好ましく、(F-7)、(G-7) 及び(H-7) からなる群から選ばれるペプチドが更に好ましく、(F-7) のペプチドが更により好ましい。

【0057】

(1-5) (K) ~ (M) について

50

(K) ~ (M)において、配列番号3のアミノ酸配列は、Basic salivary proline-rich protein 1をコードするアミノ酸配列であり(全長392アミノ酸)、アクセッション番号P04280.2でデータベースに登録されている。

【0058】

(K) ~ (M)において、配列番号3のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基は、配列番号3のアミノ酸配列のうちの連続する6個以上のアミノ酸残基であることが好ましく、連続する7個以上のアミノ酸残基であることがより好ましい。上限の規定は特にはなく、配列番号3のアミノ酸配列の全長(392残基)またはこれを超えていてもよいが、例えば、500個以下、400個以下、300個以下、200個以下、100個以下、90個以下、80個以下、70個以下、60個以下、50個以下、40個以下、30個以下、20個以下、10個以下である。

10

【0059】

(K) ~ (M)において、配列番号3のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基において、5個以上のアミノ酸残基にはアミノ酸残基番号275位~392位の少なくとも一部が含まれることが好ましく、アミノ酸残基番号337位~343位の少なくとも一部が含まれることがより好ましい。5個以上のアミノ酸残基が配列番号3のアミノ酸残基番号275位~392位の中の連続する5個以上のアミノ酸残基であることが更に好ましく、アミノ酸残基番号337位~343位の中の連続する5個以上のアミノ酸残基であることが更に好ましい。配列番号3のアミノ酸残基番号275位~392位は、Basic peptide IB-6である。5個以上のアミノ酸残基が配列番号3のアミノ酸残基番号337位~343位のアミノ酸配列であること、配列番号3のアミノ酸残基番号275位~392位のアミノ酸配列であること、または配列番号3のアミノ酸配列であることが好ましく、配列番号3のアミノ酸残基番号337位~343位のアミノ酸配列であることまたは配列番号3のアミノ酸残基番号275位~392位のアミノ酸配列であることがより好ましく、配列番号3のアミノ酸残基番号337位~343位のアミノ酸配列であることが更に好ましい。

20

【0060】

(K)は、配列番号3のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基を含むポリペプチドであればよく、配列番号3のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基からなるポリペプチドであることが好ましい。

30

【0061】

(L)は、配列番号3のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基において、1または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチドであればよく、配列番号3のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基において、1または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列からなり、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチドであることが好ましい。

【0062】

(M)は、配列番号3のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチドであればよく、配列番号3のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなる、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチドであることが好ましい。

40

【0063】

(L)において、1または数個のアミノ酸残基の変異は、アミノ酸配列中の1つの領域に存在していてもよいが、複数の異なる領域に存在していてもよい。用語「1または数個」は、マーカーペプチドの機能または特性を大きく損なわない範囲を示すものである。「1個または数個」とは、例えば、「1~39個」、「1~35個」、「1~30個」、「1~25個」、「1~20個」、「1~15個」、「1~10個」、「1~7個」、「1

50

～ 5 個」、「1 個～ 3 個」、「1 個または 2 個」または「1 個」をいう。

【 0 0 6 4 】

(M) における相同性は、上記項目 (1 - 1) において (C) に関し説明したのと同様である。

【 0 0 6 5 】

(K) としては、例えば (K - 1) ～ (K - 1 5) が挙げられる：

(K - 1) 配列番号 3 のアミノ酸配列のうちの連続する 5 個以上のアミノ酸残基からなるポリペプチド；

(K - 2) 配列番号 3 のアミノ酸配列のうちの連続する 5 個以上のアミノ酸残基を含み、かつ、前記 5 個以上のアミノ酸残基にはアミノ酸残基番号 3 3 7 位～ 3 4 3 位の少なくとも一部が含まれる、ポリペプチド；

(K - 3) 配列番号 3 のアミノ酸配列のうちの連続する 5 個以上のアミノ酸残基からなり、かつ、前記 5 個以上のアミノ酸残基にはアミノ酸残基番号 3 3 7 位～ 3 4 3 位の少なくとも一部が含まれる、ポリペプチド；

(K - 4) 配列番号 3 のアミノ酸配列のうちのアミノ酸残基番号 3 3 7 位～ 3 4 3 位から選ばれる連続する 5 個以上のアミノ酸残基を含むポリペプチド；

(K - 5) 配列番号 3 のアミノ酸配列のうちのアミノ酸残基番号 3 3 7 位～ 3 4 3 位から選ばれる連続する 5 個以上のアミノ酸残基からなるポリペプチド；

(K - 6) 配列番号 3 のアミノ酸配列のうちのアミノ酸残基番号 3 3 7 位～ 3 4 3 位を含むポリペプチド；

(K - 7) 配列番号 3 のアミノ酸配列のうちのアミノ酸残基番号 3 3 7 位～ 3 4 3 位からなるポリペプチド；

(K - 8) 配列番号 3 のアミノ酸配列のうちの連続する 5 個以上のアミノ酸残基を含み、かつ、前記 5 個以上のアミノ酸残基にはアミノ酸残基番号 2 7 5 位～ 3 9 2 位の少なくとも一部が含まれる、ポリペプチド；

(K - 9) 配列番号 3 のアミノ酸配列のうちの連続する 5 個以上のアミノ酸残基からなり、かつ、前記 5 個以上のアミノ酸残基にはアミノ酸残基番号 2 7 5 位～ 3 9 2 位の少なくとも一部が含まれる、ポリペプチド；

(K - 1 0) 配列番号 3 のアミノ酸配列のうちのアミノ酸残基番号 2 7 5 位～ 3 9 2 位から選ばれる連続する 5 個以上のアミノ酸残基を含むポリペプチド；

(K - 1 1) 配列番号 3 のアミノ酸配列のうちのアミノ酸残基番号 2 7 5 位～ 3 9 2 位から選ばれる連続する 5 個以上のアミノ酸残基からなるポリペプチド；

(K - 1 2) 配列番号 3 のアミノ酸配列のうちのアミノ酸残基番号 2 7 5 位～ 3 9 2 位を含むポリペプチド；

(K - 1 3) 配列番号 3 のアミノ酸配列のうちのアミノ酸残基番号 2 7 5 位～ 3 9 2 位からなるポリペプチド；

(K - 1 4) 配列番号 3 のアミノ酸配列を含むポリペプチド；および

(K - 1 5) 配列番号 3 のアミノ酸配列からなるポリペプチド。

【 0 0 6 6 】

(L) としては、例えば (L - 1) ～ (L - 1 5) が挙げられる：

(L - 1) 配列番号 3 のアミノ酸配列のうちの連続する 5 個以上のアミノ酸残基において、1 または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列からなり、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(L - 2) 配列番号 3 のアミノ酸配列のうちの連続する 5 個以上のアミノ酸残基であり、かつ、前記 5 個以上のアミノ酸残基にはアミノ酸残基番号 3 3 7 位～ 3 4 3 位の少なくとも一部が含まれるアミノ酸配列において、1 または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(L - 3) 配列番号 3 のアミノ酸配列のうちの連続する 5 個以上のアミノ酸残基であり、かつ、前記 5 個以上のアミノ酸残基にはアミノ酸残基番号 3 3 7 位～ 3 4 3 位の少なくとも

10

20

30

40

50

も一部が含まれるアミノ酸配列において、1または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列からなり、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(L-4) 配列番号3のアミノ酸配列のうちのアミノ酸残基番号337位～343位から選ばれる連続する5個以上のアミノ酸残基において、1または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(L-5) 配列番号3のアミノ酸配列のうちのアミノ酸残基番号337位～343位から選ばれる連続する5個以上のアミノ酸残基において、1または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列からなり、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(L-6) 配列番号3のアミノ酸配列のアミノ酸残基番号337位～343位のアミノ酸配列において、1または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(L-7) 配列番号3のアミノ酸配列のアミノ酸残基番号337位～343位のアミノ酸配列において、1または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列からなり、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(L-8) 配列番号3のアミノ酸配列のうち連続する5個以上のアミノ酸残基であり、かつ、前記5個以上のアミノ酸残基にはアミノ酸残基番号275位～392位の少なくとも一部が含まれるアミノ酸配列において、1または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(L-9) 配列番号3のアミノ酸配列のうち連続する5個以上のアミノ酸残基であり、かつ、前記5個以上のアミノ酸残基にはアミノ酸残基番号275位～392位の少なくとも一部が含まれるアミノ酸配列において、1または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列からなり、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(L-10) 配列番号3のアミノ酸配列のうちのアミノ酸残基番号275位～392位から選ばれる連続する5個以上のアミノ酸残基において、1または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(L-11) 配列番号3のアミノ酸配列のうちのアミノ酸残基番号275位～392位から選ばれる連続する5個以上のアミノ酸残基において、1または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列からなり、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(L-12) 配列番号3のアミノ酸配列のアミノ酸残基番号275位～392位のアミノ酸配列において、1または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(L-13) 配列番号3のアミノ酸配列のアミノ酸残基番号275位～392位のアミノ酸配列において、1または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列からなり、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(L-14) 配列番号3のアミノ酸配列において、1または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；および

(L-15) 配列番号3のアミノ酸配列において、1または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列からなり、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド。

【0067】

(M)としては、例えば(M-1)～(M-15)が挙げられる；

(M-1) 配列番号3のアミノ酸配列のうち連続する5個以上のアミノ酸残基と90%

10

20

30

40

50

以上の相同性を有するアミノ酸配列からなる、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(M-2) 配列番号3のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基であり、かつ、前記5個以上のアミノ酸残基にはアミノ酸残基番号337位~343位の少なくとも一部が含まれるアミノ酸配列と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(M-3) 配列番号3のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基であり、かつ、前記5個以上のアミノ酸残基にはアミノ酸残基番号337位~343位の少なくとも一部が含まれるアミノ酸配列と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなり、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(M-4) 配列番号3のアミノ酸配列のうちのアミノ酸残基番号337位~343位から選ばれる連続する5個以上のアミノ酸残基と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(M-5) 配列番号3のアミノ酸配列のうちのアミノ酸残基番号337位~343位から選ばれる連続する5個以上のアミノ酸残基と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなり、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(M-6) 配列番号3のアミノ酸配列のアミノ酸残基番号337位~343位のアミノ酸配列と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(M-7) 配列番号3のアミノ酸配列のアミノ酸残基番号337位~343位のアミノ酸配列と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなり、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(M-8) 配列番号3のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基であり、かつ、前記5個以上のアミノ酸残基にはアミノ酸残基番号275位~392位の少なくとも一部が含まれるアミノ酸配列と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(M-9) 配列番号3のアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基であり、かつ、前記5個以上のアミノ酸残基にはアミノ酸残基番号275位~392位の少なくとも一部が含まれるアミノ酸配列と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなり、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(M-10) 配列番号3のアミノ酸配列のうちのアミノ酸残基番号275位~392位から選ばれる連続する5個以上のアミノ酸残基と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(M-11) 配列番号3のアミノ酸配列のうちのアミノ酸残基番号275位~392位から選ばれる連続する5個以上のアミノ酸残基と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなり、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(M-12) 配列番号3のアミノ酸配列のアミノ酸残基番号275位~392位のアミノ酸配列と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(M-13) 配列番号3のアミノ酸配列のアミノ酸残基番号275位~392位のアミノ酸配列と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなり、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；

(M-14) 配列番号3のアミノ酸配列と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド；および

(M-15) 配列番号3のアミノ酸配列と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなり、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチド。

【0068】

(1-6)(N)~(O)について

(N)~(O)において、配列番号3のアミノ酸配列については、上記項目(1-5)にて説明したとおりである。

10

20

30

40

50

【0069】

(N)～(O)において、配列番号3のアミノ酸配列中にそれぞれの変異を有するアミノ酸配列のうちの連続する5個以上のアミノ酸残基は、連続する6個以上のアミノ酸残基であることが好ましく、連続する7個以上のアミノ酸残基であることがより好ましい。上限の規定は特にはなく、配列番号3のアミノ酸配列の全長(392残基)またはこれを超えていてもよいが、例えば、500個以下、400個以下、300個以下、200個以下、100個以下、90個以下、80個以下、70個以下、60個以下、50個以下、40個以下、30個以下、20個以下、10個以下である。

【0070】

(N)において、配列番号3のアミノ酸配列中、1または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列のうちの、連続する5個以上のアミノ酸残基を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチドであればよく、配列番号3のアミノ酸配列中、1または数個のアミノ酸が欠失、付加、置換または挿入したアミノ酸配列のうちの、連続する5個以上のアミノ酸残基からなり、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチドであることが好ましい。

10

【0071】

(O)は、配列番号3のアミノ酸配列と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列のうちの、連続する5個以上のアミノ酸残基を含み、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチドであればよく、配列番号3のアミノ酸配列と90%以上の相同性を有するアミノ酸配列のうちの、連続する5個以上のアミノ酸残基からなり、高血糖リスク判定用マーカーとして用い得るポリペプチドであることが好ましい。

20

【0072】

(N)における1または数個のアミノ酸残基の変異は、上記項目(1-5)において(L)に関し説明したのと同様である。

【0073】

(O)における相同性は、上記項目(1-1)において(C)に関し説明したのと同様である。

【0074】

(K)～(O)からなる群から選ばれるペプチドとしては、(K-2)～(K-13)、(L-2)～(L-13)及び(M-2)～(M-13)からなる群に含まれるペプチドが好ましく、(K-6)、(K-7)、(L-6)、(L-7)、(M-6)及び(M-7)からなる群に含まれるペプチドがより好ましく、(K-7)、(L-7)及び(M-7)からなる群から選ばれるペプチドが更に好ましく、(K-7)のペプチドが更に好ましい。

30

【0075】

(2)本発明の抗体またはアプタマー

本発明の抗体またはアプタマーは、上記本発明の高血糖リスク判定用マーカーペプチドに結合する抗体またはアプタマーである。

【0076】

本発明の抗体またはアプタマーを用いることにより、上記本発明の高血糖リスク判定用マーカーペプチドの量または有無を測定することができ、高血糖リスクの判定が可能である。すなわち、被験者から採取された生体試料を本発明の抗体またはアプタマーに作用させた際に、抗体またはアプタマーに結合した上記マーカーペプチドの量が、健常者から採取された生体試料を本発明の抗体またはアプタマーに作用させた際に、抗体またはアプタマーに結合した上記マーカーペプチドの量が高い場合には、高血糖リスクが高いと判定される。

40

【0077】

抗体またはアプタマーは、常法により作製することができる。

【0078】

本発明の抗体またはアプタマーを用いてペプチドの量または有無を測定する際の例を以

50

下に示す。まず抗体またはアプタマーをマイクロタイタープレート等の担体に、物理的吸着、官能基を利用した共有結合等、公知の方法により吸着させた後、生体試料を必要に応じて希釈後に添加してインキュベーションする。次に蛍光発光物質、化学発光物質または酵素を結合させた2次抗体を加えインキュベーションする。検出はそれぞれの基質を加えた後、蛍光もしくは化学発光物質または酵素反応による可視光を計測することによって評価判定を行う。

【0079】

本発明の高血糖リスク判定用マーカーペプチドは、高血糖リスクを有する被験者から採取された生体試料において検出可能なレベルで存在するペプチドである。よって、本発明のマーカーペプチドの存在を指標に、高血糖リスクを判定することができる。

10

【0080】

(3) 本発明のマイクロアレイ

本発明のマイクロアレイは、上記本発明の記載の高血糖リスク判定用マーカーペプチドに結合する抗体またはアプタマーが固相化されているマイクロアレイである。

【0081】

マイクロアレイとは、担体（基材）上に測定しようとする物質に結合し得る物質を整列し固定化させたデバイスを総称していう。マイクロアレイの担体の材料としては、ガラスなどの無機材料、ニトロセルロースなどの有機材料のいずれであってもよい。マイクロアレイの担体の形状としては、膜、ビーズ、プレートのいずれであってもよい。

20

【0082】

本発明のマイクロアレイは、上記項目(2)にて説明した抗体またはアプタマーを担体に固定化して製造することができる。固定化の際には、マイクロアレイヤー、スポッター等の機器を用いることができる。

【0083】

本発明マイクロアレイを用いることにより、上記本発明の高血糖リスク判定用マーカーペプチドの量または有無を測定することができ、高血糖リスクの判定が可能である。すなわち、被験者から採取された生体試料を本発明のマイクロアレイに作用させた際に、マイクロアレイ上の抗体またはアプタマーに結合した上記マーカーペプチドの量が、健常者から採取された生体試料を本発明のマイクロアレイに作用させた際に、マイクロアレイ上の抗体またはアプタマーに結合した上記マーカーペプチドの量が高い場合には、高血糖リスクが高いと判定される。

30

【0084】

本発明のマイクロアレイを用いるマーカーペプチドの量の測定例を以下に示す。まず、マイクロアレイ上に、固相化された抗体またはアプタマーに、生体試料を添加し、生体試料中のマーカーペプチドを結合させ、次に蛍光発光物質、化学発光物質、または酵素を結合させた2次抗体を加えインキュベーションする。検出はそれぞれの基質を加えた後、蛍光もしくは化学発光物質または酵素反応による可視光を計測すればよい。

【0085】

(4) 本発明の判定方法

本発明の高血糖リスクの判定方法は、被験者から採取された生体試料における、請求項1に記載の高血糖リスク判定用マーカーペプチドの量または有無を測定する方法である。

40

【0086】

高血糖リスク判定用マーカーペプチドの量から高血糖リスクを判定するに当たっては、通常は、参照値との比較を行う。参照値としては、例えば、健常者（本発明の判定方法以外の手段で確実に健常者であることが予め確認されていることが好ましい）から採取された生体試料における当該マーカーペプチドの量、高血糖者（本発明の判定方法以外の手段で確実に高血糖者であることが予め確認されていることが好ましい）から採取された生体試料における当該マーカーペプチドの量が挙げられるが、このうち、前者が好ましい。

【0087】

参照値が健常者の値である場合、被験者から採取された生体試料における高血糖リスク

50

判定用マーカーペプチドの量が、健常者から採取された生体試料における当該マーカーペプチドの量と比べて低い場合に高血糖リスクが高いと判定される。

【0088】

参照値が高血糖者の値である場合、被験者から採取された生体試料における高血糖リスク判定用マーカーペプチドの量が、高血糖者から採取された生体試料における当該マーカーペプチドの量と比べて同一または低い場合に高血糖リスクが高いと判定される。

【0089】

本発明の判定方法においては、被験者から採取された生体試料における、上記高血糖リスク判定用マーカーペプチドの量が、健常者から採取された生体試料における当該量に比べて低い場合には、高血糖リスクが高いと判定する。一方、被験者から採取された生体試料における、上記高血糖リスク判定用マーカーペプチドの量が、健常者から採取された生体試料における当該量に比べて同一または高い場合には、高血糖リスクが低いと判定する。

10

【0090】

生体試料としては、例えば、唾液、血液（全血、血漿、血清など）、尿、涙等の体液が挙げられる。このうち非侵襲的かつ常時採取可能な生体試料が好ましく、唾液がより好ましい。唾液は、家庭での判断に用いる検体としても好適である。唾液は、非刺激唾液と刺激唾液とがあるが、刺激唾液が好ましい。刺激唾液は、パラフィンガムを咀嚼することにより容易に採取することができる。唾液を用いることにより、定期的な血糖状態を把握することが容易となり、高血糖症、糖尿病などの疾患への罹患率低下、健康維持につなげることができるので好ましい。

20

【0091】

本発明の判定方法において、高血糖リスク判定用マーカーペプチドの量の測定は、例えば、上記抗体またはアプタマーを用いる免疫測定法、上記マイクロアレイを用いる免疫測定法、質量分析法、RIA（ラジオイムノアッセイ）、ELISA（酵素結合免疫吸着法）、ECLIA（電気化学発光免疫測定法）などによっても可能である。抗体またはアプタマーを用いる免疫測定法については項目（2）において既に述べたとおりである。マイクロアレイを用いる免疫測定法については項目（3）において既に述べたとおりである。

【0092】

質量分析法による測定の際には各種の質量分析装置を利用することができる。質量分析装置としては、例えば、GC-MS、LC-MS、FAB-MS、EI-MS、CI-MS、FD-MS、MALDI-MS、ESI-MS、HPLC-MS、FT-ICR-MS、CE-MS、ICP-MS、Py-MS、TOF-MSなどが挙げられ、これらのいずれも利用可能である。

30

【0093】

判定においては、2つ以上の高血糖罹患リスク判定用マーカーペプチドの量を変数とする多変量解析を行ってもよい。多変量解析としては例えば、ロジスティック回帰分析、重回帰分析、主成分分析、独立成分分析、因子分析、判別分析、数量化理論、クラスター分析、コンジョイント分析および多次元尺度構成法（MDS）が挙げられるが、中でもロジスティック回帰分析が好ましい。

40

【0094】

本発明の判定方法は、被験者の高血糖性に関する体質を評価するのに好適である。本発明の判定方法は、被験者の高血糖に罹患するリスクの有無を評価できるので、予防医学的な利用も可能である。さらに、高血糖リスクのある被験者に高血糖の治療または予防措置を行った場合、高血糖や高血糖を伴う疾患（高血糖症、糖尿病など）への罹患リスクは低下する方向に進み、それに応じてマーカーペプチドの量も低下する。従って、治療または予防措置を進めると共にマーカーペプチドの量または有無を測定することにより、治療または予防措置の評価判定を行うこともできる。従って、本発明のペプチドは、薬剤の投与効果などの治療または予防効果を判定するためのバイオマーカーともなり得る。同様に、本発明の判定方法は、高血糖治療用の薬剤の投与効果などの治療または予防効果を判定す

50

る方法としても有用である。

【0095】

(5) 本発明のキット

本発明の高血糖リスク判定用キットは、上記抗体またはアプタマー、もしくは、上記マイクロアレイを含む。

【0096】

本発明のキットは、更にガムを含むことが好ましい。これにより、生体試料としての刺激唾液の採取が容易となる。ガムは、刺激唾液採取用に通常用いられているガム（パラフィンガムなど）であればよい。

【実施例】

【0097】

実施例1

唾液中の各ペプチド断片の発現量比較

<評価方法>

(1) 唾液検体採取

以下の特徴を持つ被験者より、刺激唾液（パラフィンガムを噛むことにより唾液分泌促進を行った唾液）を採取した。

高血糖者群：空腹時血糖が110mg/dL以上および/またはヘモグロビンが5.8%以上（n=8）

健常者群：空腹時血糖が110mg/dL未満かつヘモグロビンが5.8%未満（n=32）

【0098】

(2) メタボローム解析による唾液中成分の網羅的解析

採取した唾液を遠心分離にかけて夾雑物を除き、上清をLC-MS（Positive/Negative）、CE-MS（Positive/Negative）に供した。Rt値、Ms値から唾液成分を同定した。

【0099】

<評価結果>

唾液メタボローム解析の結果、配列番号1のアミノ酸配列のうちのアミノ酸残基番号25～39のアミノ酸配列からなるペプチド、配列番号2のアミノ酸配列のうちのアミノ酸残基番号59～83のアミノ酸配列からなるペプチド、及び配列番号3のアミノ酸配列のうちのアミノ酸残基番号337～343のアミノ酸配列からなるペプチドのピークが、高血糖群において有意に低下することが認められた。タンパク質データベース検索の結果、配列番号1のアミノ酸配列はCystatin-SNのアミノ酸配列であり、配列番号2のアミノ酸配列はBasic Salivary prolin-rich protein 2のアミノ酸配列であり、配列番号3のアミノ酸配列はBasic Salivary prolin-rich protein 1のアミノ酸配列であり、上記の各ペプチドはそれぞれの断片であることが判明した。各被験者群の各ペプチドのピーク強度を図1～3および表1～3に示す。各群の有意差検定結果を表1～3に示す。各表中の*は検定の結果有意差があったことを示す。

【0100】

【表1】

表1 Cystatin-SNペプチド(配列番号1)断片のピーク強度の平均値と有意差検定結果(Wilcoxon検定)

被験者群	ピーク強度	有意差検定結果 (対健常者)
健常者群	22.6	—
高血糖者群	0.0	0.0058*

【0101】

【表 2】

表2 Basic Salivary prolin-rich protein 2(配列番号2)断片のピーク強度の
平均値と有意差検定結果(Wilcoxon検定)

被験者群	ピーク強度	有意差検定結果 (対健常者)
健常者群	42.4	—
高血糖者群	7.0	0.0350*

【0102】

【表 3】

表3 Basic Salivary prolin-rich protein 1(配列番号3)断片のピーク強度の
平均値と有意差検定結果(Student's-t 検定)

被験者群	ピーク強度	有意差検定結果 (対健常者)
健常者群	105.4	—
高血糖者群	25.4	0.0426*

10

【0103】

図1および表1に示すとおり、Cystatin-SNペプチド断片のピーク強度は健常者群と比較して、高血糖者群で有意差をもって低下することが示された。このことは、健常者群のピーク強度である22.6を下回った場合に、高血糖リスクが高いと判定され得ることを示すものである。

20

【0104】

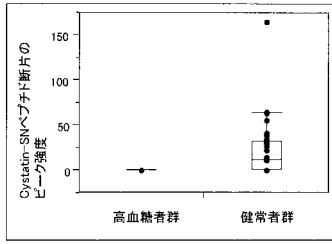
図2および表2に示すとおり、Basic Salivary prolin-rich protein 2ペプチド断片のピーク強度は、健常者群と比較して、高血糖者群で有意差をもって低下することが示された。このことは、健常者群のピーク強度である42.4を下回った場合に、高血糖リスクが高いと判定され得ることを示すものである。

【0105】

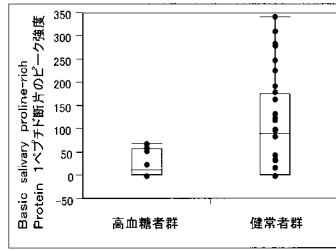
図3および表3に示すとおり、Basic Salivary prolin-rich protein 1ペプチド断片のピーク強度は、健常者群と比較して、高血糖者群で有意差をもって低下することが示された。このことは、健常者群のピーク強度である105.4を下回った場合に、高血糖リスクが高いと判定され得ることを示すものである。

30

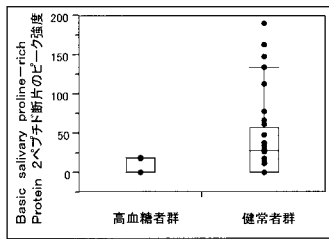
【 図 1 】



【 図 3 】



【 図 2 】



【 配列表 】

201412217000001.app

フロントページの続き

(51) Int. Cl.			F I			テーマコード (参考)
<i>C 1 2 N</i>	<i>15/09</i>	<i>(2006.01)</i>	<i>C 1 2 N</i>	<i>15/00</i>		F
<i>C 1 2 M</i>	<i>1/00</i>	<i>(2006.01)</i>	<i>C 1 2 M</i>	<i>1/00</i>		A

专利名称(译)	用于判断高血糖风险的标记肽及其用途		
公开(公告)号	JP2014122170A	公开(公告)日	2014-07-03
申请号	JP2012278388	申请日	2012-12-20
[标]申请(专利权)人(译)	狮王株式会社		
申请(专利权)人(译)	狮公司		
[标]发明人	内山千代子 栗田啓		
发明人	内山 千代子 栗田 啓		
IPC分类号	C07K14/47 G01N37/00 G01N33/53 C07K16/18 C12N15/115 C12N15/09 C12M1/00		
CPC分类号	C07K14/47 G01N33/6893 G01N2333/47 G01N2333/8139 G01N2800/042 G01N2800/50 G01N33/68		
FI分类号	C07K14/47.ZNA G01N37/00.102 G01N33/53.D C07K16/18 C12N15/00.H C12N15/00.F C12M1/00.A C12N15/00.A C12N15/09.200 C12N15/115.Z G01N27/62.V G01N33/50.G		
F-TERM分类号	4B024/AA11 4B024/CA01 4B024/CA09 4B024/HA12 4B024/HA14 4B029/AA07 4B029/BB17 4B029/BB20 4B029/CC03 4B029/FA12 4H045/AA10 4H045/AA30 4H045/BA14 4H045/BA17 4H045/BA18 2G045/AA25 2G045/CB07 2G045/DA36 2G045/FA36 2G045/FB03		
代理人(译)	酒井宏明		
其他公开文献	JP6196034B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明的目的是提供一种能够准确地确定生物体内高血糖风险的标记物。本发明提供以下发明：用于高血糖风险确定的标志物肽；与用于高血糖风险确定的标志物肽结合的抗体或适体；与用于高血糖风险确定的标志物肽结合的抗体。或者，将适体固定在载体，微阵列上；在从受试者收集的生物学样品中，测量用于确定高血糖风险的标志物肽的量或存在，以及用于确定高血糖风险的方法；以及抗体或评估高血糖风险的试剂盒，其包含适体或微阵列。[选择图]无

(Wilcoxon検定)

被験者群	ピーク強度	有意差検定結果 (对健常者)
健常者群	22.6	-
高血糖者群	0.0	0.0058*