

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マコード [*] (参考)
C 1 2 N 15/09	ZNA	A 6 1 K 31/711	2 G 0 4 5
A 6 1 K 31/711		35/76	4 B 0 2 4
35/76		39/395	D 4 B 0 5 0
38/00			P 4 B 0 6 3
39/395		45/00	4 B 0 6 4
審査請求 未請求 請求項の数 25 O L (全 13数) 最終頁に続く			

(21)出願番号	特願2000 - 84673(P2000 - 84673)	(71)出願人	000002831 第一製薬株式会社 東京都中央区日本橋3丁目14番10号
(22)出願日	平成12年3月22日(2000.3.22)	(72)発明者	横田 博 東京都江戸川区北葛西一丁目16番13号 第一製薬株式会社東京研究開発センター内
		(72)発明者	佐藤 一紀 東京都江戸川区北葛西一丁目16番13号 第一製薬株式会社東京研究開発センター内
		(72)発明者	鈴木 伸之 東京都江戸川区北葛西一丁目16番13号 第一製薬株式会社東京研究開発センター内
		最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 βアミロイドにより誘導できる遺伝子

(57)【要約】

【課題】βアミロイド処理により発現が誘導もしくは抑制される新規遺伝子を見出し、アルツハイマー病などの神経疾患を制御すること。

【解決手段】βアミロイド処理により発現が誘導される新規遺伝子をcDNAサブトラクション法により取得する方法、該方法により得られた新規DNA、該DNAがコードするポリペプチド、該DNAを含有する組み換えベクター、該組み換えベクターを有する形質転換体、当該ポリペプチドに対する抗体、当該ポリペプチドの製造法、上記のものを利用したプロスタグランジンE合成酵素の遺伝子発現、酵素活性を調節する化合物のスクリーニング法、該方法で選別される化合物を提供し、さらに、これらを利用してβアミロイドに関連した神経疾患に用いる医薬組成物・診断手段を提供する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】βアミロイド処理アストログリア細胞と未処理細胞を用いてサブトラクション処理することにより、βアミロイドにより発現が誘導または抑制される遺伝子を取得する方法。

【請求項 2】βアミロイド処理アストログリア細胞と未処理細胞を用いて cDNA サブトラクション処理することにより、βアミロイドにより発現が誘導または抑制される遺伝子を取得する方法。

【請求項 3】βアミロイド処理ラットアストログリア細胞と未処理細胞を用いて cDNA サブトラクション処理することにより、βアミロイドにより発現が誘導または抑制される遺伝子を取得する方法。

【請求項 4】請求項 1 から 3 のいずれか 1 項に記載の取得方法で得られる DNA 群。

【請求項 5】下記の群より選ばれる DNA またはその相補鎖；

配列表の配列番号 1 に記載の DNA 配列で示される DNA、

配列表の配列番号 1 に記載の DNA 配列を含有する DNA、

前記の DNA と少なくとも約 70% の DNA 配列上の相同性を有し、かつプロスタグランジン E 合成酵素活性を有するポリペプチドをコードする DNA、および

前記から DNA の DNA 配列において 1 ないし数個の DNA の欠失、置換、付加などの変異あるいは誘発変異を有し、かつプロスタグランジン E 合成酵素活性を有するポリペプチドをコードする DNA。

【請求項 6】請求項 5 に記載の DNA またはその相補鎖とストリンジェントな条件下でハイブリダイゼーションし、かつプロスタグランジン E 合成酵素活性を有するポリペプチドをコードする DNA。

【請求項 7】請求項 5 または 6 に記載の DNA がコードするポリペプチド。

【請求項 8】請求項 5 または 6 に記載の DNA またはその相補鎖を含有する組換えベクター。

【請求項 9】請求項 8 に記載の組換えベクターを用いて形質転換した形質転換体。

【請求項 10】大腸菌 *E. coli* 437 (FERM BP-7074 号)。

【請求項 11】大腸菌 *E. coli* 437 (FERM BP-7074 号) が保持するプラスミド p437。

【請求項 12】請求項 9 に記載の形質転換体を培養する工程を含む、請求項 7 に記載のポリペプチドの製造方法。

【請求項 13】請求項 7 に記載のポリペプチドを免疫学的に認識する抗体。

【請求項 14】プロスタグランジン E 合成酵素の活性および/またはプロスタグランジン E 合成酵素遺伝子の発現を調節する化合物のスクリーニング方法であって、請

求項 5 または 6 に記載の DNA またはその相補鎖、請求項 7 に記載のポリペプチド、請求項 8 に記載の組換えベクター、請求項 9 に記載の形質転換体または請求項 13 に記載の抗体のうち、少なくともいずれか 1 つを用いることを特徴とするスクリーニング方法。

【請求項 15】請求項 14 に記載のスクリーニング方法により選別される化合物。

【請求項 16】請求項 14 に記載のスクリーニング方法により選別されるプロスタグランジン E 合成酵素阻害剤。

【請求項 17】請求項 5 または 6 に記載の DNA またはその相補鎖、請求項 7 に記載のポリペプチド、請求項 8 に記載の組換えベクター、請求項 9 に記載の形質転換体、請求項 13 に記載の抗体、請求項 15 に記載の化合物または請求項 16 に記載の阻害剤のうち、少なくともいずれか 1 つを含有することを特徴とする医薬組成物。

【請求項 18】請求項 5 または 6 に記載の DNA またはその相補鎖、請求項 7 に記載のポリペプチド、請求項 8 に記載の組換えベクター、請求項 9 に記載の形質転換体、請求項 13 に記載の抗体、請求項 15 に記載の化合物または請求項 16 に記載の阻害剤のうち、少なくともいずれか 1 つを含有することを特徴とするプロスタグランジン E 合成酵素に関連した疾病の予防/治療に用いる医薬組成物。

【請求項 19】請求項 5 または 6 に記載の DNA またはその相補鎖、請求項 7 に記載のポリペプチド、請求項 8 に記載の組換えベクター、請求項 9 に記載の形質転換体、請求項 13 に記載の抗体、請求項 15 に記載の化合物または請求項 16 に記載の阻害剤のうち少なくともいずれか 1 つを含有することを特徴とする神経細胞死の予防/治療剤。

【請求項 20】請求項 5 または 6 に記載の DNA またはその相補鎖、請求項 7 に記載のポリペプチド、請求項 8 に記載の組換えベクター、請求項 9 に記載の形質転換体、請求項 13 に記載の抗体、請求項 15 に記載の化合物または請求項 16 に記載の阻害剤のうち少なくともいずれか 1 つを含有することを特徴とするアルツハイマー病の予防/治療剤。

【請求項 21】請求項 5 または 6 に記載の DNA またはその相補鎖、請求項 7 に記載のポリペプチド、請求項 8 に記載の組換えベクター、請求項 9 に記載の形質転換体、請求項 13 に記載の抗体、請求項 15 に記載の化合物または請求項 16 に記載の阻害剤のうち少なくともいずれか 1 つを含有することを特徴とする疾病の診断手段。

【請求項 22】プロスタグランジン E 合成酵素の遺伝子発現量および/または酵素活性を測定する工程を含む神経細胞死の診断手段。

【請求項 23】プロスタグランジン E 合成酵素の遺伝子発現量および/または酵素活性を測定する工程を含むア

ルツハイマー病の診断手段。

【請求項 24】プロスタグランジン E 合成酵素阻害剤を含有する神経細胞死の予防 / 治療剤。

【請求項 25】プロスタグランジン E 合成酵素阻害剤を含有するアルツハイマー病の予防 / 治療剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、アルツハイマー病に
与する蛋白質 β アミロイドにより、発現が誘導もしくは
抑制される遺伝子を得る方法および、その方法により得
られた新規遺伝子に関するものである。さらに詳しく
は、新規遺伝子の DNA 配列を有する DNA、該 DNA
がコードするポリペプチド、該 DNA を含有する組換え
ベクター、該組換えベクターで形質転換された形質転換
体、該形質転換体を用いたポリペプチドの製造方法、該
ポリペプチドに対する抗体、これらを利用した化合物の
スクリーニング方法、該スクリーニング方法により選別
される化合物、該ポリペプチドもしくは該 DNA に作用
する該ポリペプチドの活性および / または発現の阻害
剤、これらに係る医薬組成物、およびこれらに係る
20 する疾病の診断手段に関する。

【0002】

【従来の技術】 β アミロイドは、アルツハイマー病患者
の脳で観察される老人斑の構成因子であり、アルツハイ
マー病の初期発症段階において最も重要な意味を持つ因
子と考えられている。 β アミロイドは、 β アミロイド前
駆体が、ある種のプロテアーゼによりプロセッシングを受
けることにより生成し、不溶性の β シート構造の凝集体
を形成する。 β アミロイドは神経細胞に対し、直接的、
間接的に作用することにより、アルツハイマー病の進行
30 を促すと考えられている。

【0003】 β アミロイドの間接的作用として、アスト
ログリア細胞の活性化が知られている。アストログリア
細胞は、 β アミロイドにより活性化されると、いくつか
の機能因子を生産する。アストログリア細胞と β アミロ
イドの協調作用により、アルツハイマー病が増悪すると
考えられている。アルツハイマー病患者脳の病変部に
おいて、活性化アストログリア細胞のほとんどが老人斑部
分に局在していることも知られている。

【0004】しかしながら、 β アミロイドがアストグリア
40 細胞を活性化する機構および β アミロイドによりアス
トログリア細胞において発現が誘導あるいは抑制される
因子についての解析は未だ十分でない。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】本発明が解決しよう
とする課題は、アストログリア細胞において β アミロイド
処理により発現が誘導される新規遺伝子を見出すことで
あり、見出された遺伝子をアルツハイマー病変等の神経
疾患の診断・制御を目的とする手段として使用すること
である。さらには、該新規遺伝子がコードするポリペ
50

チドを提供し、該新規ポリペプチドに対する抗体を提供
することである。また、他の本発明の課題は、上記の
ものを利用して、該新規ポリペプチドの作用および / また
は発現を調節する化合物のスクリーニングを行うことで
あり、さらには、スクリーニングにより選別される化合
物を提供することであり、また、これらを利用した疾病
の診断手段、治療薬を提供するものである。

【0006】

【解決するための手段】課題解決のため、本発明者は、
 β アミロイド処理および未処理のラット胎児脳由来アス
トログリア細胞の発現遺伝子を用いた cDNA サブトラ
クション処理を実施し、 β アミロイド処理により発現が
誘導される新規の遺伝子を同定し、その塩基配列および
該新規遺伝子がコードするアミノ酸配列を決定し、本発
明を完成した。

【0007】すなわち、本発明は、 β アミロイド処理ア
ストログリア細胞と未処理細胞を用いてサブトラクショ
ン処理することにより、 β アミロイドにより発現が誘導
または抑制される遺伝子を取得する方法； β アミロイド
処理アストログリア細胞と未処理細胞を用いて cDNA
サブトラクション処理することにより、 β アミロイドに
より発現が誘導または抑制される遺伝子を取得する方
法； β アミロイド処理ラットアストログリア細胞と未処
理細胞を用いて cDNA サブトラクション処理すること
により、 β アミロイドにより発現が誘導または抑制され
る遺伝子を取得する方法；上記の遺伝子取得方法で得ら
れる DNA 群；次の から より選ばれる DNA または
その相補鎖、配列表の配列番号 1 に記載の DNA 配列
で示される DNA、配列表の配列番号 1 に記載の DN
A 配列を含有する DNA、前記の DNA と少なくとも
も約 70% の DNA 配列上の相同性を有し、かつプロス
タグランジン E 合成酵素活性を有するポリペプチドをコ
ードする DNA、および、前記 から の DNA の DN
A 配列において 1 ないし数個の DNA の欠失、置換、
付加などの変異あるいは誘発変異を有し、かつプロスタ
グランジン E 合成酵素活性を有するポリペプチドをコ
ードする DNA；上記 DNA またはその相補鎖とストリン
ジェントな条件下でハイブリダイゼーションし、かつプ
ロスタグランジン E 合成酵素活性を有するポリペプチド
をコードする DNA；本発明の DNA がコードするポリ
ペプチド；本発明の DNA またはその相補鎖を含有する
組換えベクター；本発明の組換えベクターを用いて形質
転換した形質転換体；大腸菌 E. coli 437 (FERM BP-7074 号)；大腸菌 E. coli 437 (FERM BP-7074 号) が含有するプラス
ミド p437；本発明の形質転換体を培養する工程を含
む、本発明のポリペプチドの製造方法；本発明のポリペ
プチドを免疫学的に認識する抗体；プロスタグランジン
E 合成酵素の活性および / またはプロスタグランジン E
合成酵素遺伝子の発現を調節する化合物のスクリーニ

グ方法であって、本発明のDNAまたはその相補鎖、ポリペプチド、組換えベクター、形質転換体、または抗体のうち、少なくともいずれか1つを用いることを特徴とするスクリーニング方法；上記スクリーニング方法により選別される化合物；上記スクリーニング方法により選別されるプロスタグランジンE合成酵素阻害剤；本発明のDNAまたはその相補鎖、ポリペプチド、組換えベクター、形質転換体、抗体、化合物、または阻害剤のうち、少なくともいずれか1つを含有することを特徴とする医薬組成物；本発明のDNAまたはその相補鎖、ポリペプチド、組換えベクター、形質転換体、抗体、化合物、または阻害剤のうち、少なくともいずれか1つを含有することを特徴とするプロスタグランジンE合成酵素に関連した疾病の予防／治療に用いる医薬組成物；本発明のDNAまたはその相補鎖、ポリペプチド、組換えベクター、形質転換体、抗体、化合物、または阻害剤のうち少なくともいずれか1つを含有することを特徴とする神経細胞死の予防／治療剤；本発明のDNAまたはその相補鎖、ポリペプチド、組換えベクター、形質転換体、抗体、化合物、または阻害剤のうち少なくともいずれか1つを含有することを特徴とするアルツハイマー病の予防／治療剤；本発明のDNAまたはその相補鎖、ポリペプチド、組換えベクター、形質転換体、抗体、化合物、または阻害剤のうち少なくともいずれか1つを含有することを特徴とする疾病の診断手段；プロスタグランジンE合成酵素の遺伝子発現量および／または酵素活性を測定する工程を含む神経細胞死の診断手段；プロスタグランジンE合成酵素の遺伝子発現量および／または酵素活性を測定する工程を含むアルツハイマー病の診断手段；プロスタグランジンE合成酵素阻害剤を含有する神経細胞死の予防／治療剤；プロスタグランジンE合成酵素阻害剤を含有するアルツハイマー病の予防／治療剤を提供することである。

【0008】

【発明の実施の形態】（アストログリア細胞のβアミロイド処理）アストログリア細胞は各種動物の脳から調製できる。胎児脳が好適に用いられ、用いる動物としては比較的胎児脳を採取し易い、ラット、マウス、モルモット、ウサギ等のげっ歯類小動物が好ましく、特にラットは好適に用いられる。胎児脳からのアストログリア細胞の調製は自体公知の方法が用いられるが、その方法は実験医学別冊神経生化学マニュアル（伊藤仁一ら 羊土社（1989））などに開示されている。

【0009】アストログリア細胞に作用させるβアミロイドは市販されており、Anaspec社などから入手できるが、遺伝子工学的手法により作成することもできる。βアミロイド処理は、各種動物脳由来アストログリア細胞を適当な培養容器に播種し、無血清培地中で2日間程度培養した後、適当な緩衝液を用いて適宜希釈したβアミロイドを添加することにより行う。βアミロイド

の添加濃度および処理時間は生理活性を観察し得る範囲で適宜選択されるが、濃度としては25～50μM、処理時間としては10～20時間が好ましい。βアミロイド処理と並行して、同一条件下で他の培養容器にアストログリア細胞を播種し、βアミロイドの希釈に用いた緩衝液を等量添加することによりβアミロイド未処理アストログリア細胞を調製できる。

【0010】（発現遺伝子の調製）発現遺伝子は、mRNAのままでも用いてもcDNA化して用いてもよい。mRNAからcDNAへの変換は逆転写酵素等を用いた方法が適用できる。

【0011】βアミロイド処理および未処理のアストログリア細胞の発現遺伝子は通常用いられるRNAの採取法により採取できる。全RNAの採取には例えば、AGPC法（Chomczynski et al., Anal. Biochem. 162, pp156-159（1986））が適用でき、全RNAからのmRNAの採取にはオリゴdTカラム等を用いたpolyA(+)RNAの精製等が挙げられる。RNAサンプルは複数回採取したものを混合して用いる場合もある。採取ロットの品質を解析する目的から、アストログリアでの発現が知られているいくつかの遺伝子の発現をモニターするとよい。例えば、神経成長因子（NGF）、腫瘍壊死因子-α（TNF-α）、インターロイキン-6（IL-6）、p75などをモニター遺伝子として用い、これらの発現が同等であるサンプルのみを使用するとよい。

【0012】（サブトラクション処理）βアミロイド処理により発現が誘導または抑制される遺伝子を獲得するためには、サブトラクション処理が適用できる。サブトラクション処理では差し引かれる側の遺伝子群（テスター）と差し引く側の遺伝子群（ドライバー）の二組の遺伝子群を用いる。例えば、βアミロイドにより発現が誘導される遺伝子を獲得するためには、テスターとしてβアミロイド処理細胞から得られた遺伝子（βアミロイド処理遺伝子）、ドライバーとして未処理細胞から得られた遺伝子（未処理遺伝子）を用いたサブトラクションを行い、βアミロイドにより発現が抑制される遺伝子を獲得するためには、テスターとして未処理遺伝子を、ドライバーとしてβアミロイド処理遺伝子を用いたサブトラクションを行うとよい。サブトラクション処理の方法としては、既知の各種手段を利用可能であり（特開平3-117488号）、好ましくはcDNAサブトラクション法が挙げられる。cDNAサブトラクション法としては、RDA法、PCR-選択（select）cDNA法などが特に好ましい。

【0013】サブトラクション処理では、サブトラクションの陽性対照として、テスター側に適当なDNAフラグメントを加え、その濃縮を確認することにより、サブトラクション処理の効率を確認できる。また、βアミロ

イド処理により発現が誘導されることが知られている遺伝子をプローブとして、サブトラクション前およびサブトラクション後のPCR産物についてサザンブロット・ハイブリダイゼーションを行うと、同様にサブトラクション処理の成否を確認できる。現在βアミロイド処理により発現が誘導されることが知られている遺伝子としてはNGF、inducible Nitric Oxide Synthase(iNOS)、Regulated on Activation Normal T-cell Expressed and Secre 10 ted(RANTES)等が挙げられる。

【0014】サブトラクション処理後のPCR産物は適当なベクターへ挿入し、プラスミドライブラリーなどを作製する。ベクター挿入部分をPCRにより増幅し、それらの遺伝子を60~100ngずつメンブレンにドットブロットしたものを4セット作製する。このドットメンブレンに対して、テスターとしてβアミロイド処理遺伝子、ドライバーとして未処理遺伝子を用いたサブトラクション処理前PCR産物(以下、サブトラクション処理を(テスター)-(ドライバー)の式で表す。)と 20 (未処理遺伝子)-(βアミロイド処理遺伝子)のサブトラクション前PCR産物、および、(βアミロイド処理遺伝子)-(未処理遺伝子)と(未処理遺伝子)-(βアミロイド処理遺伝子)のサブトラクション後PCR産物の計4プローブでそれぞれディファレンシャルハイブリダイゼーションを実施する。(未処理遺伝子)-(βアミロイド処理遺伝子)のサブトラクション後PCR産物と比較して、(βアミロイド処理遺伝子)-(未処理遺伝子)のサブトラクション後PCR産物において 30 特異的に濃縮が認められるクローンを、βアミロイド処理によって発現が誘導される遺伝子として判断すればよい。ベクター挿入部分は自体公知のDNAシーケンス法によりその配列を決定することができる。

【0015】(遺伝子の取得)本発明において提供される遺伝子は、ラット胎児脳由来アストログリアを用いたcDNAサブトラクション処理により、新規な蛋白質をコードする遺伝子としてそのcDNAが取得されたものである。βアミロイド処理およびβアミロイド未処理のアストログリアの発現遺伝子を調製し、(βアミロイド処理遺伝子)-(未処理遺伝子)のサブトラクション処 40 理を行い、βアミロイド処理により発現が誘導されるクローンとして見出された。蛍光色素(Cy5;ファルマシア社製)標識M13ユニバーサルおよびリバースプライマーを用いてシーケンス反応を行い、ALF Express 蛍光シーケンサー(ファルマシア社製)などでインサート部分の塩基配列を決定したところ、本発明のcDNAは153個のアミノ酸からなる蛋白質をコードしていた。遺伝子データベース(DDBJ/EMBL/GenBank)を検索したところ、本発明の遺伝子は、最近ヒトプロスタグランジンE合成酵素をコード 50

することが報告された遺伝子microsomal glutathione S-transferase 1-like 1(MGST1-L1)(Jakobs et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 96, pp7220-7225(1999))とヌクレオチドで82.5%、アミノ酸で79.7%のホモロジーを有することが判明した。さらに、ラット組織ブロット(tissue blots)の結果から、本遺伝子はラット精巣と腎臓において高い発現を示すことが示され、MGST1-L1のヒト組織での分布パターンと同様であった。したがって、本遺伝子はラットのプロスタグランジンE合成酵素をコードすると予測している。

【0016】βアミロイド処理および未処理のラットアストログリア細胞の発現遺伝子を用いたノーザンブロットングによっても、本遺伝子は、βアミロイド処理時において顕著に誘導されることが示された。

【0017】(DNAおよびその相補鎖)本発明のDNAおよびその相補鎖は、配列表の配列番号1に示すDNA配列からなるDNAおよびその相補鎖、配列表の配列番号1に示す部分配列を有するDNAおよびその相補鎖、これらのDNAとストリンジェントな条件下でハイブリダイゼーションするDNAを意味する。「DNAにストリンジェントな条件下でハイブリダイゼーションするDNA」は、例えば、Molecular Cloning 第2版(J. Sambrook et al. (1989))に記載の方法によって得ることができる。ここで、「ストリンジェントな条件下でハイブリダイゼーションする」とは、例えば、6×SSC、0.5% SDSおよび50%ホルムアミドの溶液中で42 にて加温した後、0.1×SSC、0.5% SDSの溶液中で68 にて洗浄する条件でも依然として陽性のハイブリダイゼーションのシグナルが観察されることを表す。

【0018】また、本発明のDNAは配列表の配列番号1のDNA配列で示されるDNAと少なくとも約70%のDNA配列上の相同性を有しかつプロスタグランジンE合成酵素活性を有するポリペプチドをコードするDNAから選択される。その選択されるDNAは、好ましくは約70%以上、より好ましくは約80%以上、さらに好ましくは約90%をこえる相同性を有する。DNA配列の相同性を決定する技術は、自体公知であり、例えばDNA配列を直接決定する方法を使用することができる。コードするポリペプチドのプロスタグランジンE合成酵素活性の確認は本発明のDNAを用いてポリペプチドを発現させることにより行うことができる。ポリペプチドの発現には公知の蛋白質発現系、例えば、無細胞蛋白質発現系を利用できる。無細胞蛋白質発現系としては、例えば、胚芽、家兔網状赤血球等由来のリボソーム系の技術を利用できる(Nature, 179, p

p160-161 (1957)。

【0019】さらに本発明のDNAは上記DNAのDNA配列において1ないし数個のDNAの欠失、置換、付加などの変異あるいは誘発変異を有し、かつプロスタグランジンE合成酵素活性を有するポリペプチドをコードするDNAを意味する。DNAの欠失、置換、付加あるいは挿入の手段は自体公知であり、エキソヌクレアーゼを用いた欠失変異体の作製法、部位特異的突然変異誘発法などが挙げられる。

【0020】これらのDNAは、いずれも本発明の新規ポリペプチドの製造に有用な遺伝子を提供するものであり、これをコードする遺伝子等の核酸、またはmRNA検出のためのプローブもしくはプライマーとして、あるいは遺伝子発現を調節するアンチセンスオリゴマーとして使用することができる。例えば、本発明のDNAをアンチセンスとして使用する場合、本発明の新規ポリペプチドの発現が特異的に阻害される。さらに、本発明のDNAは、核酸に関する試薬としても利用できる。

【0021】(ポリペプチド) 本発明のポリペプチドは配列表の配列番号1のDNA配列で示されるDNAおよび配列表の配列番号1に記載のDNA配列で示されるDNAを含有するDNAによりコードされるポリペプチドである。さらに配列表の配列番号1に記載のDNA配列で示されるDNAと少なくとも約70%のDNA配列上の相同性を有するDNAによりコードされ、かつプロスタグランジンE合成酵素活性を有するポリペプチドである。また、これらのポリペプチドは、その構成アミノ基もしくはカルボキシル基などを修飾するなど、機能の著しい変更を伴わない程度に改変が可能である。

【0022】本発明のポリペプチドは、それら自体で、それら自体の生体内での機能を調節するための医薬組成物に使用できる。また、本発明のポリペプチドは、それらの機能を調節し得る化合物、例えば、阻害剤、拮抗剤、賦活剤等を得るためのスクリーニングや、それらに対する抗体の取得に用いることができる。さらに、本発明のポリペプチドは、試薬としても使用可能である。

【0023】(組換えベクター) 本発明のDNAを適当なベクターDNAへ組み込むことにより、組換えベクターを得ることができる。ベクターDNAとしては、天然に存在するものを抽出したもののほか、増殖に必要な部分以外のDNAの部分が一部欠落しているものでもよい。例えば、ColE1から派生するベクター、ラムダファージから派生するベクターがある。前記ベクターDNAに本発明のDNAを組み込む方法は、自体公知の方法を適用し得る。例えば、適当な制限酵素を選択、処理してDNAを特定部位で切断し、次いで同様に処理したベクターとして用いるDNAと混合し、リガーゼによって再結合する方法が用いられる。後述の実施例中に示すp437では、ベクターDNAとしてpBlue-script SK (STRATAGENE社製)を用いた

が、むしろこれに限定されない。

【0024】(形質転換体) 上記のような無細胞蛋白質発現系以外にも、大腸菌、酵母、枯草菌、昆虫細胞、動物細胞等の自体公知の宿主を利用した遺伝子組換え技術によって、本発明からなる新規ポリペプチドおよびその由来物を提供可能である。

【0025】形質転換は、自体公知の手段を応用することができ、例えば、レプリコンとして、プラスミド、染色体、ウイルス等を利用して宿主の形質転換を行う。より好ましい系としては、遺伝子の安定性を考慮するならば、染色体内へのインテグレート法が挙げられるが、簡便には核外遺伝子を用いた自律複製系を利用する。ベクターは、宿主の種類により選択され、発現目的遺伝子配列とその複製そして制御に関する情報を担持した遺伝子配列とを構成要素とする。構成要素は宿主が原核細胞か真核細胞かによって選択し、プロモーター、リボソーム結合部位、ターミネーター、シグナル配列、エンハンサー等を自体公知の方法によって組み合わせて使用する。

【0026】形質転換体は、自体公知の各々の宿主の培養条件に最適な条件を選択して培養することにより、本発明のポリペプチドの製造に用いることができる。培養は、発現産生される新規ポリペプチドの生理活性、特にプロスタグランジンE合成酵素活性を指標に行ってもよいが、培地中の形質転換体量を指標にして継代培養またはパッチによって行う。

【0027】後述の実施例中に示す形質転換体E.coli 437は、ベクターDNAとしてプラスミドのDNAを用い、これを大腸菌に導入して形質転換反応により得られた新規微生物であり、工業技術院生命工学工業技術研究所にFERM BP-7074号として寄託されている。

【0028】(新規ポリペプチドおよびその由来物の回収) 培地からの新規ポリペプチドおよびその由来物からなるポリペプチドの回収は、プロスタグランジンE合成酵素活性を指標にして、分子篩、イオンカラムクロマトグラフィー、アフィニティクロマトグラフィー等を組み合わせるか、溶解度差に基づく硫酸、アルコール等の分画手段によっても精製回収できる。より好ましくは、アミノ酸配列の情報に基づき、該アミノ酸配列に対する抗体を作製し、ポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体によって、特異的に吸着回収する方法を用いる。

【0029】(抗体) 抗体は、本発明の新規ポリペプチドおよびその由来物からなるポリペプチドの抗原決定基を選別し、作製する。抗原決定基は、少なくとも、5個、より好ましくは少なくとも8~10個のアミノ酸で構成される。このアミノ酸配列は、必ずしも配列表の配列番号1のDNAがコードするポリペプチド配列と相同である必要はなく、蛋白質の立体構造上の外部への露出部位であればよく、露出部位が不連続部位であれば、該露出部位について連続的なアミノ酸配列であることも有

効である。抗体は、免疫学的に新規ポリペプチドおよびその由来物からなるポリペプチドを認識する限り特に限定されない。この認識の有無は、公知の抗原抗体結合反応によって決定する。

【0030】抗体を産生するためには、本発明の新規ポリペプチドおよびその由来物からなるポリペプチドを、アジュバントの存在または非存在下で、単独または担体に結合して、動物に対して体液性応答および/または細胞性応答等の免疫誘導を行う。担体は、自身が宿主に対して有害作用を起こさなければ特に限定されず、例えば、セルロース、重合アミノ酸、アルブミン等が例示される。免疫する動物としては、マウス、ラット、ウサギ、ヤギ、馬等が好適に用いられる。ポリクローナル抗体は、自体公知の血清からの抗体回収法によって取得する。好ましい手段としては、免疫アフィニティクロマトグラフィー法である。

【0031】モノクローナル抗体を生産するためには、上記の免疫手段が施された動物から抗体産生細胞を回収し、自体公知の永久増殖性細胞への形質転換手段を導入することによって行われる。

【0032】ポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体は、直接本発明のポリペプチドと結合し、その活性を制御可能であり、本発明のポリペプチドの活性が関与する疾病の治療・予防のために有用である。

【0033】(スクリーニング)かくして調製されたDNAおよびその相補鎖、ポリペプチド、組換えベクター、形質転換体および抗体は、単独または複数手段を組み合わせることによって、プロスタグランジンE合成酵素活性または、プロスタグランジンE合成酵素の遺伝子発現に対する阻害剤もしくは賦活剤のスクリーニングに有効な手段を提供する。すなわち、本発明のDNAまたはその相補鎖、組換えベクター、形質転換体、または抗体のうちの少なくとも1つを用いることにより、プロスタグランジンE合成酵素の発現を阻害もしくは増強する化合物のスクリーニングが、また、本発明のポリペプチド、または抗体のうちの少なくとも1つを用いることにより、プロスタグランジンE合成酵素活性を阻害もしくは増強する化合物のスクリーニングが可能である。例えば、ポリペプチドの立体構造に基づくドラッグデザインによる拮抗剤の選別、蛋白質発現系を利用した遺伝子レベルでの発現調節剤の選別、抗体を利用した抗体認識物質の選別等が、自体公知の医薬品スクリーニングシステムにおいて利用可能である。また、本スクリーニングにより選別された化合物は後述する医薬組成物、疾病の治療剤として有用である。

【0034】(プロスタグランジンE合成酵素)プロスタグランジンはアラキドン酸のようなエイコサポリエン酸から動物組織で合成される一群の生理活性物質であり、プロスタ酸を基本構造として、五員環部分につく酸素原子と二重結合の違いに応じて、A～Jの区別がさ

れる。また、側鎖の二重結合の数によって1～3群があり、両者を組み合わせてプロスタグランジンE₁、プロスタグランジンH₂というように分類・表記される。2群では前駆物質のエイコサポリエン酸はアラキドン酸であり、シクロオキシゲナーゼによりアラキドン酸に2分子の酸素が添加されることによって生合成が始まり、プロスタグランジンG₂が生じる。その15-ヒドロペルオキシドがヒドロキシル基となってプロスタグランジンH₂をつくる。プロスタグランジンH₂の異性化によりプロスタグランジンE₂が生成するが、その異性化反応を触媒する酵素がプロスタグランジンE合成酵素である。ヒトプロスタグランジンE合成酵素は15～16kDaの蛋白として、最近、蛋白および遺伝子が同定された(Jakobsson et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 96, pp7220-7225 (1999))。

【0035】プロスタグランジンE合成酵素活性は自体公知の方法により測定することができる。例えば、上記Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 96, pp7220-7225 (1999)に開示された方法を用いるとよい。

【0036】プロスタグランジンE合成酵素の触媒作用により生成するプロスタグランジンEは、血圧降下作用、血管拡張作用等の活性を有する生理活性物質である。プロスタグランジンE合成酵素の上流過程を触媒する酵素であるシクロオキシゲナーゼを阻害するアスピリン等の非ステロイド系炎症剤により、その生成が阻害されるが、近年、非ステロイド系炎症剤が、アルツハイマー病に対して効果を示すことが報告されている(Andersen et al. Neurology, 45, pp1441-1445 (1995))。さらに、最近、アルツハイマー病の患者脳脊髄液を用いた試験において、アルツハイマー病患者脳において、プロスタグランジンE量が増加していることが報告された(Montine et al. Neurology, 53, pp1495-1498 (1999))。これらから、アルツハイマー病に、プロスタグランジンEの過剰産生が関与する可能性が考えられる。一方、本発明の新規遺伝子は、βアミロイド処理により発現が誘導される遺伝子として同定され、DNA配列の相同性検索の結果から、ラットのプロスタグランジンE合成酵素をコードすると考えられた。このことからアルツハイマー病におけるプロスタグランジンEの過剰産生にはβアミロイド処理によるプロスタグランジンE合成酵素の過剰発現が関与する可能性が考えられ、プロスタグランジンE合成酵素の活性・発現を阻害することは、アルツハイマー病等の神経疾患の治療に結びつく可能性を示すものである。

【0037】(化合物、医薬組成物、診断手段)上記のスクリーニング法で選別された化合物、および、プロス

タグランジンE合成酵素の活性および/または遺伝子発現を阻害または増強する化合物は、プロスタグランジンE合成酵素活性、プロスタグランジンE合成酵素発現を調節する阻害剤、拮抗剤、賦活剤等の候補化合物として利用可能である。上記の阻害剤、拮抗剤、賦活剤等の候補化合物としては、蛋白質、ポリペプチド、抗原性を有さないポリペプチド、低分子化合物が挙げられ、好ましくは低分子化合物である。

【0038】かくして選別された候補化合物は、生物学的有用性を毒性等を考慮して選別することによって、プロスタグランジンE合成酵素の活性および/または発現に関連する疾病の治療に用いる医薬組成物として調製可能である。また、本発明からなる新規DNAまたはその相補鎖、これらがコードするポリペプチド、上記DNAまたはその相補鎖を含む組換えベクター、これら組換えベクターを用いて形質転換した形質転換体、および上記ポリペプチドを免疫学的に認識する抗体は、それら自体が、プロスタグランジンE合成酵素の活性、発現に対する阻害、拮抗、賦活等の機能を有し、プロスタグランジンE合成酵素の活性、発現に関連する疾病の治療に用いる医薬手段として使用できる。

【0039】プロスタグランジンE合成酵素の活性、発現に関連する疾病としては、神経細胞死が関与する疾病、例えばアルツハイマー病等の神経疾患が挙げられる。なお、製剤化にあたっては、化合物、ポリペプチド、蛋白質、ポリヌクレオチド、抗体等、各対照に応じた自体公知の製剤化手段を導入すればよい。

【0040】本発明の新規DNAまたはその相補鎖、これらがコードするポリペプチド、上記DNAまたはその相補鎖を含む組換えベクター、これら組換えベクターを用いて形質転換した形質転換体、および上記ポリペプチドを免疫学的に認識する抗体は、プロスタグランジンE合成酵素の活性、発現に関連する神経細胞死、疾患等の診断手段として有用である。特に、アルツハイマー病の診断マーカーおよび/または試薬等の診断手段として有用である。診断は本発明のDNAとの相互作用・反応性を利用して、プロスタグランジンE合成酵素の核酸配列の存在量を決定すること、および/またはプロスタグランジンE合成酵素の試料中での存在量を決定することによって行う。試料としては血液、ずい液、脳生検サンプル等が好適であり、特に脳脊ずい液が好ましい。診断に用いる測定法は、自体公知の抗原抗体反応、酵素反応系、PCR反応系等を利用すればよい。また、試料中のプロスタグランジンEの量および/または活性を測定することもプロスタグランジンE合成酵素の活性・発現を間接的に測定する手段として有用である。プロスタグランジンEの定量にはプロスタグランジンEに対する抗体を用いた放射免疫測定法(平田文雄ら、Med. Technol., 6, pp1242 (1978))等の自体公知の方法が適用できる。なお、ここで言う手

段とは、目的達成のために使用する方法および/または媒体を意味する。すなわち、例えば、診断手段には、診断するための方法、診断に用いる試薬キットなどが含まれる。

【0041】

【実施例】(アストログリア細胞からのpoly A(+))RNAの調製)アストログリア細胞はWistar系ラット胎児脳から、実験医学別冊神経生化学マニュアル(伊藤 仁一ら 羊土社(1989))に従い調製した。ラット胎児脳由来アストログリア細胞を二次培養後、2日間無血清とした後に、2.5 μM/6 cmプラスチックディッシュとなるようにβアミロイド(Anaspec社製、βアミロイド1-40)または等量の溶媒を添加し、15時間培養した。

【0042】βアミロイド処理および未処理のアストログリア細胞(6 cmプラスチックディッシュ各20枚)よりAGPC法にて9回にわたり全RNAを抽出した。

【0043】βアミロイド処理・未処理の各ロットの全RNAの品質を解析する目的から、アストログリア細胞での発現が知られている遺伝子であるNGF、TNF-α、IL-6、p75の遺伝子を用いてRT-PCRを実施した。さらにNGFについてはそのRT-PCR産物をプローブとしてノーザンブロッティングを実施した。これらの結果をもとにサブトラクション処理に使用するロットの選択を行い、選択したロットの全RNAをそれぞれ混合し、オリゴdT-ラテックス法によりpoly A(+))RNAを調製した。

【0044】(サブトラクション処理)βアミロイド処理および未処理のアストログリア細胞由来のpoly A(+))RNA各2 μgを出発原料として(βアミロイド処理遺伝子)-(未処理遺伝子)および(未処理遺伝子)-(βアミロイド処理遺伝子)のcDNAサブトラクション処理を、Diatchenkoらの方法(Proc. Natl. Acad. USA, 93, pp6025-6030(1996))に準じて行った。サブトラクション処理のポジティブコントロールとして、Rsa I消化後のテスターにφX174/Hae III消化DNAフラグメントをテスター中の重量比で約2.5 × 10⁻⁵になるように加えた。

【0045】実施したサブトラクション処理の効率を検証するため、陽性対照であるφX174/Hae III消化DNAフラグメント、およびNGF遺伝子をプローブとして、サブトラクション後のPCR産物およびサブトラクション前のPCR産物についてサザンブロット・ハイブリダイゼーションを実施した。

【0046】(βアミロイド処理遺伝子)-(未処理遺伝子)および(未処理遺伝子)-(βアミロイド処理遺伝子)のサブトラクション後のPCR産物を900 bp以上(グループI)、500 bp以上900 bp以下

(グループII)、250bp以上500bp以下(グループIII)にサイズ分画した。

【0047】(βアミロイド処理遺伝子)―(未処理遺伝子)のグループIIIに属するPCR産物のベクター(pBluescript II)へのライゲーションを行い、プラスミドライブラリーを作製した。

【0048】プラスミドライブラリーの480クローンのベクター挿入部分をPCR法により増幅し、それらの遺伝子を60～100ngずつメンブレン(Hybrid-N+; Amersham社製)にドットプロットしたものを4セット作製した。このドットプロットメンブレンに対して、(βアミロイド処理遺伝子)―(未処理遺伝子)および(未処理遺伝子)―(βアミロイド処理遺伝子)のサブトラクション後のPCR産物及び、(βアミロイド処理遺伝子)―(未処理遺伝子)および(未処理遺伝子)―(βアミロイド処理遺伝子)のサブトラクション前のPCR産物の計4プローブでそれぞれディファレンシャルハイブリダイゼーションを実施した。(未処理遺伝子)―(βアミロイド処理遺伝子)のサブトラクション後のPCR産物と比較して(βアミロイド処理遺伝子)―(未処理遺伝子)のサブトラクション後のPCR産物において特異的に濃縮が認められるクローンを選択した。

【0049】(ノーザンプロットハイブリダイゼーションによる解析)ディファレンシャルハイブリダイゼーションスクリーニングで選択したクローン群のそれぞれのベクター挿入部分をプローブとしてβアミロイド処理および未処理アストログリア細胞由来poly A(+) RNAを用いたノーザンプロット・ハイブリダイゼーションを実施した。なお、ディファレンシャルハイブリダイゼーションスクリーニングで選択されたクローン群中にクローンの重複の可能性が考えられるものに関してはサザンプロット・ハイブリダイゼーションによってその有無を確認し、重複することが判明したクローンはあらかじめノーザンプロット・ハイブリダイゼーションによる解析から除外した。

【0050】(塩基配列解析およびホモロジー検索)βアミロイドにより発現が誘導されるクローン群はCy5標識M13ユニバーサルおよびリバースプライマーを用いてシーケンシング反応を行い、ALF Express 40 蛍光シーケンサー(ファルマシア社製)でベクター挿入部分の塩基配列を解析した。得られた配列について、NCBIデータベースでホモロジー検索を実施した。得られた全長cDNAのうちの1クローンは新規遺伝子であり、最近ヒトプロスタグランジンE合成酵素をコードすることが報告された遺伝子MGST1-L1と塩基配列で79.7%、アミノ酸で82.5%のホモロジーがあった(図1)。

【0051】(ノーザンプロット法による新規遺伝子誘導の確認)上記方法により、βアミロイド処理および未

処理のアストログリアから、それぞれのpoly A(+) RNAサンプルを調製した。上記新規遺伝子のサブトラクション処理後cDNAフラグメントをプローブとして、ノーザンプロットを行った。常発現性遺伝子であるグリセルアルデヒド3リン酸デヒドロゲナーゼ(G3PDH)cDNA(CLONTECH社製)を内部標準プローブとして用いた。検出はBAS2000(富士フィルム社製)を用いて行った。G3PDH遺伝子は、βアミロイド処理時および未処理時において発現量に差が認められないのに対し、本発明の新規遺伝子は、βアミロイド未処理時では低レベルで維持されていた発現量が、βアミロイド処理により約2.2倍増加した(図2)。

【0052】(新規遺伝子発現の組織分布)ラットの各組織から抽出したpoly A(+) RNAのノーザンプロット(CLONTECH社製)に、本発明の新規遺伝子由来のランダムプライムcDNAプローブをハイブリダイゼーションさせた。腎臓と精巣において、本発明の新規遺伝子の強い発現が見られた。脳、肺、骨格筋において弱い発現が見られた(図3)。本遺伝子の各組織における発現パターンは、ヒトのプロスタグランジンE合成酵素遺伝子MGST1-L1の発現パターン(Jakobsson et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 96, pp 7220-7225 (1999))と一致しており、この結果は本遺伝子が、ラットにおける既報と同タイプのプロスタグランジンE合成酵素をコードすることを支持している。

【0053】(大腸菌E. coli 437(FPRM BP-7074号)の作製)ZAPベクター(STRATAGENE社製)のマルチクローニングサイト内BamHI-XhoI部位に本発明遺伝子のオープンリーディングフレーム(ORF)462塩基対を含むcDNA全長約1.3kBを挿入した。この組換えベクターをZAP-cDNA合成システム(STRATAGENE社製)を用いてpBluescript SK(STRATAGENE社製)に変換しp437を得た(図4)。大腸菌コンピテントセル(Max Efficiency DH5α competent cells; GIBCO BRL社製)50μlに対し、得られたプラスミド25pgを加えて形質転換を行った。450μlのSOC(20g/l トリプトン、5g/l イーストエキストラクト、0.5g/l NaCl、2.5mM KCl、10mM MgCl₂、20mM グルコース)を加え、37℃にて1時間振とう培養後、LB-アンピシリンプレート(10g/l NaCl、10g/l トリプトン、5g/l イーストエキストラクト、25μg/ml アンピシリン)に播種し、アンピシリン耐性クローンを得た。

【0054】

【発明の効果】以上説明したように本発明はβアミロイド処理により発現が誘導される新規プロスタグランジンE合成酵素を提供するものである。この特性を利用した新規医薬組成物、診断手段の提供は、アルツハイマー病

等のβアミロイドに関連した疾患の臨床・基礎の医用領域において大きな有用性を提供する。

【配列表】

SEQUENCE LISTING

```

<110> Daiichi Pharmaceutical Co
.,Ltd.
<120> Novel gene induced by beta
-amyloid
<130> N00032201A
<160> 2
<170> PatentIn Ver. 2.1
<210> 1
<211> 462
<212> DNA
<213> rat
<220>
<221> CDS
<222> (1)..(462)
<400> 1
atg act tcc ctg ggt ttg gtg atg gag aac
agc cag gtg ctc ccc gcc   48
Met Thr Ser Leu Gly Leu Val Met Glu Asn
Ser Gln Val Leu Pro Ala
      1              5              10              15
ttt ctg ctc tgc agc aca ctg ctg gtc atc
aag atg tac gcg gtg gct   96
Phe Leu Leu Cys Ser Thr Leu Leu Val Ile
Lys Met Tyr Ala Val Ala
              20              25              30
gtc atc aca ggc caa gtc agg ctg cgg aag
aag gct ttt gcc aac ccc   144
Val Ile Thr Gly Gln Val Arg Leu Arg Lys
Lys Ala Phe Ala Asn Pro
              35              40              45
gag gac gcg ttg aaa cgt gga ggt ctc cag
tac tgc agg agt gac cca   192
Glu Asp Ala Leu Lys Arg Gly Gly Leu Gln
Tyr Cys Arg Ser Asp Pro
              50              55              60
gat gtg gag cgc tgc ctc aga gcc cac cgc
aac gac atg gag acg atc   240
Asp Val Glu Arg Cys Leu Arg Ala His Arg
Asn Asp Met Glu Thr Ile
      65              70              75              80
tac ccc ttc ctc ttc ctt ggt ttc gtc tac
tca ttc ctg gga ccc aac   288
Tyr Pro Phe Leu Phe Leu Gly Phe Val Tyr
Ser Phe Leu Gly Pro Asn
              85              90              95

```

<211> 153

<212> PRT

<213> rat

<400> 2

Met Thr Ser Leu Gly Leu Val Met Glu Asn

Ser Gln Val Leu Pro Ala

1

5

10

15

Phe Leu Leu Cys Ser Thr Leu Leu Val Ile

Lys Met Tyr Ala Val Ala

20

25

30

Val Ile Thr Gly Gln Val Arg Leu Arg Lys

Lys Ala Phe Ala Asn Pro

35

40

45

Glu Asp Ala Leu Lys Arg Gly Gly Leu Gln

Tyr Cys Arg Ser Asp Pro

50

55

60

Asp Val Glu Arg Cys Leu Arg Ala His Arg

Asn Asp Met Glu Thr Ile

65

70

75

80

19

20

【図面の簡単な説明】 本発明の遺伝子がコードするポリペプチドのアミノ酸配列とヒト遺伝子MGST1-851がコードするヒトプロスタグランジンE合成酵素のアミノ酸配列の比較を説明する図である。上段のポリペプチド配列は本発明の遺伝子がコードするポリペプチドの推定アミノ酸配列、下段のアミノ酸配列はヒトプロスタグランジンE合成酵素のアミノ酸配列。図中「*」はアミノ酸が同一であることを示し、「Va」は異なることを示す。

【図1】 本発明の遺伝子がコードするポリペプチドのアミノ酸配列とヒト遺伝子MGST1-851がコードするヒトプロスタグランジンE合成酵素のアミノ酸配列の比較を説明する図である。上段のポリペプチド配列は本発明の遺伝子がコードするポリペプチドの推定アミノ酸配列、下段のアミノ酸配列はヒトプロスタグランジンE合成酵素のアミノ酸配列。図中「*」はアミノ酸が同一であることを示し、「Va」は異なることを示す。

【図2】 本発明の遺伝子の発現がβ-アミド処理により誘導されることを確認したサザンブロッティングの結果の図である。図中、レーンUは無処理のラットアストログリア細胞由来pola Tyr (Va) Leu Ala Glu Phe Ala Gln Val Ile Leu Trp Glu Val Ala His His Leu

【図3】 本発明の遺伝子の組織分布をラット組織ブロット(tissue blots)により解析した結果を示す図である。本発明の遺伝子のmRNA由来cDNAフラグメントをプローブとして用いた。

【図4】 本発明のプラスミドp437の構築を示す図である。図中「PGESynthase」として表した部分が本発明の遺伝子の挿入部分である。

130

135

140

Ile Leu Trp Glu Val Ala His His Leu

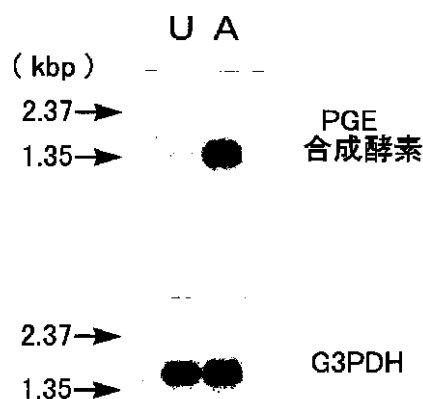
145

150

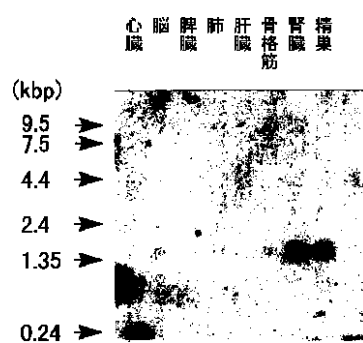
【図1】

rat	MTSLGLVMEN	SQVLPAFLLC	STLLVIKMYA	VAVITGQVRL	40
human	MPAHSLSM-S	SPALPAFLLC	STLLVIKMYV	VAITGQVRL	39
rat	RKKAFANPED	ALKRGGQYC	RSDPDVERCL	RAHRNDMETI	80
human	RKKAFANPED	ALRHGGPQYC	RSDPDVERCL	RAHRNDMETI	79
rat	YPFLFLGFVY	SFLGPNPLIA	WIHFLVVLTG	RVVHTVAYLG	100
human	YPFLFLGFVY	SFLGPNPFVA	WMHFLVFLVG	RVVHTVAYLG	99
rat	KMNPRIIRSGA	YVLAQFACFS	MALQILWEVA	HHL	153
human	KLRAPIRSVT	YTLAQIPCAS	MALQILWEAA	RHL	152

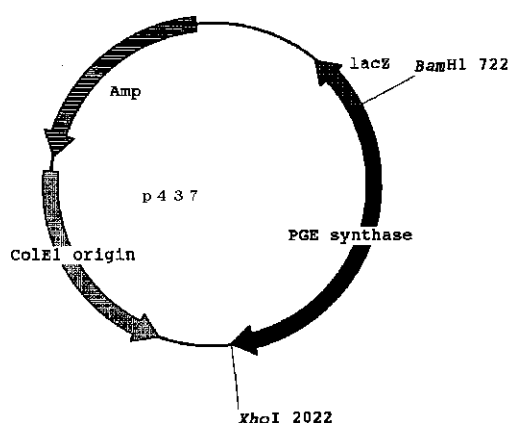
【図2】



【図3】



【図4】



フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マコード ⁷ (参考)
A 6 1 K	39/395	A 6 1 K 48/00	4 B 0 6 5
	45/00	A 6 1 P 25/00	4 C 0 8 4
	48/00	25/28	4 C 0 8 5
A 6 1 P	25/00	43/00	1 1 1 4 C 0 8 6
	25/28	C 0 7 K 16/40	4 C 0 8 7
	43/00	C 1 2 N 1/15	4 H 0 4 5
C 0 7 K	16/40	1/19	
C 1 2 N	1/15	1/21	
	1/19	9/90	
	1/21	C 1 2 Q 1/533	
	5/10	1/68	A
	9/90	G 0 1 N 33/15	Z
C 1 2 Q	1/533	33/50	Z
	1/68	33/53	D
G 0 1 N	33/15	C 1 2 P 21/08	
	33/50	(C 1 2 N 1/21	

33/53
 // C 1 2 P 21/08
 (C 1 2 N 1/21
 C 1 2 R 1:19)

C 1 2 R 1:19)
 C 1 2 N 15/00
 A 6 1 K 37/02
 C 1 2 N 5/00

Z N A A
 A

F ターム(参考) 2G045 AA34 AA35 AA40 BB20 CB01
 CB21 DA12 DA13 DA14 DA36
 DA77 FB02 FB03
 4B024 AA01 AA11 BA07 BA53 CA04
 CA09 DA02 DA06 DA07 DA11
 DA12 EA04 GA11 HA03 HA12
 4B050 CC03 CC10 DD07 LL01 LL03
 4B063 QA01 QA05 QA19 QQ03 QQ39
 QQ44 QR19 QR33 QR48 QR51
 QR56 QR59 QR74 QR80 QS34
 4B064 AG01 AG21 AG27 BA13 CA10
 CA20 CC24 DA01 DA13
 4B065 AA19X AA26X AA72X AA90X
 AA90Y AA91Y AB01 AB04
 BA02 BA08 CA25 CA44 CA46
 4C084 AA01 AA02 AA13 BA21 CA53
 DC32 NA14 ZA022 ZA162
 ZC202
 4C085 AA14 BB11 CC04 CC21 DD33
 FF24
 4C086 AA01 EA03 NA14 ZA03 ZA16
 4C087 AA01 AA03 BC83 CA12 CA16
 NA14 ZA03 ZA16
 4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10
 CA45 DA75 DA76 DA89 EA21
 EA50 FA72 FA73 FA74 HA05

专利名称(译)	<无法获取翻译>		
公开(公告)号	JP2001258575A5	公开(公告)日	2007-04-19
申请号	JP2000084673	申请日	2000-03-22
申请(专利权)人(译)	第一制药有限公司		
[标]发明人	横田博 佐藤一紀 鈴木伸之		
发明人	横田 博 佐藤 一紀 鈴木 伸之		
IPC分类号	C12N15/09 A61K31/711 A61K35/76 A61K39/395 A61K45/00 A61K48/00 A61P25/00 A61P25/28 A61P43/00 C07K16/40 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N9/90 C12Q1/533 C12Q1/68 G01N33/15 G01N33/50 G01N33/53 A61K38/00 C12N5/10 C12P21/08 C12R1/19		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A A61K31/711 A61K35/76 A61K39/395.D A61K39/395.P A61K45/00 A61K48/00 A61P25/00 A61P25/28 A61P43/00.111 C07K16/40 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N9/90 C12Q1/533 C12Q1/68.A G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.D A61K37/02 C12N5/00.A C12P21/08 C12R1/19		
F-TERM分类号	2G045/AA34 2G045/AA35 2G045/AA40 2G045/BB20 2G045/CB01 2G045/CB21 2G045/DA12 2G045/DA13 2G045/DA14 2G045/DA36 2G045/DA77 2G045/FB02 2G045/FB03 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA07 4B024/BA53 4B024/CA04 4B024/CA09 4B024/DA02 4B024/DA06 4B024/DA07 4B024/DA11 4B024/DA12 4B024/EA04 4B024/GA11 4B024/HA03 4B024/HA12 4B050/CC03 4B050/CC10 4B050/DD07 4B050/LL01 4B050/LL03 4B063/QA01 4B063/QA05 4B063/QA19 4B063/QQ03 4B063/QQ39 4B063/QQ44 4B063/QR19 4B063/QR33 4B063/QR48 4B063/QR51 4B063/QR56 4B063/QR59 4B063/QR74 4B063/QR80 4B063/QS34 4B064/AG01 4B064/AG21 4B064/AG27 4B064/BA13 4B064/CA10 4B064/CA20 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA19X 4B065/AA26X 4B065/AA72X 4B065/AA90X 4B065/AA90Y 4B065/AA91Y 4B065/AB01 4B065/AB04 4B065/BA02 4B065/BA08 4B065/CA25 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA01 4C084/AA02 4C084/AA13 4C084/BA21 4C084/CA53 4C084/DC32 4C084/NA14 4C084/ZA022 4C084/ZA162 4C084/ZC202 4C085/AA14 4C085/BB11 4C085/CC04 4C085/CC21 4C085/DD33 4C085/FF24 4C086/AA01 4C086/EA03 4C086/NA14 4C086/ZA03 4C086/ZA16 4C087/AA01 4C087/AA03 4C087/BC83 4C087/CA12 4C087/CA16 4C087/NA14 4C087/ZA03 4C087/ZA16 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA45 4H045/DA75 4H045/DA76 4H045/DA89 4H045/EA21 4H045/EA50 4H045/FA72 4H045/FA73 4H045/FA74 4H045/HA05		
其他公开文献	JP2001258575A		

摘要(译)

要解决的问题：提供一种获得通过用β-淀粉样蛋白治疗诱导或抑制其表达的新基因的方法，以控制神经疾病，例如阿尔茨海默氏病。解决方案：用于获得通过β-淀粉样蛋白处理诱导或抑制表达的新基因的该方法包括应用cDNA（互补脱氧核糖核酸）减法技术。通过上述方法获得的新DNA，由DNA编码的肽，含有该DNA的重组载体，具有该重组载体的转化体，该肽的抗体，该多肽的制备方法，筛选该DNA的方法。通过使用上述DNA等控制前列腺素E合成酶的基因表达和/或其酶活性的化合物，以及通过筛选方法筛选的化合物。此外，通过利用上述化合物和方法，提供了用于与β-淀粉样蛋白有关的神经疾病的药物组合物和诊断措施。

