

(19) 日本国特許庁(JP)

再公表特許(A1)

(11) 国際公開番号

WO2003/037930

発行日 平成17年2月17日 (2005. 2. 17)

(43) 国際公開日 平成15年5月8日 (2003. 5. 8)

(51) Int. Cl.⁷

F I

C 1 2 N 15/09
 A 6 1 K 31/7088
 A 6 1 K 38/00
 A 6 1 K 39/395
 A 6 1 K 45/00

C 1 2 N 15/00 Z N A A
 A 6 1 K 31/7088
 A 6 1 K 39/395 D
 A 6 1 K 39/395 N
 A 6 1 K 45/00

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 51 頁) 最終頁に続く

出願番号	特願2003-540211 (P2003-540211)	(71) 出願人	596175810 財団法人かずさディー・エヌ・エー研究所 千葉県木更津市かずさ鎌足2-6-7
(21) 国際出願番号	PCT/JP2002/011207	(71) 出願人	501295811 森 啓 大阪府大阪市東成区中道1丁目3番45号 ハイツコスモ21 301号室
(22) 国際出願日	平成14年10月29日 (2002. 10. 29)	(71) 出願人	504170492 入谷 修司 東京都世田谷区粕谷2丁目11番25号 アビタシオン芦花公園 110号室
(31) 優先権主張番号	特願2001-331007 (P2001-331007)	(74) 代理人	100088904 弁理士 庄司 隆
(32) 優先日	平成13年10月29日 (2001. 10. 29)		
(33) 優先権主張国	日本国 (JP)		
(31) 優先権主張番号	特願2001-333258 (P2001-333258)		
(32) 優先日	平成13年10月30日 (2001. 10. 30)		
(33) 優先権主張国	日本国 (JP)		
(31) 優先権主張番号	特願2001-345262 (P2001-345262)		
(32) 優先日	平成13年11月9日 (2001. 11. 9)		
(33) 優先権主張国	日本国 (JP)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 新規なヒトN-methyl-D-aspartate (NMDA) 型グルタミン酸受容体ポリペプチドおよびそれをコードする遺伝子

(57) 【要約】

ヒトNMDA型グルタミン酸受容体サブユニット3A (NR3A) に関する新規な物質を見出すこと。

ヒト脳由来の新規なcDNAを単離し、全塩基配列を解析した。そして、この塩基配列をアミノ酸配列に翻訳してホモロジー検索を行なったところ、ラットNR3Aと93%の相同性を有していることを確認し、これがヒトNR3Aであることを見出した。さらに、精神分裂病患者の脳において、NR3Aをコードする遺伝子が有意に増加していることを確認し、NR3Aが精神分裂病の病態に関与する物質であることを見出して本発明を完成するに至った。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

下記の群より選ばれる N - m e t h y l - D - a s p a r t a t e (N M D A) 型グルタミン酸受容体に関連するポリペプチドまたは該ポリペプチドを含有するタンパク質；

- 1 配列表の配列番号 1 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、
- 2 前記 1 のポリペプチドを含有するポリペプチド、
- 3 前記 1 のポリペプチドと少なくとも約 50% のアミノ酸配列上の同一性を有するポリペプチド、

および

- 4 前記 1 ~ 3 のアミノ酸配列において 1 ないし数個のアミノ酸の欠失、置換、付加あるいは挿入といった変異を有するポリペプチド。

10

【請求項 2】

配列表の配列番号 1 に記載のアミノ酸配列の一部を有する部分ペプチドであって、少なくとも約 8 個の連続するアミノ酸配列を有するペプチド。

【請求項 3】

請求の範囲第 1 項に記載のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドまたはその相補鎖。

【請求項 4】

配列表の配列番号 2 に記載の塩基配列のうちコーディング領域の 602 ~ 3949 の配列からなるポリヌクレオチドまたはその相補鎖。

20

【請求項 5】

請求の範囲第 3 項または第 4 項に記載のポリヌクレオチドまたはその相補鎖とストリンジエントな条件下でハイブリダイゼーションするポリヌクレオチド。

【請求項 6】

請求の範囲第 2 項に記載のペプチドをコードするポリヌクレオチドまたはその相補鎖。

【請求項 7】

配列表の配列番号 2 に記載の塩基配列のうちコーディング領域の 602 ~ 3949 の配列からなるポリヌクレオチドまたはその相補鎖の塩基配列の少なくとも約 15 個の連続する塩基配列からなるポリヌクレオチド。

【請求項 8】

請求の範囲第 6 項または第 7 項に記載のポリヌクレオチドまたはその相補鎖とストリンジエントな条件下でハイブリダイゼーションするポリヌクレオチド。

30

【請求項 9】

請求の範囲第 3 項 ~ 第 8 項に記載のいずれか 1 つのポリヌクレオチドまたはその相補鎖を含有する組換えベクター。

【請求項 10】

請求の範囲第 9 項に記載の組換えベクターで形質転換された形質転換体。

【請求項 11】

請求の範囲第 10 項に記載の形質転換体を培養する工程を含む、請求の範囲第 1 項または第 2 項に記載のポリペプチドもしくは該ポリペプチドを有するタンパク質またはペプチドの製造方法。

40

【請求項 12】

請求の範囲第 1 項または第 2 項に記載のポリペプチドもしくは該ポリペプチドを有するタンパク質またはペプチドを免疫学的に認識する抗体。

【請求項 13】

少なくとも N M D A 型グルタミン酸受容体サブユニットを認識する、請求の範囲第 1 2 項に記載の抗体。

【請求項 14】

請求の範囲第 1 項に記載のポリペプチドまたは該ポリペプチドを有するタンパク質と相互作用してその活性を阻害もしくは促進する作用を有する化合物、および / または請求の範

50

図第3項ないし第5項に記載のいずれか1つのポリヌクレオチドと相互作用してその発現を阻害もしくは促進する作用を有する化合物のスクリーニング方法であって、請求の範囲第1項または第2項に記載のポリペプチドもしくは該ポリペプチドを有するタンパク質またはペプチド、請求の範囲第3項ないし第8項に記載のいずれか1つのポリヌクレオチド、請求の範囲第9項に記載のベクター、請求の範囲第10項に記載の形質転換体、請求の範囲第12項もしくは第13項に記載の抗体のうちの少なくともいずれか1つを用いることを特徴とする抗精神病薬のスクリーニング方法。

【請求項15】

請求の範囲第1項に記載のポリペプチドまたは該ポリペプチドを有するタンパク質と相互作用してその活性を阻害もしくは活性化する化合物、または請求の範囲第3項ないし第5項に記載のいずれか1つのポリヌクレオチドと相互作用してその発現を阻害もしくは促進する化合物のスクリーニング方法であって、化合物とポリペプチドまたはタンパク質との間の相互作用を可能にする条件下で、ポリペプチドまたはタンパク質とスクリーニングすべき化合物とを接触させて化合物の相互作用を評価し（かかる相互作用はポリペプチドまたはタンパク質と化合物との相互作用に応答した検出可能シグナルを提供し得る第2の成分に関連したものである）、次いで、化合物とポリペプチドまたはタンパク質との相互作用により生じるシグナルの存在または不存在または変化を検出することにより、化合物がポリペプチドまたはタンパク質と相互作用して、その活性を活性化または阻害するかどうかを決定することを含む抗精神病薬のスクリーニング方法。

【請求項16】

請求の範囲第14項または第15項に記載の抗精神病薬のスクリーニング方法でスクリーニングされる化合物であって、請求の範囲第1項に記載のポリペプチドまたは該ポリペプチドを有するタンパク質と相互作用してその活性を阻害または促進する化合物またはその塩。

【請求項17】

請求の範囲第14項または第15項に記載の方法でスクリーニングされる化合物であって、請求の範囲第3項ないし第5項に記載のいずれか1つのポリヌクレオチドと相互作用してその発現を阻害もしくは促進する化合物またはその塩。

【請求項18】

請求の範囲第1項または第2項に記載のポリペプチドもしくは該ポリペプチドを有するタンパク質またはペプチド、請求の範囲第3項ないし第8項に記載のいずれか1つのポリヌクレオチド、請求の範囲第9項に記載のベクター、請求の範囲第10項に記載の形質転換体、請求の範囲第12項もしくは第13項に記載の抗体、または請求の範囲第16項もしくは第17項に記載の化合物のうちの少なくともいずれか1つを含有することを特徴とする抗精神病薬からなる医薬組成物。

【請求項19】

請求の範囲第1項に記載のポリペプチドまたは該ポリペプチドを有するタンパク質の発現または活性に関連した疾病（精神分裂病）の診断方法であって、（a）該ポリペプチドまたはタンパク質をコードしている核酸、および/または（b）試料中の該ポリペプチドまたはタンパク質をマーカーとして分析することを含む方法。

【請求項20】

請求の範囲第1項または第2項に記載のポリペプチドもしくは該ポリペプチドを有するタンパク質またはペプチド、請求の範囲第3項ないし第8項に記載のいずれか1つのポリヌクレオチド、または請求の範囲第12項もしくは第13項に記載の抗体のうちの少なくともいずれか1つを含んでなる、（a）該ポリペプチドまたはタンパク質をコードしている核酸、および/または（b）試料中の該ポリペプチドまたはタンパク質をマーカーとして分析することを含む方法に使用する精神分裂病診断用試薬キット。

【発明の詳細な説明】

技術分野

本発明は、ヒトNMDA型グルタミン酸受容体サブユニット3Aポリペプチドまたはタン

10

20

30

40

50

パク質、および該ポリペプチドまたはタンパク質をコードするポリヌクレオチドに関するものである。さらに詳しくは、該ポリペプチドもしくはタンパク質のアミノ酸配列の全部もしくは一部を有するペプチド、該ペプチドまたはポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、該ポリヌクレオチド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、該形質転換体を使ったペプチドまたはポリペプチドの製造方法、該ペプチドまたは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、該スクリーニングされた化合物、該ポリペプチドもしくは該ポリヌクレオチドに作用する活性阻害化合物または活性賦活化合物、これらに関する医薬組成物、およびこれらに関する疾病診断方法に関する。

背景技術

N - m e t h y l - D - a s p a r t a t e (N M D A) 型グルタミン酸受容体は、発達脳の可塑性、記憶・学習、知覚系の神経伝達、呼吸および血圧の制御など、種々の生理機能に関与していると考えられている (C o l l i n g r i d g e G . L . a n d B l i s s T . V . P . (1 9 8 7) T r e n d s N e u r o s c i . , 1 0 , 2 8 8 - 2 9 3) 。

N M D A 型グルタミン酸受容体はグルタミン酸受容体の一種でラット、マウスでは3つのサブユニット (N R 1 、 N R 2 、 N R 3 A) が報告されている。N R 1 サブユニットと N R 2 サブユニットが4ないし5量体となりリガンド依存性イオンチャンネルを形成する。通常はシナプス間隙中の $M g^{2+}$ によって閉塞されており、頻回興奮などによって膜電位が脱分極状態にあると $M g^{2+}$ 閉塞が解かれて活性化する。イオンチャンネルは $N a^{+}$ および $C a^{2+}$ 透過性をもち、シナプス後細胞内の $C a^{2+}$ 濃度を上昇させることが生理的役割とされる。生体内でのリガンドはグルタミン酸およびアスパラギン酸であるが、N M D A によって強く活性化される。

アフリカツメガエルの卵母細胞にラット N R 1 サブユニットと N R 2 サブユニットを共発現させると、イオンチャンネルを形成し、電流応答が記録される。また、ラット N R 1 サブユニット、N R 2 サブユニットおよび N R 3 A サブユニットを共発現させると電流量が減少した。したがって、N R 3 A は抑制性サブユニットと考えられる (D a s S . e t a l . (1 9 9 8) N a t u r e , 3 9 3 , 3 7 7 - 3 8 1) 。

海馬 C A 1 でのみ N R 1 を欠損したマウスでは長期増強 (L T P) 、空間記憶、時間記憶がともに傷害されていた (S h i m i z u E . (2 0 0 0) S c i e n c e 2 9 0 , 1 1 7 0 - 4) 。 N R 2 D を過剰発現させたマウスでは L T P 、長期抑制 (L T D) が減少した (O k a b e S . e t a l . (1 9 9 8) J . N e u r o s c i . , 1 8 , 4 1 7 7 - 8 8) 。一方 N R 2 B 過剰発現マウスでは L T D は変化がなかったが、L T P は5倍に増加し、学習能が増加していた (T a n g Y . P . e t a l . (1 9 9 9) N a t u r e , 4 0 1 , 6 3 - 9) 。 N R 3 A を欠損したマウスは N M D A に対する感受性が増大し、樹状突起のスパインが増加していた (D a s S . e t a l . (1 9 9 8) N a t u r e , 3 9 3 , 3 7 7 - 3 8 1) 。したがって、N M D A 型グルタミン酸受容体はシナプス形成、シナプスの可塑性、記憶形成に必要であると考えられる。

N M D A 型グルタミン酸受容体と精神分裂病

解離性麻酔薬であるフェンサイクリジン (P C P) はエンジェルダストの通称で1970年頃から密かに流通し、アメリカではコカインと並ぶ代表的な乱用薬物となっている。P C P の連用によって精神分裂病類似の症状が発現するが、これは幻覚・妄想などいわゆる陽性症状のみならず、感情鈍麻、疎通性低下などの陰性症状も引き起こし、精神分裂病モデルとして関心を呼んだ。ところがこの P C P が N M D A 型グルタミン酸受容体のアンタゴニストとして作用することがわかり、グルタミン酸受容体と分裂病とのつながりを示すものとして注目を集めている (W r o b l e w s k i J . T . a n d D a n y s z W . (1 9 8 9) A n n u . R e v . P h a r m a c o l . T o x i c o l . , 2 9 , 4 4 1 - 4 7 4) 。また、N M D A 型グルタミン酸受容体のアンタゴニストはラットの帯状回などに対して神経毒性を持ち、その毒性が抗精神病薬で拮抗されることなどの報告がある (F i x A . S . e t a l . (1 9 9 3) E x p . N e u r o l . , 1 2 3 , 2 0

10

20

30

40

50

4 - 2 1 5)。

一方で、NR1の発現を正常の5%程度に減らした変異マウスが作製され、その行動を観察したところ、移所運動、常同行動の増加および社会行動・性行動の回避といった精神分裂病様の行動様式を示した。さらに、これらの症状は抗精神病薬であるハロペリドール、クロザピンで改善され、クロザピンがより有効であった(Mohn A. R. et al. (1999) Cell, 98, 427-36)。

NR3Aサブユニットと精神分裂病

PCPの乱用による精神分裂病症状やNMDA型グルタミン酸受容体アンタゴニストを投与した動物の解析、さらにNMDA型グルタミン酸受容体サブユニットの発現変動動物の作製により、NMDA型グルタミン酸受容体の機能不全が精神分裂病と密接に関連していることが考えられる。また、NR3AサブユニットはNR1/NR2ヘテロ重合体に結合し、チャンネルとしての機能を阻害する。

しかしながら、ヒトにおいてはNR3Aサブユニットはまだ見出されておらず、また精神分裂病との関連性も証明されていなかった。

(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の一つは、上記のようにヒトNMDA型グルタミン酸受容体サブユニット3A(NR3A)に関する新規な物質を見出すことである。また、本発明のもう一つの課題は、ヒトNR3Aの生体内における生理的役割および機能を明確にし、ヒトNR3Aが関与する疾患の診断方法、有用な治療薬・治療方法、治療薬のスクリーニング方法等を提供することである。

(課題を解決するための手段)

本発明者らは、鋭意研究を重ねた結果、ヒト脳由来の新規なcDNA(管理コード:PF00154)を単離し、全塩基配列を解析することに成功した。そして、この塩基配列をアミノ酸配列に翻訳してホモロジー検索を行なったところ、ラットNR3Aと93%の相同性を有していることを確認し、これがヒトNR3Aであることを見出した。さらに、本発明者らは、精神分裂病患者と非精神分裂病患者の死後脳におけるNR3A遺伝子の発現量を比較することにより、精神分裂病患者の脳において、NR3Aをコードする遺伝子が有意に増加していることを確認し、NR3Aが精神分裂病の病態に関与する物質であることを見出して本発明を完成するに至った。

発明の開示

すなわち、本発明は、

1. 下記の群より選ばれるヒトN-methyl-D-aspartate(NMDA)型グルタミン酸受容体に関連するポリペプチドまたは該ポリペプチドを有するタンパク質;

1 配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、

2 前記 1 のポリペプチドを含有するポリペプチド、

3 前記 1 のポリペプチドと少なくとも約50%のアミノ酸配列上の相同性を有するポリペプチド、

および

4 前記 1 ~ 3 のアミノ酸配列において1ないし数個のアミノ酸の欠失、置換、付加あるいは挿入といった変異を有するポリペプチド。

2. 配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列の一部を有する部分ペプチドであって、少なくとも約8個の連続するアミノ酸配列を有するペプチド。

3. 前項1に記載のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドまたはその相補鎖。

4. 配列表の配列番号2に記載の塩基配列のうちコーディング領域の602~3949の配列からなるポリヌクレオチドまたはその相補鎖。

5. 前項3または4に記載のポリヌクレオチド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するポリヌクレオチド。

6. 前項2に記載のペプチドをコードするポリヌクレオチドまたはその相補鎖。

7. 配列表の配列番号2に記載の塩基配列のうちコーディング領域の602~3949の

配列からなるポリヌクレオチドまたはその相補的塩基配列の少なくとも約 15 個の連続する塩基配列からなるポリヌクレオチド。

8. 前項 6 または 7 に記載のポリヌクレオチド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するポリヌクレオチド。

9. 前項 3 ~ 8 に記載のいずれか 1 つのポリヌクレオチドまたはその相補鎖を含有する組換えベクター。

10. 前項 9 に記載の組換えベクターで形質転換された形質転換体。

11. 前項 10 に記載の形質転換体を培養する工程を含む、前項 1 または 2 に記載のポリペプチドもしくは該ポリペプチドを有するタンパク質またはペプチドの製造方法。

12. 前項 1 または 2 に記載のポリペプチドもしくは該ポリペプチドを有するタンパク質またはペプチドを免疫学的に認識する抗体。

13. 少なくとも NMDA 型グルタミン酸受容体サブユニットを認識する、前項 12 に記載の抗体。

14. 前項 1 に記載のポリペプチドまたは該ポリペプチドを有するタンパク質と相互作用してその活性を阻害もしくは促進する作用を有する化合物、および / または前項 3 ないし 5 に記載のいずれか 1 つのポリヌクレオチドと相互作用してその発現を阻害もしくは促進する作用を有する化合物のスクリーニング方法であって、前項 1 または 2 に記載のポリペプチドもしくは該ポリペプチドを有するタンパク質またはペプチド、前項 3 ないし 8 に記載のいずれか 1 つのポリヌクレオチド、前項 9 に記載のベクター、前項 10 に記載の形質転換体、前項 12 もしくは 13 に記載の抗体のうちの少なくともいずれか 1 つを用いることを特徴とする抗精神病薬のスクリーニング方法。

15. 前項 1 に記載のポリペプチドまたは該ポリペプチドを有するタンパク質と相互作用してその活性を阻害もしくは活性化する化合物、または前項 3 ないし 5 に記載のいずれか 1 つのポリヌクレオチドと相互作用してその発現を阻害もしくは促進する化合物のスクリーニング方法であって、化合物とポリペプチドまたはタンパク質との間の相互作用を可能にする条件下で、ポリペプチドまたはタンパク質とスクリーニングすべき化合物とを接触させて化合物の相互作用を評価し（かかる相互作用はポリペプチドまたはタンパク質と化合物との相互作用に回答した検出可能シグナルを提供し得る第 2 の成分に関連したものである）、次いで、化合物とポリペプチドまたはタンパク質との相互作用により生じるシグナルの存在または不存在または変化を検出することにより、化合物がポリペプチドまたはタンパク質と相互作用して、その活性を活性化または阻害するかどうかを決定することを含む抗精神病薬のスクリーニング方法。

16. 前項 14 または 15 に記載の抗精神病薬のスクリーニング方法でスクリーニングされる化合物であって、前項 1 に記載のポリペプチドまたは該ポリペプチドを有するタンパク質と相互作用してその活性を阻害または促進する化合物またはその塩。

17. 前項 14 または 15 に記載の方法でスクリーニングされる化合物であって、前項 3 ないし 5 に記載のいずれか 1 つのポリヌクレオチドと相互作用してその発現を阻害もしくは促進する化合物またはその塩。

18. 前項 1 または 2 に記載のポリペプチドもしくは該ポリペプチドを有するタンパク質またはペプチド、前項 3 ないし 8 に記載のいずれか 1 つのポリヌクレオチド、前項 9 に記載のベクター、前項 10 に記載の形質転換体、前項 12 もしくは 13 に記載の抗体、または前項 16 もしくは 17 に記載の化合物のうちの少なくともいずれか 1 つを含有することを特徴とする抗精神病薬からなる医薬組成物。

19. 前項 1 に記載のポリペプチドまたは該ポリペプチドを有するタンパク質の発現または活性に関連した疾病（精神分裂病）の診断方法であって、（a）該ポリペプチドまたはタンパク質をコードしている核酸、および / または（b）試料中の該ポリペプチドまたはタンパク質をマーカーとして分析することを含む方法。

20. 前項 1 または 2 に記載のポリペプチドもしくは該ポリペプチドを有するタンパク質またはペプチド、前項 3 ないし 8 に記載のいずれか 1 つのポリヌクレオチド、または前項 12 もしくは 13 に記載の抗体のうちの少なくともいずれか 1 つを含んでなる、（a）該

10

20

30

40

50

ポリペプチドまたはタンパク質をコードしている核酸、および/または(b)試料中の該ポリペプチドまたはタンパク質をマーカーとして分析することを含む方法に使用する精神分裂病診断用試薬キット。

に関するものである。

発明を実施するための最良の形態

(新規なヒトNR3Aタンパク質)

本発明において提供される新規なヒトNR3Aタンパク質は、N-methyl-D-aspartate(NMDA)型グルタミン酸受容体に関連するものであり、ヒト脳細胞中のmRNAからクローニングされたもので、新規なアミノ酸配列を有する物質としてそのcDNAが取得されたものである。当該cDNAクローンにコードされるアミノ酸配列は配列表の配列番号1に記載した。そして本発明からなる新規なNR3AのcDNAは、脳で発現が高く、次いで脊髄、卵巣、肝臓、心臓、精巣、腎臓、脾臓で発現量が高かった。また、脳においては、扁桃体において最も発現が高く、次いで視床下核、海馬、視床、黒質などでの発現が高かった。特に、精神分裂病患者の脳内において、本発明タンパク質をコードする遺伝子の高い発現が確認された。

本発明に係る新規なNR3Aタンパク質は1115個のアミノ酸残基からなる。そして、その遺伝子は3348塩基対のオープンリーディングフレームを有し、推定アミノ酸配列全体に渡ってラットN-methyl-D-aspartate receptor homolog NMDAR-L(EMBL protein accession番号:T31068)と93%の相同性がある。また、膜蛋白予想プログラムにより、膜貫通ドメインの予想を行ったところ、8番目から29番目、674番目から695番目、712番目から734番目、744番目から766番目および929番目から951番目の5箇所において膜貫通ドメインが予想される。

(タンパク質、ポリペプチドまたはペプチド)

本発明に係る新規なヒトNR3Aタンパク質は、配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列と同一、または実質的に同一なアミノ酸配列を含有するタンパク質である。当該新規なヒトNR3Aタンパク質は、ヒトの細胞に存在するあらゆる組織に由来するタンパク質であってもよく、また合成タンパク質であってもよい。

配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列としては、少なくともN-methyl-D-aspartate(NMDA)型グルタミン酸受容体に関連を維持し、また実施例3および7にみられる発現特性を保持する限りは特に限定されず、例えば、配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列と約50%以上、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%以上、最も好ましくは約95%以上の相同性を有するアミノ酸配列等が挙げられる。

また、配列表の配列番号1と実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質としては、例えば、配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、さらに、配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質と実質的に同質の機能特性を有するタンパク質等が例示される。実質的に同質の活性として、少なくともN-methyl-D-aspartate(NMDA)型グルタミン酸受容体に関連を維持することが挙げることができる。

アミノ酸配列の相同性を決定する技術は、自体公知であり、例えばアミノ酸配列を直接決定する方法、cDNAの塩基配列を決定後これにコードされるアミノ酸配列を推定する方法等が可能である。

本発明に係る新規なNR3Aポリペプチドを含むタンパク質は「成熟」タンパクの形態であってもよく、あるいは融合タンパクのごとき大型のタンパクの一部であってもよい。分泌またはリーダー配列、プロ配列、複数のヒスチジン残基のごとき精製を促進する配列、または組換え生産を行っている間の安定性のためのさらなる配列を含むものであってもよい。

本発明に係るポリペプチドまたはペプチドは、配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドの部分配列を有するポリペプチドまたはペプチドを包含し、これら

10

20

30

40

50

は例えば試薬・標準物質・免疫原として利用できる。その最小単位としては8個以上のアミノ酸、好ましくは10個以上のアミノ酸、より好ましくは12個以上、さらに好ましくは15個以上の連続するアミノ酸で構成されるアミノ酸配列からなり、好ましくは免疫学的に同定し得るポリペプチドまたはペプチドを本発明の対象とする。これらのペプチドは、試薬もしくは標準物質、または後述するように本発明に係る新規なヒトNR3Aタンパク質に特異的な抗体を作製するための抗原として単独またはキャリア（例えば、キーホールリンペイトヘモシアニンまたは卵白アルブミン）と結合して使用できるが、これらのように別種のタンパク質または物質を結合したのも本発明の範囲に包含される。部分配列は、「独立して存在するもの（free standing）」であるか、あるいはより大きなポリペプチド内に含まれていてもよく、その中で部分配列は一部分もしくはある領域を形成していてもよい。最も好ましくは、単一の連続した領域としてより大きなポリペプチドに含まれる。

10

さらに、このように特定されたポリペプチドまたはペプチドを基にして、N-methyl-D-aspartate (NMDA) 型グルタミン酸受容体との関連を指標とすることにより、1以上、例えば1~100個、好ましくは1~30個、より好ましくは1~20個、さらに好ましくは1~10個で特に好ましくは1ないし数個のアミノ酸の欠失、置換、付加あるいは挿入といった変異を有するアミノ酸配列からなるポリペプチドまたはペプチドも提供される。欠失、置換、付加あるいは挿入の手段は自体公知であり、例えば、部位特異的変異導入法、遺伝子相同組換え法、プライマー伸長法またはポリメラーゼ連鎖増幅法（PCR）を単独または適宜組み合わせ、例えば、Molecular Cloning; A Laboratory Manual、第2版、Sambrookら編、コールド・スプリング・ハーバー・ラボラトリー・プレス、コールド・スプリング・ハーバー、ニューヨーク、1989年；[ラボマニュアル遺伝子工学]、村松正實編、丸善株式会社、1988年；[PCRテクノロジー、DNA増幅の原理と応用]、Ehrlich, H.E. 編、ストックトンプレス、1989年等の成書に記載の方法に準じて、あるいはそれらの方法を改変して実施することができ、例えばUlmerの技術（Science (1983) 219: 666）を利用することができる。例えば、N末端を含む一連の残基が欠失、またはC末端を含む一連の残基が欠失、あるいは一方がN末端でもう一方がC末端を含む2種の一連の残基が欠失していること以外は上記新規なヒトNR3Aタンパク質のアミノ酸配列を有する末端切断ポリペプチドを包含する。

20

30

また、構造的または機能的属性により特徴づけられる部分配列、例えばアルファヘリックスおよびアルファヘリックス形成領域、ベータシートおよびベータシート形成領域、ターンおよびターン形成領域、コイルおよびコイル形成領域、親水性領域、疎水性領域、アルファ両親媒性領域、ベータ両親媒性領域、可変領域、表面形成領域、基質結合領域、5回の膜貫通ドメインおよび高抗原性指標領域を含む部分配列等も好ましい。また、生物学的に活性な領域も好ましく、類似の活性もしくは改善された活性のある、または望ましくない活性を減じた部分配列等がある。動物、とりわけヒトにおいて抗原的または免疫原的な部分配列もまた含まれる。

本発明に係るタンパク質、ポリペプチドおよびそれらの部分配列ペプチドのアミノ酸配列は保存的アミノ酸置換により変化したのも含まれている。かかる典型的な置換は、Ala、Val、LeuおよびIle間；SerおよびThr間；AspおよびGlu間；AsnおよびGln間；ならびに塩基性残基LysおよびArg間；あるいは芳香族残基Phe、TrpおよびTyr間におけるものである。数個、5ないし10個、1ないし5個、または1ないし2個のアミノ酸がいずれかの組み合わせで置換、欠失または付加されているものが特に好ましい。

40

上記のような変異の導入において、当該タンパク質の基本的な性質（物性、活性、または免疫学的活性等）を変化させないという観点からは、例えば、同族アミノ酸（極性アミノ酸、非極性アミノ酸、疎水性アミノ酸、親水性アミノ酸、陽性荷電アミノ酸、陰性荷電アミノ酸、芳香族アミノ酸等）の間での相互置換は容易に想定される。

なお、本発明に係る新規なヒトNR3Aタンパク質はペプチド結合または修飾されたペプ

50

チド結合により互いに結合している2個またはそれ以上のアミノ酸を含む任意のペプチドを意味する。また、本明細書において、ペプチド、オリゴペプチドおよびオリゴマーとも称する短鎖をポリペプチド、また、長鎖のものをタンパク質ということもある。

本発明に係る新規なヒトNR3Aタンパク質は、20種の遺伝子によりコードされたアミノ酸とは異なるアミノ酸を含有することもできる。「タンパク質」には、プロセッシングおよびその他の翻訳後修飾のような天然のプロセッシングにより修飾されたものが含まれるが、当業者に周知の化学修飾技術によっても修飾される。このような修飾は基礎的な参考書およびさらに詳細な論文ならびに多数の研究文献にも詳しく記載されており、これらは当業者に周知である。

修飾は、ペプチド骨格、アミノ酸側鎖およびN末端側またはC末端側等のポリペプチドの任意の部位で行われ得る。同一の型の修飾は該ポリペプチドの幾つかの部位で、同一または異なる程度で存在し得る。また、タンパク質は多くの型の修飾をも含み得る。タンパク質は、ユビキチネーションの結果として分枝状であってもよく、分枝を伴うまたは伴わない環状のものであってもよい。環状、分枝状および分枝状かつ環状のタンパク質は翻訳後の天然プロセッシングにより生じるものであってもよく、あるいは合成法により製造されるものであってもよい。

修飾には、アセチル化、アシル化、ADP-リボシル化、アミド化、フラビンの共有結合、ヘム部分の共有結合、ヌクレオチドまたはヌクレオチド誘導体の共有結合、脂質または脂質誘導体の共有結合、ホスファチジルイノシトールの共有結合、交差架橋、環化、ジスルフィド結合形成、脱メチル化、交差架橋共有結合形成、シスチン形成、ピログルタメート形成、ホルミル化、ガンマーカルボキシル化、グリコシル化、GPIアンカー形成、水酸化、ヨウ素化、メチル化、ミリストイル化、酸化、タンパク加水分解プロセッシング、リン酸化、プレニル化、ラセミ化、グリコシル化、脂質結合、硫酸化、およびセレノイル化、アルギニル化のようなトランスファーRNA媒介のタンパクへのアミノ酸の添加、ならびにユビキチネーション等がある。

例えば、Proteins - Structure and Molecular Properties、第2版、T. E. Creighton、W. H. Freeman and Company、ニューヨーク、1993年およびPost-translational Covalent Modification of Proteins、B. C. Johnson編、アカデミックプレス、ニューヨーク、1983年のWorld, F. , Posttranslational Protein Modifications: Perspective and Prospects、1-12頁; Seiffter et al. , Meth. Enzymol. (1990) 182: 626-646およびRattan et al. , Protein Synthesis: Post-translational Modifications and Aging, Ann. N. Y. Acad. Sci. (1992) 663: 48-62参照。

さらに、本発明に係るポリペプチド等の検出もしくは精製を容易にするために、または別の機能を付加するために、N末端側やC末端側に別のタンパク質、例えばアルカリホスファターゼ、 α -ガラクトシダーゼ、IgG等の免疫グロブリンFc断片またはFLAG-tag等のペプチドを直接またはリンカーペプチド等を介して間接的に遺伝子工学的手法等を用いて付加することは当業者には容易であり、これらの別の物質を結合したポリペプチド等も本発明の範囲に包含される。なお、ヒト以外の動物種の相同遺伝子産物も当然本発明の範囲に包含される。

(ポリヌクレオチド)

一つの態様において、本発明に係るポリヌクレオチドおよびその相補鎖は、本発明に係るポリペプチド等、例えば配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドをコードするポリヌクレオチドおよび該ポリヌクレオチドに対する相補鎖を意味する。これらは例えば上記新規なヒトNR3Aタンパク質の製造に有用な遺伝子情報を提供するものであり、あるいは核酸に関する試薬・標準品としても利用できる。好ましいポリヌクレオチドの塩基配列は、配列表の配列番号2のうちコーディング領域の602~3949の

10

20

30

40

50

配列に記載した。

別の態様において本発明は、本発明に係るポリペプチドまたはペプチドのアミノ酸配列、例えば配列表の配列番号1のアミノ酸配列からなるポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、好ましくは配列表の配列番号2の塩基配列のうちコーディング領域の602~3949の配列からなるポリヌクレオチドまたはその相補鎖の対応する領域にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドを提供する。ハイブリダイゼーションの条件は、例えば、Molecular Cloning; A Laboratory Manual、第2版、Sambrookら編、コールド・スプリング・ハーバー・ラボラトリー・プレス、コールド・スプリング・ハーバー、ニューヨーク、1989年等に従うことができる。ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件は一般に知られたものであるが、その一例としては、50%ホルムアミド、5xSSC(150mM NaCl、15mMクエン酸三ナトリウム)、50mMリン酸ナトリウム、pH7.6、5xデンハーツ溶液、10%デキストラン硫酸、および20µg/mlの変性剪断サケ・精子DNAを含む溶液中、42℃で一晩、次いで、約65℃において0.1xSSC中での洗浄といった条件であってもよい。

10

これらのポリヌクレオチドは目的のポリヌクレオチド、特に配列表の配列番号2の塩基配列のうちコーディング領域の602~3949の配列からなるポリヌクレオチドまたはその相補鎖にハイブリダイズするものであれば必ずしも相補的配列でなくとも良い。例えば、配列表の配列番号2の塩基配列のうちコーディング領域の602~3949の配列またはその相補的配列に対する相同性において、少なくとも約40%、例えば、約70%以上、好ましくは約80%以上、より好ましくは約90%以上、さらに好ましくは約95%以上である。また本発明に係るポリヌクレオチドは、指定された塩基配列の領域に対応する連続する10個以上の、好ましくは15個以上の、より好ましくは20個以上のヌクレオチドからなるポリヌクレオチドまたはオリゴヌクレオチドおよびこれらの相補鎖を包含する。ここで、本発明に係る新規なヒトNR3Aタンパク質またはこれと同様の活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチドの塩基配列の決定は、例えば公知のタンパク質発現系を利用して発現タンパク質の確認を行い、その生理活性特にNMDA型グルタミン酸受容体に関連を維持することを指標にして選別することにより行なうことができる。無細胞タンパク質発現系を利用する場合は、例えばコムギ胚芽、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(1957)179:160-161)。

20

30

上記本発明に係るポリヌクレオチドは、本発明に係るポリペプチド等の製造において、本発明に係る新規なヒトNR3Aタンパク質をコードする核酸、例えば、その遺伝子、もしくはmRNAの検出のためのプローブもしくはプライマー(primer)として、または遺伝子発現を調節するためのアンチセンスオリゴヌクレオチド等として有用である。その意味で、本発明に係るポリヌクレオチドおよびオリゴヌクレオチドは翻訳領域のみでなく、非翻訳領域に対応するものも包含する。例えば、アンチセンスによって本発明に係る新規なNR3A含有タンパク質の発現を特異的に阻害するためには、当該NR3Aタンパク質に固有な領域の塩基配列を用いることが想定される。一方、保存配列を用いることにより当該NR3Aタンパク質を含むタンパク質の発現を同時に抑制することも可能と考えられる。

40

本発明に係るポリヌクレオチドは、一般的には、修飾されていないRNAもしくはDNA、または修飾されたRNAもしくはDNAであってもよい。「RNAもしくはDNA」は、安定性またはその他の理由により、修飾された塩基を有するDNAまたはRNA、ならびに修飾された骨格を有するDNAまたはRNAを包含する。「修飾された」塩基は、例えば、トリチル化塩基およびイノシンのごとき通常的でない塩基を包含する。種々の修飾がDNAおよびRNAについて行われており、典型的に天然において見い出されるポリヌクレオチドの化学的、酵素的または代謝的に修飾された形態、ならびにウイルスおよび細胞に特徴的なDNAおよびRNAの化学的形態を包含する。また、「RNAもしくはDNA」は、しばしば「オリゴヌクレオチド」と称する短いポリヌクレオチドを包含する。

50

本発明に係るポリヌクレオチドは、対象のRNA、DNAによりコードされるアミノ酸配列を変化させるものであってもよく、対象配列によりコードされるポリペプチドにおけるアミノ酸の置換、付加、欠損、融合および末端切断を招く場合があるが、本発明はこれらのものも包含する。これらの変化は1またはそれ以上の置換、付加、欠損が任意の組み合わせで起こることにより、アミノ酸配列が変化し得るものであり、これらの変化は、突然変異技術、直接的合成、および当業者に既知のその他の組換え技術により製造できる。

本発明に係るポリヌクレオチドの塩基配列およびポリペプチドのアミノ酸配列の同一性は、本発明に係るRNA、DNAまたは本発明に係るタンパク質の同一性の尺度である。一般的には、最大限に合致するような配列を並置する。同一性はそれ自体当該分野において認識された意味を有し、公表された方法を用いて算出できる。

例えば、Computational Molecular Biology, Lesk, A. M. 編、オックスフォード・ユニバーシティ・プレス、ニューヨーク、1988年; Biocomputing: Informatics and Genome Projects, Smith, D. W. 編、アカデミック・プレス、ニューヨーク、1993年; Computer Analysis of Sequence Data, パートI, Griffin, A. M. および Griffin, H. G. 編、ヒューマン・プレス、ニュージャージー、1994年; Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heijne, G., アカデミック・プレス、1987年; および Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. および Devereux, J. 編、エム・ストックトン・プレス、ニューヨーク、1994年に記載の方法が利用できる。二つの配列の同一性を測定する方法は多くあるが、用語「同一性」は当業者によく知られている (Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heijne, G., アカデミック・プレス、1987年; Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. および Devereux, J. 編、Mストックトン・プレス、ニューヨーク、1991年; ならびに Carillo, H. and Lipman, D., SIAM J. Applied Math. (1988) 48:1073)。

配列間の同一性または類似性を測定するために通常用いられる方法は Carillo, H. and Lipman, D., SIAM J. Applied Math. (1998) 48:1073 等に開示されているが、これらに限定するものではない。同一性および類似性を決定する方法は、公に入手できるコンピュータープログラムに集成されている。二つの配列間の同一性および類似性を測定する好ましいコンピュータープログラム法には、GCGプログラムパッケージ (Devereux, J., et al., Nucleic Acids Research (1984) 12(1):387)、BLASTP、BLASTN、およびFASTA (Atschul, S. F. et al., J. Mol. Biol. (1990) 215:403) 等があるが、これらに限定するものではない。

(形質転換体)

本発明は、大腸菌、酵母、枯草菌、昆虫細胞、動物細胞、植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も、または本発明に係るDNA由来のRNAを用いた無細胞タンパク質合成法により、本発明に係る新規なヒトNR3Aタンパク質およびその由来物からなるペプチドおよびポリペプチドは提供可能である。

形質転換は、自体公知の手段が応用され、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が行われる。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であるが、簡便には核外遺伝子を利用した自律複製系の利用である。ベクターは、選択した宿主の種類により選別され、発現目的の遺伝子配列と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。組合せは原核細胞、真核細胞によって分別され、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、マーカー配列、転写配列、非翻訳配列、スプライシングおよびポリアデニル化シグナル、mRNAを安定化する配列のごと

10

20

30

40

50

き非コーディング5 および3 配列等を自体公知の方法によって組合せ利用できる。なお、マーカー配列は、pQEベクター(QIAGEN社製)中に提供されるようなヘキサ-

ヒスチジンペプチド(Gentz et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA (1989) 86: 821-824に記載される)またはHAタグ(Wilson et al., Cell (1984) 37: 767)が好適に例示される。DNAの宿主細胞への導入は、例えば、Davisら、Basic Methods in Molecular Biology、1986年; Molecular Cloning; A Laboratory Manual、第2版、Sambrookら編、コールド・スプリング・ハーバー・ラボラトリー・プレス、コールド・スプリング・ハーバー、ニューヨーク、1989年のごとき多くの標準的な実験マニュアルに記載される方法により行なうことができ、例えばリン酸カルシウムトランスフェクション、DEAE-デキストラン媒介トランスフェクション、トランスベクション、マイクロインジェクション、陽イオン脂質媒介トランスフェクション、エレクトロポレーション、形質導入、スクレ-
ープ負荷(scrape loading)、バリスティック導入(ballistic introduction)および感染等がある。

10

適当な宿主の代表的なものには、細菌細胞、例えば連鎖球菌属(streptococci)、ブドウ球菌属(staphylococci)、大腸菌(E. coli)、ストレプトミセス属菌(Streptomyces)および枯草菌(Bacillus subtilis)細胞; 真菌細胞、例えば酵母細胞およびアスペルギルス属(Aspergillus)細胞; 昆虫細胞、例えばドロソフィラS2(Drosophila S2)およびスポドプテラSf9(Spodoptera Sf9)細胞; 動物細胞例えばCHO、COS、HeLa、C127、3T3、BHK、293およびボウズ(Bows)メラノーマ細胞; ならびに植物細胞等がある。

20

ベクターには、染色体、エピソームおよびウイルス由来のベクター、例えば細菌プラスミド由来、バクテリオファージ由来、トランスポゾン由来、酵母エピソーム由来、挿入エレメント由来、酵母染色体エレメント由来、例えばバキュロウイルス、パポウイルス、例えばSV40、ワクシニアウイルス、アデノウイルス、鶏痘ウイルス、仮性狂犬病ウイルスおよびレトロウイルス等のウイルス由来のベクター、ならびにそれらを組み合わせたベクター、例えばプラスミドおよびバクテリオファージの遺伝学的エレメント由来のベクター、例えばコスミドおよびファージミド等がある。

30

発現系の構築物には発現を制御および引き起こす調節領域を含有させることができる。通常、宿主中にDNAを保持、伸長または発現するためには、タンパク質を発現するのに適した任意の系またはベクターを選択することが必要となる。これらは周知の技術により適当なDNA配列を発現系に挿入することができ、例えば、Molecular Cloning; A Laboratory Manual、第2版、Sambrookら編、コールド・スプリング・ハーバー・ラボラトリー・プレス、コールド・スプリング・ハーバー、ニューヨーク、1989年に記載されている。また、翻訳タンパクを、小胞体内腔、ペリプラスミックススペースまたは細胞外環境へ分泌させるために、適当な分泌シグナルを発現するタンパク質に組み込むことができる。これらのシグナルはタンパク質に本来的なものであってもよく、あるいは異種性のシグナルであってもよい。

40

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される。培養は、発現産生される本発明に係る新規なヒトNR3Aタンパク質およびその由来物からなるペプチドおよびポリペプチドの特異配列をマーカーにして行なってもよいが、培地中の形質転換体量を指標にして継代培養またはバッチ培養によって行ってもよい。

目的とするタンパク質、ポリペプチドまたはペプチドが上記形質転換体の培養培地中に分泌される場合は、該培地を回収し、該培地から精製することによりそれらを得ることができる。さらに、それらが上記形質転換体の細胞内に生成される場合は、まず細胞を溶解し、次いで、タンパク質を回収することによって目的のタンパク質、ポリペプチドまたはペプチドを得ることができる。また、目的とするタンパク質、ポリペプチドまたはペプチドをスクリーニングアッセイのために発現させる場合、一般的には、細胞表面にタンパク質

50

を生産させるのが好ましい。この場合、スクリーニングアッセイに使用する前に細胞を集めてもよい。

(新規NR3Aドメイン含有タンパク質及びその由来物の精製・回収)

本発明に係る新規なヒトNR3Aタンパク質およびその由来物からなるペプチドおよびポリペプチドは、ヒトやその他哺乳動物の細胞、組織、培養された該細胞もしくはその培養培地(細胞培養物)、または上記形質転換体の細胞培養物から周知の精製方法により得ることができる。その方法には例えば硫酸アンモニウムまたはエタノール沈殿、酸抽出、陰イオンまたは陽イオン交換クロマトグラフィー、ホスホセルロースクロマトグラフィー、疎水性相互作用クロマトグラフィー、親和性クロマトグラフィー、ヒドロキシルアパタイトクロマトグラフィーおよびレクチンクロマトグラフィー等がある。これらの方法は適宜組み合わせることもよい。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成し、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。また、高速液体クロマトグラフィーを精製に用いるのが最も好ましい。簡便には、ヘパリンを利用した親和性クロマトグラフィーが利用できる。さらに、精製過程において、NMDA型グルタミン酸受容体に関連を維持することを指標にして、精製の確認を行うこともできる。タンパク質が単離および/または精製中に変性した場合、再び活性な立体配座にするために、タンパク質再生のための周知の技法を用いることができる。

10

(抗体)

抗体は、本発明に係る新規なヒトNR3Aタンパク質およびその由来物からなるペプチドまたはポリペプチド、あるいはそれらの抗原決定基を含むペプチドを選別し、これらを抗原として用いて作製する。抗原は当該NR3Aタンパク質またはその断片でもよく、少なくとも8個、好ましくは少なくとも10個、より好ましくは少なくとも12個、さらに好ましくは15個以上のアミノ酸で構成される。当該NR3Aタンパク質に免疫特異的な抗体を作製するためには、新規なヒトNR3Aタンパク質に固有な配列からなる領域を用いることが好ましい。このアミノ酸配列は、必ずしも配列表の配列番号1と相同である必要はなく、タンパク質の立体構造上の外部への露出部位が好ましく、露出部位がアミノ酸の一次配列上で不連続部位であったとしても当該露出部位について連続的なアミノ酸配列であればよい。抗体は、当該NR3Aタンパク質およびその由来物からなるペプチドまたはポリペプチドを免疫学的に結合または認識する限り特に限定されない。この結合または認識の有無は、公知の抗原抗体結合反応によって決定される。「免疫特異的」とは、先行技術の他の関連タンパク質に対する親和性よりも、当該NR3Aタンパク質に対する親和性が実質的に大きいことを意味する。

20

30

抗体の生産は、本発明に係る新規なヒトNR3Aタンパク質、その由来物からなるペプチドまたはポリペプチドを、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なうことによって行われる。担体は、それ自体が宿主に対して有害作用をおこさなければ、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(血漿由来または遺伝子組換え技術により生産されるものを含む)等が例示される。免疫される動物は、マウス、ラット、ウサギ、ヤギ、ウマ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される。好ましい手段としては、免疫アフィニティークロマトグラフィー法である。

40

モノクローナル抗体の生産は、上記の免疫手段が施された動物から抗体産生細胞(例えば、脾臓またはリンパ節由来)を回収し、自体公知の永久増殖性細胞(例えば、P3X63Ag8株等のミエローマ株)への形質転換手段を導入することによって行われる。例えば、上記抗体産生細胞と永久増殖性細胞とから作成されたハイブリドーマをクローン化し、本発明に係る新規なヒトNR3Aタンパク質を特異的に認識する抗体を産生しているハイブリドーマを選別し、該ハイブリドーマの培養液から抗体を回収する。実例としては、ハイブリドーマ法(Kohler, G. and Milstein, C., Nature (1975) 256: 495-497); トリオーマ法(Kozbor et al., I

50

immunology Today (1983) 4: 72); および EBV - ハイブリドーマ法 (Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R Liss, Inc., (1985): 77 - 96) に記載されるような種々の技法がある。

一本鎖抗体の産生のために記載された技術 (米国特許第 4946778 号) は、本発明に係るタンパク質に対する一本鎖抗体を産生するのに適用できる。また、トランスジェニックマウス、または他の哺乳動物を包含する他の生物を用いて、哺乳動物における免疫学的反応を誘起する方法によりヒト化抗体を発現させてもよい。

上記抗体は、本発明に係る新規なヒト NR3A タンパク質を発現するクローンの単離または同定、あるいは親和性クロマトグラフィーによる該タンパク質の精製に使用することができる。

また、上記抗体を用いて、とりわけ、精神分裂病関連疾患を治療してもよい。

(スクリーニングおよびスクリーニングされた化合物)

かくして調製された新規なヒト NR3A タンパク質およびその由来物からなるペプチドまたはポリペプチド、これらをコードするポリヌクレオチドおよびその相補鎖、これらのアミノ酸配列および塩基配列の情報に基づき形質転換させた細胞、またはこれらを用いるタンパク質合成系並びに当該 NR3A タンパク質およびその由来物からなるペプチドまたはポリペプチドを免疫学的に認識する抗体は、単独または複数手段を組合せることによって、当該 NR3A タンパク質およびその由来物からなるペプチドおよびポリペプチドに対する活性阻害剤または活性賦活剤のスクリーニングに有効な手段を提供する。例えば、ペプチドまたは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、タンパク質合成系を利用した遺伝子レベルでの発現調整剤の選別、抗体を利用した抗体認識物質の選別等を、自体公知の医薬品スクリーニングシステムを利用して実施可能である。本発明のヒト NR3A タンパク質は、精神分裂病疾患との関係が強く示唆される。したがって、本発明に係る新規なヒト NR3A タンパク質を、その活性を阻害または促進する作用を有する化合物を見出すためのスクリーニングに用いることは有用である。

具体的には、本発明に係る新規なヒト NR3A タンパク質およびその由来物からなるペプチドまたはポリペプチドを用いて、スクリーニングの対象とされる化合物とこれらペプチドまたはポリペプチドとの間の相互作用を可能にする条件を選別し、この相互作用の有無を検出することのできるシグナルおよび/またはマーカー (第 2 の成分) を使用する系を導入し、次いで、このシグナルおよび/またはマーカーの存在または不存在またはその変化 (量的変化および/または質的变化を含む) を検出することにより、当該 NR3A タンパク質およびその由来物からなるペプチドおよびポリペプチドの活性を賦活または阻害する化合物をスクリーニング可能である。例えば、当該 NR3A タンパク質を用いて、スクリーニングの対象とされる化合物中で小型分子基質およびリガンドの結合を評価してもよい。これらの基質およびリガンドは天然の基質およびリガンドであってもよく、あるいは構造または機能を模倣したものであってもよい (Coligan et al., Current Protocols in Immunology (1991) 1(2): Chapter 5 参照)。

さらにまた、本発明に係る新規なヒト NR3A タンパク質の cDNA、タンパク質および該タンパク質に対する抗体を用いて、細胞における当該 NR3A タンパク質の mRNA およびタンパク質の産生に対する添加化合物の影響を調べるためのスクリーニングアッセイを行ってもよい。例えば、当該分野で知られた一般的方法により、モノクローナルおよびポリクローナル抗体を用いて、当該 NR3A 含有タンパク質の分泌または細胞結合レベルを測定するための酵素免疫固相法 (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) (ELISA) を構築してもよく、また、これを用いて当該 NR3A タンパク質の産生を阻害または促進し得る因子を適当に処理された細胞または組織から見いだすこともできる。スクリーニングアッセイを行うための一般的方法は当該分野においてよく知られたものである。

スクリーニングの対象とされる化合物としては、例えば細胞、無細胞から調製される物、

化学ライブラリーおよび天然産物混合物などが挙げられる。

このようにしてスクリーニングされた化合物は、本発明に係る新規なヒトNR3Aタンパク質およびその由来物からなるペプチドおよびポリペプチドについての活性阻害剤、活性拮抗剤、活性賦活剤の候補化合物として利用可能である。また、遺伝子レベルでの当該NR3Aタンパク質およびその由来物に対する発現阻害剤、発現拮抗剤、発現賦活剤の候補化合物としても利用可能である。それらは、NR3Aタンパク質に由来する各種症状の予防・治療効果を期待できる。上記スクリーニング方法により選別された候補化合物は、生物学的有用性と毒性とのバランスを考慮してさらに選別することによって、医薬組成物として調製可能である。

(医薬組成物)

本発明において提供される新規なヒトNR3Aタンパク質およびその由来物からなるペプチドまたはポリペプチド、これらをコードするポリヌクレオチドおよびその相補鎖、これらの塩基配列を含むベクター、当該NR3Aタンパク質およびその由来物からなるペプチドまたはポリペプチドを免疫学的に認識する抗体、ならびに上記スクリーニング方法により選別された化合物は、当該NR3A含有タンパク質の活性阻害・拮抗・賦活等の機能を利用した治療薬等の医薬手段として使用可能である。なお、製剤化にあたっては、自体公知のペプチドまたはポリペプチド、タンパク質、ポリヌクレオチド、または抗体等それぞれに応じた製剤化方法を導入すればよい。

例えば、本発明は、抗体および/またはT細胞を産生させるに十分な上記新規なヒトNR3Aタンパク質またはそのフラグメントを哺乳動物に接種して、哺乳動物における免疫学的反応を誘起する方法による治療、精神分裂病に関連する疾患から該動物を防御することにも使用できる。

本発明はさらに、本発明に係る新規なヒトNR3Aタンパク質をインビボで発現させるための核酸ベクターを送達して、かかる免疫学的応答を誘導し、該動物を疾患から保護する抗体を生じさせることに使用することもできる。

さらに、本発明は、哺乳動物宿主中に導入された場合、上記新規なヒトNR3Aタンパク質に対する哺乳動物の免疫学的応答を誘導させる免疫学的ワクチン処方(組成物)にも使用することができる。該組成物は当該新規なヒトNR3Aタンパク質または該タンパク質をコードする遺伝子を含んでなる。ワクチン処方は、さらに適当な担体を含んでいてもよい。当該NR3Aタンパク質は胃で分解される可能性があるため、好ましくは非経口投与する。非経口投与としては、例えば皮下筋肉内、静脈、皮内、腹腔内等への注射による投与が挙げられる。非経口投与に適した処方は、抗酸化剤、バッファー、制細菌剤および処方をレシピエントの血液と等張にする溶質を含んでいてもよい水性または非水性滅菌注射用溶液;ならびに懸濁剤または増粘剤を含んでいてもよい水性または非水性滅菌懸濁液を包含する。処方を1回量または複数回量として容器に入れて提供してもよく、例えば、密封アンプルおよびバイアルに入れて提供してもよく、また使用直前に滅菌液体担体の添加のみを必要とする凍結乾燥状態として保存してもよい。またワクチン処方は、水中油系および当該分野で知られた他の系のごとき処方の免疫原性を高めるためのアジュバント系を含んでいてもよい。用量は、個々のワクチンの活性に左右され、通常の実験により容易に決定することができる。

本発明は、精神分裂病の関与する生体機能の解明、精神分裂病に関連する疾患の解明、予防、治療および診断を可能とする上で非常に有用なものになると期待される。

本発明に係る新規なヒトNR3Aタンパク質およびその活性が過剰な場合、有効量の上記阻害剤化合物を医薬上許容される担体とともに対象に投与して、当該NR3Aタンパク質の活性を阻害し、そのことにより異常な症状を改善することもできる。

さらに、発現ブロック法を用いて内在性の上記NR3Aタンパク質をコードしている遺伝子の発現を阻害してもよい。細胞内で生成した、あるいは別個に投与されたアンチセンス配列を、かかる知られた方法に使用する(例えば、*Oligodeoxynucleotides as Antisense Inhibitors of Gene Expression*, CRC Press, Boca Raton, FL (1988)中、O

10

20

30

40

50

Coccor, J. Neurochem (1991) 56: 560 参照)。別法として、遺伝子とともに三重らせんを形成するオリゴヌクレオチドを用いてもよい(例えば、Lee et al., Nucleic Acids Res (1979) 6: 3073; Cooney et al., Science (1988) 241: 456; Der van et al., Science (1991) 251: 1360 参照)。これらのオリゴヌクレオチドはそれ自体投与することができ、あるいは関連オリゴマーをインビボ(in vivo)で発現させることもできる。

本発明に係る新規なヒトNR3Aタンパク質およびその活性の発現不足に関連する異常な症状の治療には、1つの方法として当該NR3Aタンパク質自体あるいはこのタンパク質をコードする遺伝子を活性化する治療上有効量の化合物(促進剤)を医薬上許容される担体とともに投与し、そのことにより異常な症状を改善することを特徴とする方法が挙げられる。別法として、遺伝子治療を用いて、対象中の細胞による当該NR3Aタンパク質の細胞内での生成を有効ならしめてもよい。例えば、上記のごとく本発明に係るポリヌクレオチドを処理加工して複製欠損レトロウイルスベクターに入れて発現するようにしてもよい。次いで、レトロウイルス発現構築物を単離し、本発明に係る新規なヒトNR3Aタンパク質をコードしているRNAを含むレトロウイルスプラスミドベクターで形質導入したパッケージング細胞中に導入して、今度はパッケージング細胞が目的遺伝子を含む感染性ウイルス粒子を生成するようにしてもよい。インビボでの細胞の処理加工およびインビボでのタンパク質の発現のために、これらのプロデューサー細胞を対象に投与してもよい。遺伝子治療の概説としては、Human Molecular Genetics, T. Strachan and A.P. Read, BIOS Scientific Publishers Ltd (1986) 中、第20章、Gene Therapy and other Molecular Genetic-based Therapeutic Approaches (およびその中の引用文献) 参照。

本発明に係る新規なヒトNR3Aタンパク質およびその由来物からなるペプチドまたはポリペプチドあるいは化合物の処方および投与形態は、適当な医薬担体と組み合わせて処方することが好ましい。かかる処方は、治療上有効量のタンパク質、化合物または抗体、および医薬上許容される担体または賦形剤を含む。かかる担体としては、セイライン、緩衝化セイライン、デキストロース、水、グリセロール、エタノール、およびそれらの混合物が挙げられるが、これらに限らない。処方投与経路に適したものとすべきであり、当業者によく知られている。さらに本発明は、上記本発明成分の1種またはそれ以上を充填した、1個またはそれ以上の容器を含んでなる医薬パックおよびキットにも関する。

本発明に係るタンパク質およびその由来物からなるペプチドまたはポリペプチド、化合物および抗体は単独で使用してもよく、あるいは治療に必要な他の化合物と一緒に使用してもよい。医薬組成物の全身投与の好ましい形態は、注射であり、とりわけ静脈注射である。皮下、筋肉内または腹腔内のような他の注射経路を用いることもできる。全身投与のための別の手段は、胆汁酸塩またはフシジン酸または他の界面活性剤のような浸透剤を用いる経粘膜または経皮投与である。さらに、腸溶処方またはカプセル処方がうまく処方されるならば、経口投与も可能である。これらのタンパク質、化合物または抗体の投与は局所的なものであってもよく、膏薬、パスタ、ゲル等の形態であってもよい。

必要な用量範囲は、有効成分としてのペプチド、化合物または抗体、投与経路、処方の性質、対象の症状の性質、および担当医師の判断による。しかしながら、適当な用量は対象の体重1kgあたり0.1ないし100μgの範囲である。しかしながら、種々の使用タンパク質、化合物および抗体、種々の投与経路のさまざまな有効性を考慮すれば、必要な用量はさらに広範囲なものである。例えば、経口投与には静脈注射よりも多い用量が必要である。当該分野においてよく知られた最適化のための一般的な常套的実験を用いてこれらの用量の変更を行なうことができる。

遺伝子治療において、治療に使用するタンパク質を対象中において生成させることもできる。例えば、タンパク質をコードしているDNAまたはRNAを用いて、例えばレトロウイルスプラスミドベクターを用いることによりエクスピボ(ex vivo)において対

10

20

30

40

50

象由来の細胞を処理加工し、次いで、細胞を対象に導入することもできる。

(診断薬および診断方法)

また本発明に係る新規なヒトNR3Aタンパク質およびその由来物からなるペプチドまたはポリペプチド、これらをコードするポリヌクレオチドおよびその相補鎖、ならびに当該NR3Aタンパク質およびその由来物からなるペプチドまたはポリペプチドを免疫学的に認識する抗体は、それ自体を単独で、診断マーカーや試薬等として使用可能である。また、これらのうちの1種またはそれ以上を充填した、1個またはそれ以上の容器を含んでなる試薬キットも提供する。なお、製剤化にあたっては、自体公知のペプチドまたはポリペプチド、タンパク質、ポリヌクレオチド、または抗体等それぞれに応じた製剤化手段を導入すればよい。

10

診断方法としては、例えば本発明に係る新規なヒトNR3Aタンパク質およびその由来物からなるペプチドまたはポリペプチドをコードしている核酸との相互作用・反応性を利用して、相応する核酸の存在量、および/または当該タンパク質およびその由来物からなるペプチドまたはポリペプチドについて個体中の生体内分布、および/または個体由来の試料中の存在、および/または個体由来の試料中の存在量を、自体公知の方法を利用して測定し、それらの存在の有無および/または存在量の変化(増加または減少)により、本発明に係る当該NR3Aタンパク質およびその由来物からなるペプチドまたはポリペプチドの発現または活性に関連する疾患の有無および/またはその変化(増悪または軽減)を判定できる。詳しくは、当該NR3Aタンパク質および/または核酸をマーカーとして検査するのである。その測定法は、自体公知の抗原抗体反応系、酵素反応系、またはPCR反応系等を利用すればよい。

20

診断用の核酸は、個体由来の細胞、例えば血液、尿、唾液、組織生検または剖検材料から得てもよい。ゲノムDNAを検出に直接使用してもよく、あるいは分析前にPCRもしくはその他の増幅法を用いることにより酵素的に増幅してもよい。RNAまたはcDNAを同様に用いてもよい。正常遺伝子型との比較において、増幅生成物のサイズ変化により欠失および挿入を検出することができる。増幅DNAを標識した上記NR3Aタンパク質をコードするDNAにハイブリダイゼーションさせることにより点突然変異を同定することができる。RNAアーゼ消化により、または融解温度の差により、完全に対合した配列を誤対合二重らせんから区別することができる。DNA配列の相違はまた、変性物質含有または不含のゲル中のDNAフラグメントの電気泳動の移動度の変化を検出することにより、または直接的なDNA配列決定により検出できる(例えば、Meyers et al., Science (1985) 230: 1242参照)。特異的な位置での配列の変化はまた、ヌクレアーゼ保護アッセイ、例えばRNAアーゼおよびS1保護または化学的切断法によっても明らかにすることができる(例えば、Cotton et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA (1985) 85: 4397-4401参照)。また、上記NR3Aタンパク質をコードするDNAまたはそのフラグメントを含むオリゴヌクレオチドプローブのアレイ(array)を構築して、例えば遺伝学的変異の効果的なスクリーニングを行なうことができる。アレイ法はよく知られており、広い適用範囲を有し、遺伝子発現、遺伝学的連関、および遺伝学的変異可能性を包含する分子遺伝学における種々の問題を調べるために用いられ得る(例えば、M. Chee et al., Science (1996) 274: 610参照)。

30

また、本明細書記載の方法により上記NR3Aタンパク質をコードするDNAの変異・減少・増加を検出することにより、精神分裂病との関連がある疾患の診断方法も提供する。さらに、対象由来の試料の異常に上昇または低下した上記NR3Aタンパク質または当該NR3Aタンパク質のmRNAレベルを調べることを特徴とする方法によって、精神分裂病との関連がある疾患の診断方法も提供する。

40

本発明に係る新規なヒトNR3Aタンパク質をコードするDNAの発現の増加または低下を、ポリヌクレオチドの定量法として当該分野で周知の方法の任意の方法、例えば増幅、PCR、RT-PCR、RNAアーゼ保護、ノーザンブロットィングおよびその他のハイブリダイゼーション法を用いてRNAレベルで測定することができる。また、試料中の当該N

50

R3Aタンパク質レベルを決定するために用いることができるアッセイ法は当業者に周知である。このようなアッセイ法には、ラジオイムノアッセイ、競争結合アッセイ、ウェスタンブロット分析およびELISAアッセイ等がある。

本発明に係るポリヌクレオチドの染色体の同定(染色体アッセイ)にも価値がある。該ポリヌクレオチドの配列は、個々のヒト・染色体上の特定の位置を標的とし、これにハイブリダイゼーションし得る。本発明による重要な配列の染色体へのマッピングは、それらの配列を遺伝子関連疾病と関連づける重要な第1工程である。配列を正確な染色体位置にマッピングしたならば、染色体上の配列の物理的位置を遺伝学的地図のデータと関連づけることができる。かかるデータは、例えば、V. McKusick, Mendelian Inheritance in Man (Johns Hopkins University Welch Medical Libraryからオンラインで利用できる)に見い出される。次いで、連関(物理的に近接した遺伝子の同時遺伝)の分析により、同じ染色体領域にマッピングされた遺伝子と疾病との関係を同定する。罹病個体と未罹病個体との間のcDNAまたはゲノム配列の相違も調べることができる。罹病個体のいくつかまたは全部において変異が観察されるが正常個体においては観察されない場合、その変異は疾病の原因である可能性がある。

10

(実施例)

以下、本発明を実施例に基づき具体的に説明するが、本発明は下記の実施例に限定されない。

20

(実施例1)

(ヒト脳由来cDNAライブラリーの構築と遺伝子の分取)

ヒト脳海馬由来cDNAのクローニング

ヒト脳海馬由来cDNAライブラリーの構築は、Oharaら(Ohara O. et al. (1997) DNA Res. 4, 53-59)の方法に従った。即ち、Not I部位を有するオリゴヌクレオチド(配列番号3: GACTAGTTCTAGATCGCGAGCGGCCGCC(T)₁₅) (Invitrogen社)をプライマーとして、ヒト脳海馬mRNA(Clontech社)を鋳型にSuperscript II逆転写酵素キット(Invitrogen社)で2本鎖cDNAを合成した。Sal I部位を有するアダプター(Invitrogen社)をcDNAとライゲーションした後、Not I消化した。1%濃度の低融点アガロース電気泳動により、3kb以上のDNA断片を精製した。精製cDNA断片を、Sal I-Not I制限酵素処理したpBluescript II SK+プラスミド(Stratagene社)とライゲーションした。エレクトロポレーション法により大腸菌、ElectroMax DH10B(Invitrogen社)に組換えプラスミドを導入した。こうして構築したcDNAライブラリーから、約6,000個の組換え体を選択し、これらのクローンの両末端DNA配列を決定した。この中から、両末端に新規配列をもつクローンの5'末端配列(約500bp)をGeneMark(Borodovsky M. et al. (1995) Nucleic Acids Res., 23, 3554-3562)と呼ばれるプログラムにより解析した。タンパク質をコードする領域が予想された独立なクローンを約160個選別した。さらにこれらのクローンを鋳型にインビトロ転写/翻訳システム(Promega社)を用いてcDNA上にコードされるタンパク質を産生させ、SDS変性ゲル電気泳動にて分子量を測定した。分子量50kDa以上のタンパク質を産生しうる約60個のクローンについて全長配列解析を行った。配列決定には、DNAシーケンサー、ABI 377(PE Applied Biosystems社)を使用した。大部分の配列は、ショットガンクローンをダイターミネーター法を用いて決定した。一部の塩基配列については、決定した塩基配列をもとにしてオリゴヌクレオチドを合成し、プライマーウォーキング法で決定した。

30

40

(実施例2)(ホモロジー検索の方法と結果)

得られた全塩基配列から推定されるアミノ酸配列について、タンパク質間の相同性検索を既知配列データベース(nrデータベース、NCBI)に対してFASTAプログラム(

50

Pearson W. R. (1990) *Methods Enzymol.*, 183, 63-98) を用いて行った。その結果、プラスミド PF00154 は 7770 塩基対の cDNA を含んでおり、1115 個のアミノ酸残基からなる新規なタンパク質をコードする 3348 塩基対のオープンリーディングフレームを有していた。推定アミノ酸配列全体に渡ってラットの NR3A である N-methyl-D-aspartate receptor homolog NMDAR-L (EMBL protein accession 番号: T31068) と 93% の相同性があった。さらに予想されたアミノ酸配列を用いて Pfam データベース Release 6.6 (Bateman A. et al. (2000) *Nucleic Acids Res.*, 28, 263-26) に対してドメイン検索を行った結果、674 番目から 952 番目のアミノ酸残基において Ligand-gated ion channel のドメインに類似する配列が存在した。また、膜蛋白予想プログラム、SOSUI (Hirokawa T. et al. (1998) *Bioinformatics*, 14, 378-379) により、膜貫通ドメインの予想を行ったところ、8 番目から 29 番目、674 番目から 695 番目、712 番目から 734 番目、744 番目から 766 番目および 929 番目から 951 番目の 5 箇所において膜貫通ドメインが予想された。

10

(実施例 3) (RT-PCR ELISA 法によるヒト組織での発現解析)

PF00154 に対する遺伝子のヒト組織および、脳の部位における発現は、RT-PCR 法 (DNA Research, 4, pp. 141-150 (1997)) を用いて行い、その PCR 産物の定量には ELISA 法 (DNA Research, 5, pp. 277-286 (1998)) を適用した。具体的には以下の通りである。

20

クロンテック社より購入した 13 種類のヒト組織由来の mRNA (心臓、脳、肺、肝臓、骨格筋、腎臓、膵臓、脾臓、精巣、卵巣、脊髄、胎児肝臓および胎児脳) と脳の 8 つの部分由来の mRNA (扁桃体、脳梁、小脳、尾状核、海馬、黒質、視床下核および視床) を鋳型に逆転写酵素 Superscript II (Invitrogen 社) とランダムプライマー (宝酒造社) で 1 本鎖 cDNA を合成した。次に、これら cDNA を鋳型として PF00154 遺伝子特異的プライマー (配列番号 4: 5' - CAGTGCTGAAGA T T A T G T G A G - 3' および、配列番号 5: 5' - CACAGTGAGAAGTTT GCAGTC - 3') とジゴキシゲニン (DIG) 標識の dUTP を用いて RT-PCR 産物の直接標識を行った。この時、後の遺伝子発現定量のコントロールになるように、0.05 fg から 500 fg までの 10 倍ずつ段階希釈した PF00154 プラスミド DNA を鋳型に同様の PCR を行い、DIG 標識のコントロール用 PCR 産物を調製した。一方、同プライマーセットとビオチン標識の dUTP を用いて、PF00154 プラスミド DNA を鋳型に大量のビオチン標識 PCR 産物を調整した。次に、発現の定量を行うために DIG 標識の PCR 産物と過剰のビオチン標識の PCR 産物を用いてハイブリダイゼーションを行った後、ストレプトアビジンプレート (Roche 社) に DIG/ビオチンヘテロ PCR 産物を補足させ、余剰分を洗い流した。

30

補足された DIG 標識 PCR 産物にペルオキシダーゼ (POD) 標識の抗 DIG 抗体 (Roche 社) を反応させ、2,2'-azino-bis(3-ethyl benzothiazoline-6-sulfonic acid) (Roche 社) を基質に発色させ、マイクロタイタープレートリーダー (Molecular Device 社) を用いて定量した。最終的に鋳型 DNA 濃度の明らかなコントロール PCR での測定値をもとに作成した標準線を用いて、各組織などで得られた数値を換算し、遺伝子の RNA 発現量を組織由来の特定量の RNA から逆転写された cDNA の中での相対的な cDNA 量として表した。

40

結果を次表に示す。

組織相対発現量

(表 1)

組織	相対発現量
心臓	6.913
脳	41.372
肺	0.150
肝臓	9.956
骨格筋	0.435
腎臓	2.232
膵臓	0.255
脾臓	2.186
精巣	2.496
卵巣	12.268
脊髄	17.786
胎児肝臓	0.549
胎児脳	22.797
扁桃体	79.592
脳梁	16.004
小脳	5.391
尾状核	12.919
海馬	44.239
黒質	40.828
視床下核	48.496
視床	43.255

(実施例 4) (脳組織からの total RNA の抽出)

40

精神分裂病患者および非精神分裂病患者 (コントロール) の死後脳から total RNA を抽出した。すなわち、-80℃ に保存してあるヒト前頭皮質サンプルをドライアイス上で小断片 (約 40 mg) に切断し、1.5 ml の遠心チューブに移した。Total RNA の抽出は Absolutely RNA RT-PCR Miniprep Kit (Stratagene 社) を用いた。抽出した total RNA の一部を取り、OD₂₆₀ の値から濃度を求めた。また 250 ng の total RNA を 0.1 mg/ml のエチジウムブロミドを含む 1% アガロースゲルにて電気泳動した。泳動後のゲルを UV 照射し、28S リボソーム RNA、18S リボソーム RNA のバンドを確認した。

(実施例 5) (逆転写酵素反応)

約 0.5 μg の total RNA を鋳型とし、SuperScript™ First

50

t - Strand Synthesis System for RT - PCR (Gibco BRL社)を用い、cDNAを合成した。また検量線を作成するための標準サンプルの鋳型としてはHuman Brain Total RNA (Clontech社)を用いた。

(実施例6)(リアルタイムPCR)

1 / 100量のcDNAを鋳型として、NR3Aの増幅にはSYBR Green PCR Master Mix (PE Applied Biosystems社)、内部標準としての β -actinの増幅にはTaqMan β -actin Control Reagents (PE Applied Biosystems社)を用いた。PCRの条件は以下の通りである。

NR3A Forward Primer: CAGTGCTGAAGATTATGTGAG (配列番号4)

NR3A Reverse Primer: CACAGTGAGAAGTTTGCAGTC (配列番号5)

50 で2分間、さらに95 で10分間保温した後、95 で15秒間、60 で1分間のサイクルを40回繰り返した。PCR装置はABI PRISM 7700 Sequence Detection System (PE Applied Biosystems社)を用いた。

(実施例7)(NR3A遺伝子の測定)

系列希釈した標準サンプルの値を基に検量線を作成し、この検量線から各サンプルのNR3Aおよび β -actin遺伝子の初期量を算出した。さらに初期のtotal RNA量を補正するためにNR3A量を β -actin量で割った。最終的にコントロール群の値を1とした時の精神分裂病群の値を算出した。

その結果、図1に示すように、精神分裂病患者の群では、コントロール群に比し、脳内NR3A遺伝子が有意 ($p < 0.05$) に増加していた。従って、NR3Aは精神分裂病の病態に関連する遺伝子であることが明らかとなった。

産業上の利用可能性

以上説明したように、本発明は精神分裂病の病態に関与する新規なヒトNR3Aタンパク質およびその遺伝子を提供するものであり、この特性を利用した新規医薬組成物、診断手段の提供はNR3Aが関与する疾患、特に精神分裂病の臨床、医用領域において有用である。

【配列表】

10

20

30

SEQUENCE LISTING

<110> KAZUSA DNA RESEARCH INSTITUTE FOUNDATION

Mori, Hiroshi

MITSUBISHI PHARMA CORPORATION

<120> A polypeptide of a novel human N-methyl-D-aspartate (NMDA) type glutamic acid receptor and the gene coding it

<130> GP02-1014PCT

<150> JP P2001-331007

<151> 2001-10-29

<150> JP P2001-333258

<151> 2001-10-30

<150> JP P2001-345262

<151> 2001-11-09

<160> 5

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 1115

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Arg Arg Leu Ser Leu Trp Trp Leu Leu Ser Arg Val Cys Leu Leu

1

5

10

15

Leu Pro Pro Pro Cys Ala Leu Val Leu Ala Gly Val Pro Ser Ser Ser
 20 25 30

Ser His Pro Gln Pro Cys Gln Ile Leu Lys Arg Ile Gly His Ala Val
 35 40 45

Arg Val Gly Ala Val His Leu Gln Pro Trp Thr Thr Ala Pro Arg Ala
 50 55 60

Ala Ser Arg Ala Pro Asp Asp Ser Arg Ala Gly Ala Gln Arg Asp Glu
 65 70 75 80

Pro Glu Pro Gly Thr Arg Arg Ser Pro Ala Pro Ser Pro Gly Ala Arg
 85 90 95

Trp Leu Gly Ser Thr Leu His Gly Arg Gly Pro Pro Gly Ser Arg Lys
 100 105 110

Pro Gly Glu Gly Ala Arg Ala Glu Ala Leu Trp Pro Arg Asp Ala Leu
 115 120 125

Leu Phe Ala Val Asp Asn Leu Asn Arg Val Glu Gly Leu Leu Pro Tyr
 130 135 140

Asn Leu Ser Leu Glu Val Val Met Ala Ile Glu Ala Gly Leu Gly Asp
 145 150 155 160

Leu Pro Leu Leu Pro Phe Ser Ser Pro Ser Ser Pro Trp Ser Ser Asp
 165 170 175

Pro Phe Ser Phe Leu Gln Ser Val Cys His Thr Val Val Val Gln Gly
 180 185 190

Val Ser Ala Leu Leu Ala Phe Pro Gln Ser Gln Gly Glu Met Met Glu
 195 200 205

Leu Asp Leu Val Ser Leu Val Leu His Ile Pro Val Ile Ser Ile Val
 210 215 220

Arg His Glu Phe Pro Arg Glu Ser Gln Asn Pro Leu His Leu Gln Leu
 225 230 235 240

Ser Leu Glu Asn Ser Leu Ser Ser Asp Ala Asp Val Thr Val Ser Ile
 245 250 255

Leu Thr Met Asn Asn Trp Tyr Asn Phe Ser Leu Leu Leu Cys Gln Glu
 260 265 270

Asp Trp Asn Ile Thr Asp Phe Leu Leu Leu Thr Gln Asn Asn Ser Lys
 275 280 285

Phe His Leu Gly Ser Ile Ile Asn Ile Thr Ala Asn Leu Pro Ser Thr
 290 295 300

Gln Asp Leu Leu Ser Phe Leu Gln Ile Gln Leu Glu Ser Ile Lys Asn
 305 310 315 320

Ser Thr Pro Thr Val Val Met Phe Gly Cys Asp Met Glu Ser Ile Arg
 325 330 335

Arg Ile Phe Glu Ile Thr Thr Gln Phe Gly Val Met Pro Pro Glu Leu
 340 345 350

Arg Trp Val Leu Gly Asp Ser Gln Asn Val Glu Glu Leu Arg Thr Glu
 355 360 365

Gly Leu Pro Leu Gly Leu Ile Ala His Gly Lys Thr Thr Gln Ser Val
 370 375 380

Phe Glu His Tyr Val Gln Asp Ala Met Glu Leu Val Ala Arg Ala Val
 385 390 395 400

Ala Thr Ala Thr Met Ile Gln Pro Glu Leu Ala Leu Ile Pro Ser Thr
 405 410 415

Met Asn Cys Met Glu Val Glu Thr Thr Asn Leu Thr Ser Gly Gln Tyr
 420 425 430

Leu Ser Arg Phe Leu Ala Asn Thr Thr Phe Arg Gly Leu Ser Gly Ser
 435 440 445

Ile Arg Val Lys Gly Ser Thr Ile Val Ser Ser Glu Asn Asn Phe Phe
 450 455 460

Ile Trp Asn Leu Gln His Asp Pro Met Gly Lys Pro Met Trp Thr Arg
 465 470 475 480

Leu Gly Ser Trp Gln Gly Gly Lys Ile Val Met Asp Tyr Gly Ile Trp
 485 490 495

Pro Glu Gln Ala Gln Arg His Lys Thr His Phe Gln His Pro Ser Lys
 500 505 510

Leu His Leu Arg Val Val Thr Leu Ile Glu His Pro Phe Val Phe Thr
 515 520 525

Arg Glu Val Asp Asp Glu Gly Leu Cys Pro Ala Gly Gln Leu Cys Leu
 530 535 540

Asp Pro Met Thr Asn Asp Ser Ser Thr Leu Asp Ser Leu Phe Ser Ser
 545 550 555 560

Leu His Ser Ser Asn Asp Thr Val Pro Ile Lys Phe Lys Lys Cys Cys
 565 570 575

Tyr Gly Tyr Cys Ile Asp Leu Leu Glu Lys Ile Ala Glu Asp Met Asn
 580 585 590

Phe Asp Phe Asp Leu Tyr Ile Val Gly Asp Gly Lys Tyr Gly Ala Trp
 595 600 605

Lys Asn Gly His Trp Thr Gly Leu Val Gly Asp Leu Leu Arg Gly Thr
 610 615 620

Ala His Met Ala Val Thr Ser Phe Ser Ile Asn Thr Ala Arg Ser Gln
 625 630 635 640

Val Ile Asp Phe Thr Ser Pro Phe Phe Ser Thr Ser Leu Gly Ile Leu
 645 650 655

Val Arg Thr Arg Asp Thr Ala Ala Pro Ile Gly Ala Phe Met Trp Pro
 660 665 670

Leu His Trp Thr Met Trp Leu Gly Ile Phe Val Ala Leu His Ile Thr
 675 680 685

Ala Val Phe Leu Thr Leu Tyr Glu Trp Lys Ser Pro Phe Gly Leu Thr
 690 695 700

Pro Lys Gly Arg Asn Arg Ser Lys Val Phe Ser Phe Ser Ser Ala Leu
 705 710 715 720

Asn Ile Cys Tyr Ala Leu Leu Phe Gly Arg Thr Val Ala Ile Lys Pro
 725 730 735

Pro Lys Cys Trp Thr Gly Arg Phe Leu Met Asn Leu Trp Ala Ile Phe
 740 745 750

Cys Met Phe Cys Leu Ser Thr Tyr Thr Ala Asn Leu Ala Ala Val Met
 755 760 765

Val Gly Glu Lys Ile Tyr Glu Glu Leu Ser Gly Ile His Asp Pro Lys
 770 775 780

Leu His His Pro Ser Gln Gly Phe Arg Phe Gly Thr Val Arg Glu Ser
 785 790 795 800

Ser Ala Glu Asp Tyr Val Arg Gln Ser Phe Pro Glu Met His Glu Tyr
 805 810 815

Met Arg Arg Tyr Asn Val Pro Ala Thr Pro Asp Gly Val Glu Tyr Leu
 820 825 830

Lys Asn Asp Pro Glu Lys Leu Asp Ala Phe Ile Met Asp Lys Ala Leu
 835 840 845

Leu Asp Tyr Glu Val Ser Ile Asp Ala Asp Cys Lys Leu Leu Thr Val
 850 855 860

Gly Lys Pro Phe Ala Ile Glu Gly Tyr Gly Ile Gly Leu Pro Pro Asn
 865 870 875 880

Ser Pro Leu Thr Ala Asn Ile Ser Glu Leu Ile Ser Gln Tyr Lys Ser
 885 890 895

His Gly Phe Met Asp Met Leu His Asp Lys Trp Tyr Arg Val Val Pro
 900 905 910

Cys Gly Lys Arg Ser Phe Ala Val Thr Glu Thr Leu Gln Met Gly Ile
 915 920 925

Lys His Phe Ser Gly Leu Phe Val Leu Leu Cys Ile Gly Phe Gly Leu
 930 935 940

Ser Ile Leu Thr Thr Ile Gly Glu His Ile Val Tyr Arg Leu Leu Leu
 945 950 955 960

Pro Arg Ile Lys Asn Lys Ser Lys Leu Gln Tyr Trp Leu His Thr Ser
 965 970 975

Gln Arg Leu His Arg Ala Ile Asn Thr Ser Phe Ile Glu Glu Lys Gln
 980 985 990

Gln His Phe Lys Thr Lys Arg Val Glu Lys Arg Ser Asn Val Gly Pro
 995 1000 1005

Arg Gln Leu Thr Val Trp Asn Thr Ser Asn Leu Ser His Asp Asn
 1010 1015 1020

Arg Arg Lys Tyr Ile Phe Ser Asp Glu Glu Gly Gln Asn Gln Leu
 1025 1030 1035

Gly Ile Gln Ile His Gln Asp Ile Pro Leu Pro Pro Arg Arg Arg
 1040 1045 1050

Glu Leu Pro Ala Leu Arg Thr Thr Asn Gly Lys Ala Asp Ser Leu
 1055 1060 1065

Asn Val Ser Arg Asn Ser Val Met Gln Glu Leu Ser Glu Leu Glu
 1070 1075 1080

Lys Gln Ile Gln Val Ile Arg Gln Glu Leu Gln Leu Ala Val Ser
 1085 1090 1095

Arg Lys Thr Glu Leu Glu Glu Tyr Gln Arg Thr Ser Arg Thr Cys
 1100 1105 1110

Glu Ser
 1115

<210> 2

<211> 7770

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 2

cagagaggaa gtagcgagag aagagagaaa atgaagtcgg cgctggggga gcctgcagga

60

gggtggccaa cagtggagga aggtggatit ggcttctttt cgcaccccg ggcgtgaaag 120
ccctctocaa cgcgacccca ggaaataagt gggctctgcc tgggcagaaa aggaaaagaa 180
tccaggcgag agcgcgtcgc tcctctgtca ctgtgcccc cgaggaactc cggctgcttc 240
tcatcccggc cgcctcggg ggccggacgc agtgcccag ggcacctca gatggggcgg 300
gcagggaaacg ggcgctccag ctgcgggtga caggcggcg cccgcccgc tcctgtctca 360
ggcagtgac cgggcccggca gaggatgcca ggcggaggga cctgggagcg ggatctgaga 420
ctgccggagg cgcgctacgc tccaacttgc atggcctaga gaccgctcca gctcctggga 480
ccgcttcacc gattggagtg aagctgcgcg cgggacctgg agggggagac ctccaggcagc 540
ggctgcagag gggcgagccg ggcgcaggag ggggcgcgct ttctccctgc gggctcagt 600
aatgaggaga ctgagtttgt ggtggctgct gacagggtc tctctgctgt tgcccggcc 660
ctgcgcactg gtgtggccg ggtgcccag ctctctctcg caccgcagc cctgccagat 720
cctcaagcgc atcgggcacg cgtgagggt gggcgcggtg cacttgagc cctggaccac 780
cgccccccgc cgggcccagc gcgctccgga cgacagccga gcaggagccc agagggatga 840
gcccggagcca gggactaggc ggtccccggc gccctcgcg ggcgcacgct ggttggggag 900
caccctgcat ggcccggggc cgcgggctc cgttaagccc ggggaggcg ccagggcgga 960
ggccctgtgg ccacgggacg ccctctatt tgccgtggac aacctgaacc gcgtggaagg 1020
gtgtctacc tacaacctgt ctttgaagt agtgatggcc atcaggcag gcctgggca 1080
totgcaacti tigccctct cctcccctag ttgccatgg agcagtgacc ctttctctt 1140

cctgcaaagt gtgtgccata ccgtggtggt gcaaggggtg tggcgctgc tgccttccc 1200

ccagagccag ggcgaaatga tggagctoga ctgggcagc ttagtcctgc acattccagt 1260

gatcagcacc gtgcgccacg agtttccacg ggagagtcag aatccccttc acctacaact 1320

gagtttagaa aaticattaa gttctgatgc tgatgtcact gtctcaatcc tgaccatgaa 1380

caactggtag aattttagct tggctgtg ccaggaagac tggaaatca ccgacttct 1440

cctccttacc cagaataatt ccaagttcca ccttggttct atcatcaaca tcaccgctaa 1500

cctcccctcc acccaggacc tcttgagctt cctacagatc cagcttgaga gtattaagaa 1560

cagcacaccc acagtggtag tgtttggctg ccacatggaa agtatccggc ggattttoga 1620

aattacaacc cagtttgggg tcatgcccc tgaacttctg tgggtgctgg gagattccca 1680

gaatgtggag gaactgagga cagaggtctt gcccttaggg ctcatgtctc atggaaaaac 1740

aacacagtct gtctttgagc actacgtaca agatgctatg gagctggctg caagagctgt 1800

agccacagcc accatgatcc aaccagaact tgctctcatt cccagcacga tgaactgcat 1860

ggaggtggaa actacaaatc tcacttcagg acaatattta tcaaggtttc tagccaatac 1920

cactttcaga ggctcagtg gtccatcag agtaaaaggt tccaccatcg tcagctcaga 1980

aaacaacttt tcatctgga atcttcaaca tgaccccatg gaaagccaa tgtggaccoc 2040

cttgggcagc tggcaggggg gaaagattgt catggactat ggaatatggc cagagcagcc 2100

ccagagacac aaaaccact tccaacatcc aagtaagcta cacttgagag tggttaccct 2160

gattgagcat cctttgtct tcacaaggga ggtagatgat gaaggcttgt gccctgctgg 2220

ccaactctgt ctagacccca tgactaatga ctcttcaca ttggacagcc ttttagcag 2280

cctocatagc agtaatgata cagtgcccat taaattcaag aagtgotgct atggatattg 2340

cattgatctg ctggaaaaga tagcagaaga catgaacttt gacttcgacc tctatattgt 2400

aggggatgga aagtatggag catggaaaaa tgggcactgg actgggctag tgggtgatct 2460

cctgagaggg actgccca tggcagtcac ttcotttagc atcaatactg cacggagcca 2520

gggatagat ttcaccagcc cttctctctc caccagcttg ggcatctag tgaggaccgg 2580

agatacagca gctcccattg gagccttcat gtggccactc cactggacaa tgtggctggg 2640

gattttigtg gctctgcaca tcactgccgt cttctcact ctgtatgaat ggaagagtcc 2700

atttggtttg actcccaagg ggcgaaatag aagtaaagtc ttctcctttt cttcagcott 2760

gaacatctgt tatgccctct tgtttggcag aacagtggcc atcaaacctc caaaatgttg 2820

gactggaagg tttotaatga acctttgggc cattttctgt atgttttgcc tttccacata 2880

cacggcaaac ttggctgctg tcatggtagg tgagaagatc tatgaagagc tttctggaat 2940

acatgacccc aagttacatc atccttccca aggattccgc ttiggaactg tccgagaaaag 3000

cagtctgaa gattatgiga gacaaagttt ccagagatg catgaatata tgagaaggta 3060

caatgttcca gccaccctg atggagtgga gtatctgaag aacgatccag agaaactaga 3120

cgcttcac c atggacaaag cccttctgga ttatgaagtg tcaatagatg ctgactgcaa 3180

acttctcact gtggggaagc catttgcct agaaggatac ggcatggcc tcccacccaa 3240

ctctccattg accgccaaca tatccgagct aatcagtcaa tacaagtcac atgggtttat 3300

ggatatgctc catgacaagt ggtacagggt ggttcctgt ggcaagagaa gttttgctgt 3360
cacggagact ttgcaaatgg gcatcaaaca ctctctggg ctcttttgc tgcttgcat 3420
tggatttggc ctgtccattt tgaccaccat tggtagcac atagtataca ggctgctgt 3480
accacgaatc aaaaacaaat ccaagctgca atactggctc cacaccagcc agagattaca 3540
cagagcaata aatacatcat ttatagagga aaagcagcag catttcaaga ccaaactgt 3600
ggaaaagagg tctaatgtgg gaccccgta gcttaccgta tggataactt ccaatctgag 3660
tcatgacaac cgacggaaat acatctttag tgatgaggaa ggacaaaacc agctgggcat 3720
ccagatccac caggacatcc ccctccctcc aaggagaaga gagtccctg ccttgcggac 3780
caccaatggg aaagcagact ccctaaatgt atctcggaac tcagtgatgc aggaactctc 3840
agagctcgag aagcagattc aggtgatccg tcaggagctg cagctggctg tgagcaggaa 3900
aacggagctg gaggagtatc aaaggacaag tcggacttgt ggtccctagg tgaccacact 3960
gcttcccttt ctcaattcct gaccttctc tgagcccttg agacactttg taatgctctt 4020
ttgtaactat cgacaaaggt gtggggaagc tgaggcttag gtcttcttaa aggtcaagtc 4080
tgctctccct cgctaaagt gcagcagcag ctctctcaa gctcactctc taggtctcca 4140
ggtaggagt gttttctag caagaatctt agtcaggagt aagctctgtg cgagagatct 4200
gtgaataacc agataacccc agctgocgtt aacctttca ccaggtgcca cagtaatatt 4260
tctggtttt agccctttct ctgcaactacc aacaagagat aaaattgta ctcacacta 4320
tgcttactg ggttctgtt tttcatcgtt acacagaacg aggttatcta gggttctagc 4380

ttitgataca actccccgat ctagattiat tcttacattc tgaatgggga gcaggtaaga 4440
gcagagcacc tcccactggg ggtggggtat ttaaaaattia actcattagt atcataaacg 4500
tcaaggattg atiggaccag gcaagagoca tgtttttgag aaggttctgg atctctgact 4560
ccatcctgac tgtttagtaa gagcatgctt acaccctact gtgaaaaggg gaggggatgt 4620
ggtaagcaga aacagaagac aggcagcaga ggcattaaaa atgcatacca tgctttcaga 4680
acaaaagctc tgggccagaa aggcaatttg gctaaaaaat gaataagact acttctaag 4740
taactaagca tctccactat ggtgtgtgcc ttttataaag gaaaagagag aaaaaggcaa 4800
agcaaggttg tggccttagg ttggacctgg aatatccctt attgcctata atggaatatg 4860
tgacactgtg ggtgaaatgt totacacacc acacactagg ccattttcag atcagcagtc 4920
accatcgct tagcatagaa atcccaaac ctccagcccg ggaacactat aagcttcgac 4980
cattcaggaa tctgccctgc actttgcata totgtataga aatcaagtc aatccccat 5040
cctcacacce actcaictct gaggagctat gaactggttt tggccctct aatgatcctc 5100
cagcctcatic taatgcccc caaagactga tacaagtaac ctccccctcg cttaggtgtc 5160
actttctcag catatcaagt ttaggcagca agggaaagga atatgggtca gttctcaat 5220
gtcaatgtag ataagagtca tctagtagag aactcatic agtgcggatt gccaagacc 5280
ttctccagag attatggggt tgggggtgga ggtctagagg tgagctcaga aacctactgt 5340
taaccaacac cccaagtga ctgacacagg tggctctaaa attacttttc tagaaacacc 5400
attctggaag tttggctgoc cacaggcagg aggagaagca tgaagagaaa acctgtttga 5460

gaagttttgt tttgttttgt tttgcttttt aataatttta gcacacatct gctgactctc 5520

cttcaacatc ctcaacccca tccctgggca ccatitagga caagacttcc ttatttatca 5580

attacttgat ttatcttctc aggactcatt gttccacccc caaccaatti gaatgcctac 5640

aataagtica ggagctgtgc caagcacitt cctctttttac agctggagat cactggaaag 5700

gtgtctcagt cacaaaactt ctccctctac tactggatga aatgtctgca tttccaccaa 5760

aatctaccca gtcaccagg gaataacaac ttaagctgta gttagataac acctagtgat 5820

taattggctg agaaaacctt ggagtgagg gaggctcaga gatactgata tggatgtggg 5880

agggctctaa agttagaggt caccaactcc acagatgaaa cagttcaata atgaggaaac 5940

aggtgagccc tgaaaacaca aaaggacagt tctgtgttga aacaccccat cccctcacgt 6000

tctcacccca ggcccagaag taggttgcaa ctgcccttgg aagattttgc cccttagcca 6060

tccccacca cttgtaccag ctaagaatgc tggagactct gccaccatgc tctgcgtgcc 6120

cctgaacctc tgtgcagccc ggaaggctga tgtacagggt tacctcaatc cacattacag 6180

ccatgctcct aatgtacatg gacatttttg taactcagct catattctga ctgtattiga 6240

gaagctggct gtttaagga acccagaagt gaattcittt gtaaagtaaa gcaccctttt 6300

gtaatgcaat taattatccc ttaatgtatc tgttttghtaa gtctgcattt ttgtatatcg 6360

ggtttacctt aagcttctct agtgaggcat tctgagcagt ggtgatcaca tgccagatcg 6420

ccctgcctat ccacaaagta gatgaccaat gcacgctcct caaacatctt tggaggaact 6480

acctggccaa aacactggcc aggatgcagc aagcagcagc aggggctgac agcaggctta 6540

ctgccatcaa cattgcttga aatgcctota tgttctgaat aaagaaaaac cataattgct 6600

tgtggtgaaa cgaagcagtc ttcattgtaa gtagcaatgg ttatttttat tggtagtaac 6660

tgaacagtgt tttgcaattt gtgaaacagt gtattgtgtt ttgtaaaatg atgtcatgaa 6720

atggtgggtc cttggaaacc tcttttccgt tcagctctgc ctctgttctt tcaactcctt 6780

tgaggctcaa aaaaaacaca aagatcagaa gccttcagat agagggtggt attctggtaa 6840

agaagaaaga gataagggac gctaccttgc ttttctggca caggaagcac atgataaagc 6900

atgctcagag gagctggaac agatatagct acctggttcg tgtaaataag aataatcaag 6960

gccccagagt gtgtatgott ccaggtggag gagaaggggg aatctcccaa aatttaaaaa 7020

caaattggaa gaataaccag gacagccaag tgaagcagcc acagggacc c aagcagtcga 7080

ggtctttaat gtgcctggag atgactctct gctattcatg aatcttgcta ttgcacaaac 7140

cctatcaaga gctgctgott cccttccagc cagaaaagtg gtaagcggag caagtgccaa 7200

gcagaacaga ccttatcctc tgggtaacag acttctcagt gttgggtctg tgtctgttag 7260

agccttagag caagttaagc acttcttgg tgtgggtaaa gaataaagg gaaagaaact 7320

actttagagc ctctttttct cccaactcat atttttgata ggaaaaacag aaaaccctc 7380

cagttcttca gaaattgctt tctaggcatt aatactactt tactatctat actgtttagt 7440

tattccttc tttaccacc taaactatcc atctaataca ggattccctc actctttttt 7500

tttagttact aatcatttta tgaaaataat gtatttataa gtattttctt aaggtttgtg 7560

aagagtattt gcatttgctc ttcattttta tgtgtttgca atcgtccgc tccaggaaga 7620

acggaaatgc tgtcttgga gcatgaagtg aacgggctgt tttgctccag ccacttttct 7680

tgtacaacca catggatgga ttagatgtcc tcaggtcttt tccatcttca gtttctatga 7740

ctgtggaata aatgttcaga tagaaacttc 7770

<210> 3

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> Designed DNA based on human hippocampus gene

<400> 3

gactagtctt agatogcgag cggccgccc 29

<210> 4

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> Designed DNA based on human brain (PF00154) gene

<400> 4

cagtgtgaa gattatgtga g 21

<210> 5

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> Designed DNA based on human brain (PF00154) gene

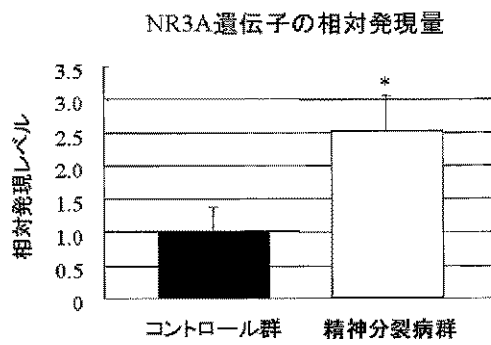
<400> 5

cacagtgaga agtttgcagt c 21

【図面の簡単な説明】

第1図は、リアルタイムPCRによりコントロール（n = 10）と精神分裂病患者（n = 9）の脳内NR3A遺伝子の発現を定量した結果（平均 ± SE）を示す図である。* p < 0.05（t検定）

【図1】
第1図



【国際公開パンフレット(コレクトバージョン)】

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

訂正版

(19) 世界的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2003年5月8日 (08.05.2003)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2003/037930 A1

- (51) 国際特許分類: C07K 14705, 16728, C12Q 1468, C12N 1/15, 1/19, 1/21, 5/10, 15/12, 15/64, C12P 21/02, G01N 33/53
- (52) 特許 2001-333258 2001年10月30日 (30.10.2001) JP
特願2001-345262 2001年11月9日 (09.11.2001) JP
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2002/011207
- (22) 国際出願日: 2002年10月29日 (29.10.2002)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ: 特願2001-331007 2001年10月29日 (29.10.2001) JP
- (71) 出願人(米国を除く全ての指定国について): 財団法人かずさディー・エヌ・エー研究所 (KAZUSO DNA RESEARCH INSTITUTE FOUNDATION) [JP/JP], 〒292-0818 千葉県木更津市かずさ鏡足2丁目6番地7 Chiba (JP), 三菱ウエルファーマ株式会社 (MITSUBISHI PHARMA CORPORATION) [JP/JP], 〒541-0046 大阪府大阪市中央区平野町二丁目6番8号 Osaka (JP), 入谷 修司 (IRITANI, Shuji) [JP/JP], 〒

(続業者)

(54) Title: NOVEL HUMAN N-METHYL-D-ASPARATATE (NMDA) GLUTAMATE RECEPTOR POLYPEPTIDE AND GENE ENCODING THE SAME

(54) 発明の名称: 新規なヒトN-methyl-D-aspartate(NMDA)型グルタミン酸受容体ポリペプチドおよびそれをコードする遺伝子

(57) Abstract: It is intended to find out a novel substance relating to human NMDA glutamate receptor subunit 3A (NR3A). A novel cDNA originating in human brain is isolated and the full base sequence thereof is analyzed. Then this base sequence is translated into an amino acid sequence followed by homology searching. As a result, it is found out that this sequence has a 93% homology with rat NR3A and thus identified as human NR3A. Further, it is confirmed that a gene encoding NR3A is significantly increased in the brain of patients with schizophrenia. Thus, it is concluded that NR3A is a substance relating to the pathology of schizophrenia.

(57) 要約:

ヒトNMDA型グルタミン酸受容体サブユニット3A (NR3A) に関する新規な物質を見出すこと。

ヒト脳由来の新規なcDNAを単離し、全塩基配列を解析した。そして、この塩基配列をアミノ酸配列に翻訳してホモロジー検索を行なったところ、ラットNR3Aと93%の相同性を有していることを確認し、これがヒトNR3Aであることを見出した。さらに、精神分裂病患者の脳において、NR3Aをコードする遺伝子が有意に増加していることを確認し、NR3Aが精神分裂病の病態に関与する物質であることを見出して本発明を完成するに至った。

WO 2003/037930 A1

WO 2003/037930 A1



- 157-0063 東京都世田谷区粕谷2丁目11番25号 アビタシオン 芦花公園110号室 Tokyo (JP).
- (71) 出願人 および
 (72) 発明者: 森 啓 (MORI,Hiroshi) (JP/JP); 〒537-0925 大阪府大阪市東成区中道1丁目3番4号 ハイテコスモ21301号室 Osaka (JP).
- (73) 発明者: および
 (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 小原 収 (OHARA,Osamu) (JP/JP); 〒292-0818 千葉県木更津市かずさ隼足2丁目6番地7 財団法人かずさディー・エス・エー研究所内 Chiba (JP). 長瀬 隆弘 (NAGASE,Takahiro) (JP/JP); 〒292-0818 千葉県木更津市かずさ隼足2丁目6番地7 財団法人かずさディー・エス・エー研究所内 Chiba (JP). 菊野 尚子 (KIKUNO,Naoko) (JP/JP); 〒292-0818 千葉県木更津市かずさ隼足2丁目6番地7 財団法人かずさディー・エス・エー研究所内 Chiba (JP). 山上 圭司 (YAMAGAMI,Keisji) (JP/JP); 〒103-8405 東京都中央区日本橋本町二丁目2番6号 三菱ウエルファーマ株式会社 東京本社内 Tokyo (JP). 大橋 良幸 (OHASHI,Yoshitaka) (JP/JP); 〒103-8405 東京都中央区日本橋本町二丁目2番6号 三菱ウエルファーマ株式会社 東京本社内 Tokyo (JP).
- (74) 代理人: 庄司 隆 (SHOJI,Takashi); 〒101-0032 東京都千代田区岩本町3丁目2番10号 SN岩本町ビル8階 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (国内): AE, AG, AI, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LI, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TH, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (広域): AR/PO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), エーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LI, MC, NL, PT, SE, SK, TR), GAP 特許 (BF, BI, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- 添付公開書類:
 一 国際調査報告書
- (48) この訂正版の公開日: 2004年6月3日
- (15) 訂正情報:
 PCTガゼットセクションIIのNo.23/2604 (2004年6月3日)を参照
- 2文字コード及び他の略語については、定額発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/JP02/11207
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER Int.Cl. ⁷ C07K14/705, 16/28, C12Q1/68, C12N1/15, 1/19, 1/21, 5/10, 15/12, 15/64, C12P21/02, G01N33/53 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) Int.Cl. ⁷ C07K14/705, 16/28, C12Q1/68, C12N1/15, 1/19, 1/21, 5/10, 15/12, 15/64, C12P21/02, G01N33/53 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base used, where practicable, search terms used) SwissProt/PIR/GeneSeq, Genbank/EMBL/DBJ/GeneSeq, BIOSIS (DIALOG), WPI (DIALOG)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Sucher M.J. et al., Developmental and regional expression pattern of a novel NMDA receptor-like subunit (NMDAR-1) in the rodent brain. J. Neurosci., 1995 October, Vol.15, No.10, pages 6509 to 6520	1-15, 19-20
X	WO 00/58473 A2 (CURAGEN CORP.), 05 October, 2000 (05.10.00), & EP 1165784 A2 & AU 200037745 A	2, 6, 8-13
X	WO 01/44473 A2 (CURAGEN CORP. et al.), 21 June, 2001 (21.06.01), & US 2002/0077466 A1 & EP 1240324 A2 & AU 200121004 A	2, 6, 8-13
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (to be specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "A" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 27 January, 2003 (27.01.03)		Date of mailing of the international search report 12 February, 2003 (12.02.03)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer
Facsimile No.		Telephone No.

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1998)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP02/11207

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Das S. et al., Increased NMDA current and spine density in mice lacking the NMDA receptor subunit NR3A. <i>Nature</i> , 28 May, 1999 (28.05.99), Vol.393, No.6683, pages 377 to 381	1-15,19-20
A	Goebel DJ. et al., NMDA receptor subunit gene expression in the rat brain: a quantitative analysis of endogenous mRNA levels of NR1Com, NR2A, NR2B, NR2C, NR2D and NR3A., <i>Mol. Brain Res.</i> , 08 June, 1999 (08.06.99), Vol.69, No.2, pages 164 to 170	1-15,19-20
A	Perez-Otano I. et al., Assembly with the NR1 subunit is required for surface expression of NR3A-containing NMDA receptors. <i>J. Neurosci.</i> , 15 February, 2001 (15.02.01), Vol.21, No.4, pages 1228 to 1237	1-15,19-20
P,X	WO 01/81413 A2 (PE CORP., NY), 01 November, 2001 (01.11.01), & US 2002/0034778 A1 & AU 200157287 A	1-15,19-20
P,X	WO 02/12340 A2 (INCYTE GENOMICS INC.), 14 February, 2002 (14.02.02), & AU 200180981 A	1-15,19-20
P,X	WO 02/24743 A2 (MILLENNIUM PHARM INC), 28 March, 2002 (28.03.02), & US 2002/0123098 A1 & AU 200191221 A	1-15,19-20
P,X	WO 02/40538 A2 (BAYER AG), 23 May, 2002 (23.05.02), & AU 200227929 A	1-15,19-20
P,X	von Euler G. et al., Nucleotide sequence, genomic organization and chromosomal localization of the human NMDA receptor subunit NR3A. <i>Society for Neuroscience Abstracts</i> 2001, Vol.27, No.1, page 920	1-15,19-20
P,X	Tu S. et al., Generation of NR3A transgenic mice. <i>Society for Neuroscience Abstracts</i> 2001, Vol.27, No.2, page 1850	1-15,19-20
P,X	Andersson O. et al., Nucleotide sequence, genomic organization and chromosomal localization of genes encoding the human NMDA receptor subunits NR3A and NR3B. <i>Genomics</i> 2001 December, Vol.78, No.3, pages 178 to 184	1-15,19-20

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 1998)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/JP02/11207
C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, X	SASAKI YF. et al., Characterization and comparison of the NR3A subunit of the NMDA receptor in recombinant systems and primary cortical neurons. J. Neurophysiol., 2002 April, Vol.87, No.4, pages 2052 to 2063	1-15, 19-20
P, X	Eriksson M. et al., Cloning and expression of the human N-methyl-D-aspartate receptor subunit NR3A. Neuroscience Letters 2002, Vol.321, No.3, pages 177 to 181	1-15, 19-20

INTERNATIONAL SEARCH REPORT	
	International application No. PCT/JP02/11207
Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)	
This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:	
1.	<input type="checkbox"/> Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2.	<input checked="" type="checkbox"/> Claims Nos.: 16-18 because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically: (See extra sheet.)
3.	<input type="checkbox"/> Claims Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).
Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)	
This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:	
1.	<input type="checkbox"/> As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2.	<input type="checkbox"/> As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3.	<input type="checkbox"/> As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4.	<input type="checkbox"/> No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
Remark on Protest	<input type="checkbox"/> The additional search fees were accompanied by the applicant's protest. <input type="checkbox"/> No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP02/11207

Continuation of Box No. 1-2 of continuation of first sheet (1)

The compounds as set forth in claims 16 to 18 are specified by "a screening method as set forth in claim 14 or claim 15" and thus involve any compounds obtained by the screening methods.

However, no specific compound obtained by the screening method is presented in the description. Thus, claims 16 to 18 are not supported by the description. Although the common technical knowledge at the point of the application is considered, it is completely unknown what specific compounds are involved in the scope thereof and what are not. Thus, the above claims are described in an extremely unclear manner.

Such being the case, no meaningful search can be made on the inventions as set forth in the above claims.

国際調査報告		国際出願番号	PCT/JP02/11207
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int. Cl. C07K14/705, 16/28, C12Q1/68, C12N1/15, 1/19, 1/21, 5/10, 15/12, 15/64, C12P21/02, G01N33/53			
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int. Cl. C07K14/705, 16/28, C12Q1/68, C12N1/15, 1/19, 1/21, 5/10, 15/12, 15/64, C12P21/02, G01N33/53			
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの			
国際調査で利用した電子データベース (データベースの名称、調査に利用した用語) SwissProt/PIR/GenSeq, Genbank/EMBL/DBJ/GenSeq, BIOSIS(DIALOG), WPI(DIALOG)			
C. 関連すると認められる文献			
引用文献の カテゴリ*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号	
X	Sucher NJ. et al., Developmental and regional expression pattern of a novel NMDA receptor-like subunit (NMDAR-L) in the rodent brain. J Neurosci 1995 Oct, Vol. 15, No. 10, p. 6509-6520	1-15, 19-20	
X	WO 00/58473 A2 (CURAGEN CORP) 2000.10.05 & EP 1165784 A2 & AU 200037745 A	2, 6, 8-13	
X	WO 01/44473 A2 (CURAGEN CORP et al.) 2001.06.21 & US 2002/0077466 A1 & EP 1240324 A2 & AU 200121004 A	2, 6, 8-13	
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。			
* 引用文献のカテゴリ 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願目的の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「I」 優先権主張に拠る文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は議論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献			
国際調査を完了した日	27. 01. 03	国際調査報告の発送日	12. 02. 03
国際調査機関の名称及び住所 日本特許庁 (ISA/JJP) 郵便番号 100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 本間 夏子	AN	9537
		電話番号	03-3581-1101 内線 3488

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP02/11207

C (続き) 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	Das S. et al., Increased NMDA current and spine density in mice lacking the NMDA receptor subunit NR3A. Nature 1998 May 28, Vol. 393, No. 6683, p. 377-381	1-15, 19-20
A	Goebel DJ. et al., NMDA receptor subunit gene expression in the rat brain: a quantitative analysis of endogenous mRNA levels of NR1Com, NR2A, NR2B, NR2C, NR2D and NR3A. Mol Brain Res 1999 Jun 8, Vol. 69, No. 2, p. 164-170	1-15, 19-20
A	Perez-Otano I. et al., Assembly with the NR1 subunit is required for surface expression of NR3A-containing NMDA receptors. J Neurosci 2001 Feb 15, Vol. 21, No. 4, p. 1228-1237	1-15, 19-20
P X	WO 01/81413 A2 (PE CORP NY) 2001.11.01 & US 2002/0034778 A1 & AU 200157287 A	1-15, 19-20
P X	WO 02/12340 A2 (INCYTE GENOMICS INC) 2002.02.14 & AU 200180981 A	1-15, 19-20
P X	WO 02/24743 A2 (MILLENNIUM PHARM INC) 2002.03.28 & US 2002/0123098 A1 & AU 200191221 A	1-15, 19-20
P X	WO 02/40538 A2 (BAYER AG) 2002.05.23 & AU 200227929 A	1-15, 19-20
P X	von Euler G. et al., Nucleotide sequence, genomic organization and chromosomal localization of the human NMDA receptor subunit NR3A. Society for Neuroscience Abstracts 2001, Vol. 27, No. 1, p. 920	1-15, 19-20
P X	Tu S. et al., Generation of NR3A transgenic mice. Society for Neuroscience Abstracts 2001, Vol. 27, No. 2, p. 1850	1-15, 19-20
P X	Andersson O. et al., Nucleotide sequence, genomic organization, and chromosomal localization of genes encoding the human NMDA receptor subunits NR3A and NR3B. Genomics 2001 Dec, Vol. 78, No. 3, p. 178-184	1-15, 19-20
P X	Sasaki YF. et al., Characterization and comparison of the NR3A subunit of the NMDA receptor in recombinant systems and primary cortical neurons. J Neurophysiol 2002 Apr, Vol. 87, No. 4, p. 2052-2063	1-15, 19-20
P X	Eriksson M. et al., Cloning and expression of the human N-methyl-D-aspartate receptor subunit NR3A. Neuroscience Letters 2002, Vol. 321, No. 3, p. 177-181	1-15, 19-20

様式PCT/ISA/210 (第2ページの続き) (1998年7月)

国際調査報告	国際出願番号 PCT/JP02/11207
<p>第1欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)</p> <p>法第8条第3項 (PCT第17条(2)(a))の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。</p>	
<p>1. <input type="checkbox"/> 請求の範囲 _____ は、この国際調査機関が調査することを要しない対象に係るものである。つまり、</p>	
<p>2. <input checked="" type="checkbox"/> 請求の範囲 1.6-1.8 は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、</p> <p style="text-align: center;">特別ページ参照</p>	
<p>3. <input type="checkbox"/> 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。</p>	
<p>第1欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)</p> <p>次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。</p>	
<p>1. <input type="checkbox"/> 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期限内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。</p>	
<p>2. <input type="checkbox"/> 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。</p>	
<p>3. <input type="checkbox"/> 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期限内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。</p>	
<p>4. <input type="checkbox"/> 出願人が必要な追加調査手数料を期限内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。</p>	
<p>追加調査手数料の異議の申立てに関する注意</p> <p><input type="checkbox"/> 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。</p> <p><input type="checkbox"/> 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。</p>	

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP02/11207

請求の範囲16-18に記載の化合物は「請求の範囲第14項または第15項に記載のスクリーニング方法」によって特定されており、当該スクリーニング方法で得られるあらゆる化合物を包含するものである。

しかしながら、明細書には、当該スクリーニング方法で得られる化合物としての具体的なものが一切記載されていないから、請求の範囲の16-18は明細書による裏付けを欠き、開示も欠いている。また、出願時の技術常識を調査しても具体的にどのような化合物が包含され、どのような化合物が包含されないのが全く不明であって、前記請求の範囲の記載は著しく不明確である。

したがって、前記請求の範囲に記載された発明について有意義な調査をすることはできない。

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	F I
A 6 1 K 48/00	A 6 1 K 48/00
A 6 1 P 25/18	A 6 1 P 25/18
A 6 1 P 43/00	A 6 1 P 43/00 1 1 1
C 0 7 K 14/705	C 0 7 K 14/705
C 0 7 K 16/28	C 0 7 K 16/28
C 1 2 N 1/15	C 1 2 N 1/15
C 1 2 N 1/19	C 1 2 N 1/19
C 1 2 N 1/21	C 1 2 N 1/21
C 1 2 N 5/10	C 1 2 P 21/02 C
C 1 2 P 21/02	C 1 2 Q 1/02
C 1 2 Q 1/02	C 1 2 Q 1/68 A
C 1 2 Q 1/68	G 0 1 N 33/15 Z
G 0 1 N 33/15	G 0 1 N 33/50 Z
G 0 1 N 33/50	G 0 1 N 33/53 D
G 0 1 N 33/53	G 0 1 N 33/53 M
	C 1 2 N 5/00 A
	A 6 1 K 37/02

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT, BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE,SK,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW, ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,ES, FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,N O,NZ,OM,PH,PL,PT,RO,RU,SD,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,YU,ZA,ZM,ZW

(72)発明者 小原 収

千葉県木更津市かずさ鎌足2丁目6番地7 財団法人かずさディー・エヌ・エー研究所内

(72)発明者 長瀬 隆弘

千葉県木更津市かずさ鎌足2丁目6番地7 財団法人かずさディー・エヌ・エー研究所内

(72)発明者 菊野 玲子

千葉県木更津市かずさ鎌足2丁目6番地7 財団法人かずさディー・エヌ・エー研究所内

(72)発明者 森 啓

大阪府大阪市東成区中道1丁目3番45号 ハイソコスモ21 301号

(72)発明者 山上 圭司

東京都中央区日本橋本町二丁目2番6号 三菱ウェルファーマ株式会社 東京本社内

(72)発明者 大橋 良孝

東京都中央区日本橋本町二丁目2番6号 三菱ウェルファーマ株式会社 東京本社内

(注)この公表は、国際事務局(WIPO)により国際公開された公報を基に作成したものである。なおこの公表に係る日本語特許出願(日本語実用新案登録出願)の国際公開の効果は、特許法第184条の10第1項(実用新案法第48条の13第2項)により生ずるものであり、本掲載とは関係ありません。

专利名称(译)	<无法获取翻译>		
公开(公告)号	JPWO2003037930A5	公开(公告)日	2006-01-05
申请号	JP2003540211	申请日	2002-10-29
[标]申请(专利权)人(译)	上总DNA KENKYUSHO 森箕		
申请(专利权)人(译)	上总DNA研究所 森箕 入谷修二		
[标]发明人	小原收 長瀬隆弘 菊野玲子 森啓 山上圭司 大橋良孝		
发明人	小原 收 長瀬 隆弘 菊野 玲子 森 啓 山上 圭司 大橋 良孝		
IPC分类号	C12N15/09 A61K31/7088 A61K39/395 A61K45/00 A61K48/00 A61P25/18 A61P43/00 C07K14/705 C07K16/28 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12P21/02 C12Q1/02 C12Q1/68 G01N33/15 G01N33/50 G01N33/53 C12N5/10 A61K38/00		
CPC分类号	A61P25/18 A61P43/00 C07K14/705 C07K14/70571 C12Q1/6883 C12Q2600/158 G01N33/6896 G01N33/9406 G01N2333/70571 G01N2500/00		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A A61K31/7088 A61K39/395.D A61K39/395.N A61K45/00 A61K48/00 A61P25/18 A61P43/00.111 C07K14/705 C07K16/28 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12P21/02.C C12Q1/02 C12Q1/68.A G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.D G01N33/53.M C12N5/00.A A61K37/02		
代理人(译)	庄司隆		
优先权	2001331007 2001-10-29 JP 2001333258 2001-10-30 JP 2001345262 2001-11-09 JP		
其他公开文献	JPWO2003037930A1		

摘要(译)

寻找与人类NMDA型谷氨酸受体亚基3A (NR3A) 有关的新型物质。 分离了源自人脑的新cDNA，并分析了整个核苷酸序列。 然后，当将该碱基序列翻译成氨基酸序列并进行同源性搜索时，证实与大鼠NR3A具有93%的同源性，并且发现这是人NR3A。 此外，证实了在精神分裂症患者的脑中编码NR3A的基因显著增加，并且通过发现NR3A是精神分裂症的病理学状况的物质，完成了本发明。 我到了

