

(19)日本国特許庁 ( J P )

(12) 公表特許公報 ( A ) (11)特許出願公表番号

特表2003 - 509063

(P2003 - 509063A)

(43)公表日 平成15年3月11日(2003.3.11)

| (51) Int. Cl <sup>7</sup> | 識別記号 | F I             | テ-コード ( 参考 ) |
|---------------------------|------|-----------------|--------------|
| C 1 2 N 15/09             | ZNA  | A 0 1 K 67/027  | 2 G 0 4 5    |
| A 0 1 K 67/027            |      | A 6 1 K 31/7088 | 4 B 0 2 4    |
| A 6 1 K 31/7088           |      | 35/76           | 4 B 0 5 0    |
| 35/76                     |      | 45/00           | 4 B 0 6 3    |
| 45/00                     |      | 48/00           | 4 B 0 6 5    |

審査請求 未請求 予備審査請求 ( 全191数 ) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2001 - 523796(P2001 - 523796)

(86)(22)出願日 平成12年9月1日(2000.9.1)

(85)翻訳文提出日 平成14年3月11日(2002.3.11)

(86)国際出願番号 PCT/EP00/08570

(87)国際公開番号 W001/020025

(87)国際公開日 平成13年3月22日(2001.3.22)

(31)優先権主張番号 991 18 120.7

(32)優先日 平成11年9月10日(1999.9.10)

(33)優先権主張国 欧州特許庁(EP)

(71)出願人 エピダウロス バイオテクノロジー アク  
ツィエンゲゼルシャフト

ドイツ連邦共和国 ベルンリード アン  
ニューランド 1

(72)発明者 ウォナウスキ レシェク

ドイツ連邦共和国 ミュンヘン エベナウ  
アー シュトラーセ 9

(72)発明者 アイセルト レジーナ

ドイツ連邦共和国 ユーラスパーグ アル  
ベルト - ヴォン - イリング シュトラーセ  
1

(74)代理人 弁理士 清水 初志 ( 外 1 名 )

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 ヒトCYP3A4遺伝子およびヒトCYP3A7遺伝子における多型および、診断的および治療的適用におけるその使用

(57)【要約】

表現型スペクトル、ならびにCYP3A4遺伝子およびCYP3A7遺伝子の遺伝する異常発現および/または機能の様々な形態を伴う重複する臨床特性を診断および治療する一般的な手段および方法が述べられる。特に、例えば薬物の不十分な代謝および/または感受性に関連する分子変異型CYP3A4遺伝子および分子変異型CYP3A7遺伝子のポリヌクレオチド、ならびにそのようなポリヌクレオチドを含むベクターが提供される。さらに、そのようなポリヌクレオチドまたはベクターを含む宿主細胞、および変異型CYP3A4タンパク質および変異型CYP3A7タンパク質の生産のためのその使用が述べられる。加えて、変異型CYP3A4タンパク質および変異型CYP3A7タンパク質、ならびにそのようなタンパク質を特異的に認識する抗体、さらに上述のポリヌクレオチドまたはベクターを含むトランスジェニック非ヒト動物個体が提供される。また、CYP3A4遺伝子およびCYP3A7遺伝子の多機能性に関連する障害の治療のための阻害剤を同定および獲得する方法、ならびにそのような障害の状態を診断する方法が述べられる。上述のポリヌクレオチド、ベクター、タンパク質、抗体および上述の方法による阻害剤を含む、薬学的組成物および診断用組成物が提供される。CYP3A4

**【特許請求の範囲】**

【請求項1】 以下からなる群より選択されるポリヌクレオチド：

(a)配列番号：

54, 55,  
58, 59, 62, 63, 66, 67, 70, 71, 74, 75, 78, 79, 82, 83, 86, 87, 90, 91, 94,  
95, 98, 99, 102, 103, 106, 107, 110, 111, 118, 119, 122, 123, 126, 127,  
128, 134, 138, 144, 146, 148, 150, 151, 152, 153, 154, 156, 157, 159,  
161, 162, 163, 164または171

に記載の核酸配列をもつポリヌクレオチド；

(b)配列番号：129、135、139、145、147、155、158、160または172の任意の一つ  
のアミノ酸配列をもつポリペプチド；

(c)CYP3A4遺伝子（アクセッション番号：AF280107、CYP3A4タンパク質をコードする最初のATGにおけるヌクレオチドAを1位とする）の6004位、13908位、14292位、14304位、14323位、14329位、14357位、15753位、20230位、21867位、21868位、21896位、22026位、22041位、23081位、23172位、25925位または25958位のいずれか一つに対応する位置、またはCYP3A7遺伝子（アクセッション番号：gi4503232）の1229位に対応する位置で、ヌクレオチド置換、ヌクレオチド欠失、付加的なヌクレオチドまたは、付加的なヌクレオチドおよびヌクレオチド置換をもつポリペプチドであって、23172位に対応する位置におけるヌクレオチド欠失がMからTへのアミノ酸置換を生じないように、またはTからCへのヌクレオチド置換でないような、CYP3A4ポリペプチドまたはCYP3A7ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；

(d)CYP3A4ポリペプチドまたはCYP3A7ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドであって、CYP3A4遺伝子（アクセッション番号：AF280107、CYP3A4タンパク質をコードする最初のATGにおけるヌクレオチドAを1位とする）の6004位、13908位、14292位、20230位、または21868位のいずれか一つに対応する位置に一つのAをもち、CYP3A4遺伝子（アクセッション番号：AF280107、CYP3A4タンパク質をコードする最初のATGにおけるヌクレオチドAを1位とする）の14323位、14329位、21867位、21896位、22026位、22041位、23081位または25925位のいずれか一つに対

応する位置に一つのTをもち、CYP3A4遺伝子（アクセッション番号：AF280107、CYP3A4タンパク質をコードする最初のATGにおけるヌクレオチドAを1位とする）の14357位、15753位、または25958位のいずれか一つに対応する位置に一つのGをもち、CYP3A4遺伝子（アクセッション番号：AF280107、CYP3A4タンパク質をコードする最初のATGにおけるヌクレオチドAを1位とする）の14304位のいずれか一つに対応する位置に一つのCをもち、またはCYP3A7遺伝子（アクセッション番号：gi4503232）の1229位に対応する位置に一つのGをもつポリヌクレオチド；

(e)CYP3A4ポリペプチド（アクセッション番号：AF280107）の56位、130位、170位、174位、363位、373位、416位または445位のいずれか一つにおけるアミノ酸置換を含み、445位に対応する位置における置換がMからTのものではないCYP3A4ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；および

(f)CYP3A4ポリペプチド（アクセッション番号：AF280107）の56位におけるGからDへの、130位におけるRからQへの、170位におけるVからIへの、174位におけるDからHへの、363位におけるTからMへの、373位におけるLからFへの、もしくは416位におけるPからLへのアミノ酸置換、またはCYP3A7ポリペプチド（アクセッション番号：gi4503232）の409位におけるTからRへの、アミノ酸置換を含む、CYP3A4ポリペプチドまたはCYP3A7ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド。

【請求項2】 ポリヌクレオチドが変異型CYP3A4タンパク質もしくは変異型CYP3A7タンパク質またはその断片をコードする、請求項1記載のポリヌクレオチド。

【請求項3】 ヌクレオチドの欠失、付加および/または置換により、対応する野生型遺伝子と比較して、変異型CYP3A4遺伝子または変異型CYP3A7遺伝子の発現が変化する、請求項1または2記載のポリヌクレオチド。

【請求項4】 請求項1から3のいずれか一項記載のポリヌクレオチドを含むベクター。

【請求項5】 ポリヌクレオチドが、原核細胞または真核細胞で発現を誘導する発現制御配列に機能的に連結される、請求項4記載のベクター。

【請求項6】 請求項1から3のいずれか一項記載のポリヌクレオチド、または請求項4もしくは5記載のベクターを用いて、遺伝子に操作された宿主細胞。

【請求項7】 以下の段階を含む、分子変異型CYP3A4タンパク質もしくは分子変異型CYP3A7タンパク質、またはその断片を生産する方法：

- (a) 請求項6記載の宿主細胞を培養する段階；および
- (b) 該タンパク質または断片を培養物から回収する段階。

【請求項8】 請求項1から3のいずれか一項記載のポリヌクレオチド、または請求項4もしくは5記載のベクターを用いて細胞を遺伝子操作する段階を含む、分子変異型CYP3A4遺伝子または分子変異型CYP3A7遺伝子を発現することが可能な細胞を生産する方法。

【請求項9】 請求項1から3のいずれか一項記載のポリヌクレオチドにコードされる、または請求項7記載の方法により得られる、または請求項8記載の方法により生産される細胞から得られる、CYP3A4タンパク質もしくはCYP3A7タンパク質、またはその断片。

【請求項10】 請求項9記載のタンパク質に特異的に結合する抗体。

【請求項11】 請求項1から3のいずれか1項において定義されるような、一つまたはそれ以上のアミノ酸置換を含むエピトープを特異的に認識する、請求項10記載の抗体。

【請求項12】 請求項1から3のいずれか一つのポリヌクレオチドに相補的な核酸分子。

【請求項13】 請求項1から3のいずれか一つのポリヌクレオチドを特異的に認識および切断することが可能な核酸分子。

【請求項14】 請求項12または13記載の核酸分子を含むベクター。

【請求項15】 請求項1から3のいずれか一項記載の少なくとも一つのポリヌクレオチド、または請求項4もしくは5記載のベクターを含む、トランスジェニック非ヒト動物。

【請求項16】 少なくとも一つの、CYP3A4遺伝子またはCYP3A7遺伝子の不活性化された野生型対立遺伝子をさらに含む、請求項15記載のトランスジェニック非ヒト動物。

【請求項17】 マウスまたはラットである、請求項15もしくは16記載のトランスジェニック非ヒト動物。

【請求項18】 以下の段階を含む、CYP3A4遺伝子もしくはCYP3A7遺伝子またはその遺伝子産物の分子変異の活性を調節することが可能な、CYP3A4阻害剤またはCYP3A7阻害剤を同定および獲得する方法：

- (a) 請求項9記載のタンパク質、または請求項1から3のいずれか一項記載のポリヌクレオチドを含む分子変異型CYP3A4遺伝子もしくは分子変異型CYP3A7遺伝子を発現する細胞を、薬物代謝に応答して検出可能なシグナルを提供することが可能な成分の存在下において、CYP3A4またはCYP3A7を介する薬物代謝をさせるような条件下で、スクリーニングされる化合物と接触させる段階、および
- (b) 推定上の阻害剤を示唆する、シグナルの存在もしくは不在、または薬物代謝によって生じるシグナルの増加を検出する段階。

【請求項19】 細胞が、請求項8記載の方法によって得られる、または請求項15から17のいずれか一項記載のトランスジェニック非ヒト動物に含まれる、請求項6記載の細胞である、請求項18記載の方法。

【請求項20】 以下の段階を含む、CYP3A4遺伝子もしくはCYP3A7遺伝子またはその遺伝子産物の分子変異の活性を調節することが可能な、CYP3A4阻害剤またはCYP3A7阻害剤を同定および獲得する方法：

- (a) CYP3A4タンパク質またはCYP3A7タンパク質と結合し、該タンパク質と第一分子の第一の複合体が形成されることが知られている第一の分子と、請求項9記載のタンパク質とを接触させる段階；
- (b) 該第一の複合体とスクリーニングされる化合物とを接触させる段階；および
- (c) 該化合物が、該第一の分子を該第一の複合体から置換するかどうかを測定する段階。

【請求項21】 測定段階が、タンパク質および化合物の第二の複合体の形成を測定する段階を含む、請求項20記載の方法。

【請求項22】 測定段階が、タンパク質に結合しない第一の分子の量を測定する段階を含む、請求項20または21記載の方法。

【請求項23】 第一の分子がニフェジピン、リファンピシン、またはコルチコステロンである、請求項20から22のいずれか一項記載の方法。

【請求項24】 第一の分子が標識される、請求項20から23のいずれか一項

記載の方法。

【請求項25】 以下の段階を含む、CYP3A4遺伝子もしくはCYP3A7遺伝子の分子変異の存在に関連する障害、またはそのような障害への感受性を診断する方法：

(a)被験者からの試料における請求項1から3のいずれか一項記載のポリヌクレオチドの存在を決定する段階；および/または

(b)請求項9記載のタンパク質の存在を決定する段階。

【請求項26】 障害が癌である、請求項25記載の方法。

【請求項27】 PCR法、リガーゼ連鎖反応法、制限酵素切断法、直接配列決定法、核酸増幅技術、ハイブリダイゼーション技術または免疫学的検定法を含む、請求項25または26記載の方法。

【請求項28】 障害をなくすまたは軽減するため、被験者に薬物を投与する段階をさらに含む、請求項25から27のいずれか一項記載の方法。

【請求項29】 (i)機能的および発現可能な野生型CYP3A4遺伝子もしくは野生型CYP3A7遺伝子、または  
(ii)請求項12もしくは13記載の核酸分子、または請求項14記載のベクターを細胞に導入する段階をさらに含む、請求項25から28のいずれか一項記載の方法。

【請求項30】 請求項18から24のいずれか一項記載の方法の段階および以下の段階を含む薬学的組成物を生産する方法：

(c)段階(b)において同定および獲得される化合物もしくはその誘導体を、薬学的に許容される形態に合成および/または製剤化する段階。

【請求項31】 薬物またはプロドラッグを治療的適用に適した形態に製剤化する段階、および請求項25または26記載の方法において診断された被験者の障害を予防または改善する段階を含む、薬学的組成物を調製する方法。

【請求項32】 化合物の薬物またはプロドラッグが、請求項28において定義されるような薬物の誘導体である、請求項30または31記載の方法。

【請求項33】 請求項18から24のいずれか一項記載の方法により同定される、または獲得が可能な阻害剤。

【請求項34】 請求項9記載のタンパク質に特異的に結合する請求項33記

載の阻害剤。

【請求項35】 請求項1から3のいずれか一項記載のポリヌクレオチドの検出のための、および/または、個々のCYP3A4対立遺伝子またはCYP3A7対立遺伝子の遺伝子型決定のための、オリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドの使用。

【請求項36】 ポリヌクレオチドが請求項1から3のいずれか一項記載のポリヌクレオチド、または請求項12もしくは13記載の核酸分子である、請求項35記載の使用。

【請求項37】 オリゴヌクレオチドが約15～50ヌクレオチド長であり、配列番号：1～127、140もしくは141のいずれか一つのヌクレオチド配列、または相補的配列を含む、請求項35記載の使用。

【請求項38】 請求項37において定義されるようなオリゴヌクレオチドを含むプライマーまたはプローブ。

【請求項39】 請求項9記載のタンパク質、請求項1から3のいずれか一項記載のポリヌクレオチドを含む分子変異型CYP3A4遺伝子または分子変異型CYP3A7遺伝子の発現を検出するための、および/または、請求項1から3のいずれか一項記載のポリヌクレオチドを含むCYP3A4対立遺伝子を識別するための、CYP3A4遺伝子またはCYP3A7遺伝子の遺伝子産物に特異的に結合することが可能な抗体または物質の使用。

【請求項40】 請求項1から3のいずれか一項記載のポリヌクレオチドを含む組成物、請求項4もしくは5記載のベクター、請求項6記載の宿主細胞もしくは請求項8記載の方法により得られる宿主細胞、請求項9記載のタンパク質、請求項10または11記載の抗体、請求項12または13記載の核酸分子、請求項14記載のベクター、請求項33記載の阻害剤、または請求項38記載のプライマーもしくはプローブ。

【請求項41】 診断用組成物または薬学的組成物である、請求項40記載の組成物。

【請求項42】 請求項1から3のいずれか一項記載のポリヌクレオチドをゲノム内に含む被験者の障害を治療または予防するための、薬学的組成物の調製のための、有効用量の薬物またはプロドラッグの使用。

【請求項43】 障害が癌である、請求項42記載の使用。

**【発明の詳細な説明】****【0001】****発明の分野**

本発明は、表現型スペクトル、およびチトクロームP450 (CYP) 3A4遺伝子およびCYP3A7遺伝子の遺伝する異常発現および/または機能の幾つかの形態を伴う重複する臨床特性を、診断および治療する手段および方法に広く関連する。特に、本発明は、例えば異常な薬物応答または環境発癌物質に引き起こされる幾つか共通の癌の個々の素因に関係する、分子変異型CYP3A4遺伝子および分子変異型CYP3A7遺伝子のポリヌクレオチド、ならびにそのようなポリヌクレオチドを含有するベクターに関連する。さらに、本発明はそのようなポリヌクレオチドまたはベクターを含有する宿主細胞、ならびに変異型CYP3A4タンパク質および変異型CYP3A7タンパク質を産生するためのその使用に関連する。さらに、本発明は変異型CYP3A4タンパク質および変異型CYP3A7タンパク質および特異的にそのようなタンパク質を認識する抗体に関連する。本発明はまた、上述のポリヌクレオチドまたはベクターを含有するトランスジェニック非ヒト動物に関連する。加えて、本発明は、CYP3A4遺伝子およびCYP3A7遺伝子の多機能に関する疾病の治療のための薬物候補および阻害剤を同定および獲得するための方法、ならびにそのような疾病の状態の診断方法に関連する。本発明はさらに、上述の方法によって得られる、上述のポリヌクレオチド、ベクター、タンパク質、抗体および薬物および阻害剤を含む薬学的組成物および診断用組成物を提供する。組成物は特に、CYP3A4遺伝子およびCYP3A7遺伝子またはその産物の基質、阻害剤または調節剤である薬物を用いた、様々な疾患の診断および治療に有用である。

**【0002】**

本明細書の本文を通して幾つかの文書が引用されている。本明細書で引用される各文書（任意の製造者の仕様書、指示書等を含む）は本明細書において参照として組み入れられるが、引用される任意の文書が実際に本発明に関する先行技術であるということを認めただけではない。

**【0003】****発明の背景**

血液蛋白のチトクロームP450 (CYP) ファミリーのメンバーは、広い種類の、ステロイドホルモンのような内因性基質や、発癌物質、トキシンおよび薬物を含む生体異物を代謝する(1、2)。ヒトCYPタンパク質のうち、集合的に、全てのヒトCYPアイソフォームのうち飛びぬけて最も量が多いため、CYP3Aサブファミリーのものが主な重要性をもつものである。さらに、それらの基質特異性は著しく広い；したがって、多くの構造的に異なる化合物は、独占的に、またはある程度までは、CYP3Aタンパク質の基質である。得られるデータに基づき、一般に、全てのCYP3Aアイソフォームは同様の基質スペクトルをもつと仮定される；しかし、限られた研究では、相違の可能性が示唆される(3)。全てのCYP3Aアイソフォームは、薬物の処理に特定の重要性がある器官(胃腸管、腎臓および肝臓)に局在している。

#### 【0004】

少なくとも3つの機能的CYP3Aタンパク質が、ヒトにおいて存在する。CYP3A4モノオキシゲナーゼは、ヒトの肝臓および小腸における支配的なチトクロームP450である。このタンパク質は広い基質特異性を示し、避妊ステロイド、抗うつ薬、ベンゾジアゼピン、免疫抑制薬、イミダゾール抗有糸分裂薬、およびマクロライド系抗生物質を含む、現在使用される全ての薬物の60%以上を代謝する(4、5)。さらに、CYP3A4は、環境トキシンからの防護において主要な役割を担う。例えば、このタンパク質は、アフリカおよびアジアの多くの地域における早死の主な原因である、肝臓癌の病因に関係があるとされるアフラトキシンB1を代謝する。アフラトキシンB1はアスペルギルス種により産生されるマイコトキシンであり、ヒトへの曝露は主にカビに汚染された貯蔵食品の摂取の結果起こる。発癌性は肝チトクロームP450依存のモノオキシゲナーゼ系による8,9-酸化物へのその変換に関連している。フォレスター(Forrester)ら(6)は、アフラトキシンB1の代謝活性率はミクロソーム中のCYP3A遺伝子ファミリーのタンパク質レベルと高い相関があることを見出した。さらに、パオリニ(Paolini)ら(7)は、 $\beta$ -カロチンの高用量で処理したラットの肺におけるCYP3Aの著しい増加を見出した。その結果、ヒトにおける、同様に高レベルのCYP3A4が、生物活性化されたタバコ喫煙の前発癌物質からの癌のリスクの素因を個体に与え、ゆえに、喫煙者における

-カロチンの発癌補助効果が説明されることが提案された。これら全ては、CYP3A4活性における個体差が様々な薬物治療の有効性、および、環境発癌物質に引き起こされる幾つかの主要な癌への個々の素因に影響する可能性があることを意味する。

#### 【0005】

CYP3A4の含有量および触媒活性におけるかなりの変異が、実際に一般集団で述べられてきた。例えば、遺伝子基質の代謝クリアランスは20倍までの個体相互の変異で単様式の分布を表す。肝臓生検におけるCYP3A4タンパク質の活性は、30倍まで変動する(8)。さらに、多くの一般的薬物は遺伝子の発現レベル(誘導または抑制)を変化させ、この現象の程度は各々変化する。CYP3A4発現の誘導物質は、糖質コルチコイドデキサメタゾン、抗生物質リファンピシン、および抗有糸分裂性クロトリマゾールのような、一般に使用される薬物を含む。CYP3A4発現の誘導能は、基質の多様な範囲と組み合せて、多剤療法を行う患者においては、このアイソザイムに関わる潜在的に有害な薬物相互作用の可能性を生じる。

#### 【0006】

CYP3A1はCYP3A4に密接に関連したアイソフォームである(>98%のcDNA配列類似性)が、これが別々の遺伝子産物を反映するのか、または対立遺伝子の変異を反映するのかは知られていない。対照的に、CYP3A5はCYP3A4とは別個の遺伝子であり、成人および胎児の肝臓および腎臓および腸管において多型的に発現する。成人の白人においては、試料の10~30%の肝臓においてmRNAおよびタンパク質が検出され、一方、被験者の70%の腎臓および腸管においてタンパク質が検出された(9)およびその文献を参照のこと)。おそらく不安定なタンパク質を合成させる、CYP3A5遺伝子で述べられた点突然変異は、この酵素の多型的発現を説明する可能性がある(9)。CYP3A7は第3の機能的CYP3Aアイソフォームである。CYP3A7は当初、胎児の肝臓から単離されたが、後に成人の肝臓の54%において発見された(10)。

#### 【0007】

個々の患者におけるCYP3Aアイソザイムの誘導能および活性を評価する試験は、それらの基質である薬物を用いた治療の最大限の利用、および関連する副作用

の防止と明らかな関係があると考えられる。肝臓生検におけるCYP3Aアイソザイム活性の直接評価は可能であるが、倫理的および費用上の理由から実用に適さない。エリスロマイシン呼気分析試験または6-β-ヒドロキシコルチゾール試験等のCYP3A4活性の間接的インビボ試験は、望ましくないプローブ物質の侵襲的投与等の倫理的な問題を引き起こし、またそれらは明らかに定常的な試験には適していない。加えて、これらの試験間の相関欠如は、CYP3A4活性に関するそれらの有益な価値を疑問視する(11)。

#### 【0008】

個体相互間CYP3A4可変性の大部分(83%)は、遺伝子的要因によるものであった(12)。それらの要因の事前同定を想定し、CYP3A4および他のCYP3Aアイソザイムの活性についての遺伝子的試験を確立することが可能である。CYP3Aアイソザイムの活性および発現に影響を及ぼす遺伝分散は遺伝子そのものに、または一つもしくはそれ以上のそれらの制御因子に局限できる。最も良く特徴付けられたCYP3A遺伝子、CYP3A4の、最初に公表された3つの配列の比較により、CYP3A4タンパク質のアミノ酸配列に影響する多型の存在が示唆された(13)。あいにく、本発明者らの知る限り、この知見は、一般集団においては確認されなかった。より最近には、CYP3A4プロモーターのニフェジピン特異的な反応因子における多型(CYP3A4-W)が述べられた(14)。その存在は、より進行した前立腺腫瘍の病期と関連している(14)。フェリックス(Felix)ら(15)は、新規の99例、および治療関連白血病の30例において、この多型を調べた。全ての治療関連例において、一つまたはそれ以上の、CYP3Aにより代謝される、エピポドフィロトキシン(epipodophyllotoxin)のような抗癌剤への事前曝露があった。これらのデータは、CYP3A-W多型をもつ個体では、治療に関連した白血病への危険性が増加する可能性があり、CYP3A4によるエピポドフィロトキシン(epipodophyllotoxin)代謝は二次的な癌の危険性に寄与する可能性があることを示唆する。現在のところ、多型がCYP3A4タンパク質の発現性または誘導能に影響するかどうかは不明である。最初に公表された分析により、CYP3A4の基礎発現レベルには影響がないことが示唆される(8)。CYP3A5において点突然変異が述べられたが(9)一方、CYP3A7においては突然変異は報告されなかった。

## 【0009】

人工的にCYP3A4遺伝子に導入したアミノ酸置換を用いた実験により、ファミリーのメンバーの機能がアミノ酸置換に対して非常に感受性が高いことが示される(16~21)。アミノ酸置換に加え、サイレント多型および、非翻訳配列またはイントロン配列に局在するものもまた、これらの遺伝子の発現レベルに影響を及ぼす可能性がある。または、そのような多型は周辺の、同定されていない多型のマーカーとしての役割を担う可能性がある。この効果は連鎖として知られており、即ち、定義された多型は、それらが原因とならない表現型のマーカーとしての役割を担う。

## 【0010】

1998年、CYP3A4の発現がPXR(プレグナンX受容体)またはPARと呼ばれるオーファン核受容体ファミリーのメンバーにより制御されることを3つの研究グループが独立して示し、CYP3A発現および誘導性を理解する上での重大な躍進が起こった(22~24)。CYP3A4の誘導物質を用いた処理により、PXRは9-シスレチノイン酸受容体(RXR)をもつヘテロ二量体として、CYP3A4プロモーターのリファンピシン/デキサメタゾン反応要素に結合する。ノーザンブロット解析により、肝臓、結腸、および小腸、即ちCYP3A4を発現する主要な器官において、hPXRの最も多量の発現が検出された。利用可能な証拠により、ヒトPXRは、CYP3A4遺伝子の主要な転写制御因子としての役割を担うことが示唆される。近年の報告により、PXRに仲介されるCYP3A7の誘導が記述され、ファミリーの全てのメンバーがこの共通の転写活性化因子により制御される可能性があることが示唆されている(25)。

## 【0011】

自然に生じた突然変異が存在する場合、それらは、特に癌治療において、薬物の代謝および薬物治療の有効性に影響を及ぼす可能性があることは明らかである。しかし、ヒトCYP3A4遺伝子およびヒトCYP3A7遺伝子において、そのような変異がどれほど、またどの程度の頻度でどの位置に存在するのかは知られていない。

## 【0012】

したがって、CYP3A4遺伝子多型および/またはCYP3A7遺伝子多型に起因し、例

例えば疾患、特に癌の化学療法を妨げる個々の薬物不耐性および薬物治療の無効性の多様な形態を診断および治療する手段および方法は、従来利用可能ではなかったが、やはり非常に望ましい。

【0013】

ゆえに、本発明の技術的な課題は上述の要求に応じることである。

【0014】

この技術的課題の解決は添付の特許請求の範囲において特徴付けられる態様の提供により達成される。

【0015】

発明の概要

本発明はCYP3A4遺伝子およびCYP3A7遺伝子のヌクレオチド配列における、新規かつこれまで未知の変異および、これらの対立遺伝子の集団分布の知見に基づいている。これらの新規の配列に基づき、診断試験およびそのような試験のための試薬は、CYP3A4遺伝子およびCYP3A7遺伝子のホモ接合体およびヘテロ接合体、高頻度対立遺伝子および低頻度対立遺伝子を含む、ヒトにおけるCYP3A4対立遺伝子およびCYP3A7対立遺伝子の特異的な検出および遺伝形質決定のために設計された。そのような試験法を用いたヒトのCYP3A4対立遺伝子および/またはCYP3A7対立遺伝子の状態の決定は、CYP3A4およびCYP3A7の多くの基質を用いた治療の最適化に有用である。環境発癌物質によって引き起こされる幾つかの共通の癌の個々の素因を試験するのにも有用であり得る。

【0016】

第一の態様において、本発明は分子変異型CYP3A4遺伝子および分子変異型CYP3A7遺伝子のポリヌクレオチド、ならびにそれに関連する態様、例えばベクター、宿主細胞、変異型CYP3A4タンパク質および変異型CYP3A7タンパク質ならびにそれらの産生方法等を提供する。

【0017】

その他の態様において、本発明は、後天性の薬物感受性低下または薬物過感受性に関連する疾病の治療のため、薬物候補ならびにCYP3A4およびCYP3A7の阻害剤を同定および獲得する方法、またそのような疾病の状態を診断する方法を提供す

る。

【0018】

さらなる態様において、本発明は、上述のポリヌクレオチド、それらを含むベクター、タンパク質、それに対する抗体、ならびに上述の方法により得られる薬物および阻害剤を含む、薬学的組成物および診断用組成物を提供する。

【0019】

本発明の薬学的組成物および診断用組成物、方法および利用は、治療が薬物治療および薬物耐性に依存している癌および他の疾患の診断および治療に有用である。本発明によるCYP3A4遺伝子およびCYP3A7遺伝子の新規の変異形態は、一定の患者に対する薬物の薬力学的プロファイルの開発の可能性を提供する。

【0020】

発明の説明

CYP3A4遺伝子およびCYP3A7遺伝子における変異の知見および特徴付け、ならびにヒト個体における異なるCYP3A4対立遺伝子および異なるCYP3A7対立遺伝子の区別についての診断試験は、CYP3A4遺伝子産物またはCYP3A7遺伝子産物の標的であり、ゆえにその代謝がCYP3A4またはCYP3A7に依存するような薬物を用いた疾患の治療法を改善するために、非常に有力な手段を提供する。個々の対立遺伝子CYP3A7およびCYP3A7の状態の診断により、例えば、薬物の個別の用法の適用の可能性を開くことにより、焦点を絞った治療が可能となる。それはまた、治療の結果についての予後を知る手段としても有用である。さらに、CYP3A4およびCYP3A7、および新規CYP3A4変異および新規CYP3A7変異を遺伝形質決定するための診断試験は、確立した薬物で治療法を改善し、遺伝子型を薬物活性または副作用と関連付けるのに役立つのみではない。これらの試験および配列はまた、個々の型のCYP3A4およびCYP3A7の活性を特異的に調節する新規阻害剤の開発のための試薬を提供する。例えば、ヒト肝臓CYP3A4をコードする3つの対立遺伝子cDNAの酵母における発現、ならびにそれらの遺伝子産物の結合特性および触媒活性を試験する方法は(13)に記載されている。

【0021】

ゆえに、本発明は分子生物学および薬物療法についての薬学的研究を開発する

新規の方法を提供する一方、変異型CYP3A4遺伝子および変異型CYP3A7遺伝子の発現に起因する、それらの潜在的な有害効果については回避している。

【0022】

したがって、本発明は以下からなる群より選択されるポリヌクレオチドに関連する：

(a)配列番号：

54,  
55, 58, 59, 62, 63, 66, 67, 70, 71, 74, 75, 78, 79, 82, 83, 86, 87, 90, 91,  
94, 95, 98, 99, 102, 103, 106, 107, 110, 111, 118, 119, 122, 123, 126,  
127, 128, 134, 138, 144, 146, 148, 150, 151, 152, 153, 154, 156, 157  
159, 161, 162, 163, 164.または171

に記載の核酸配列を有するポリヌクレオチド；

(b)配列番号：129、135、139、145、147、155、158、160または172の任意の一つのアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；

(c)CYP3A4遺伝子（アクセッション番号：AF280107、CYP3A4タンパク質をコードする最初のATGにおけるヌクレオチドAを1位とする）の6004位、13908位、14292位、14304位、14323位、14329位、14357位、15753位、20230位、21867位、21868位、21896位、22026位、22041位、23081位、23172位、25925位または25958位のいずれか一つに対応する位置に、またはCYP3A7遺伝子（アクセッション番号：gi4503232）の1229位に対応する位置に、ヌクレオチド置換、ヌクレオチド欠失、付加的なヌクレオチドまたは、付加的なヌクレオチドおよびヌクレオチド置換を有するポリペプチドであり、23172位に対応する位置におけるヌクレオチド欠失がMからTへのアミノ酸置換を生じないか、またはTからCへのヌクレオチド置換でない、CYP3A4ポリペプチドまたはCYP3A7ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；

(d)CYP3A4遺伝子（アクセッション番号：AF280107、CYP3A4タンパク質をコードする最初のATGにおけるヌクレオチドAを1位とする）の6004位、13908位、14292位、20230位、または21868位のいずれか一つに対応する位置に一つのAを有し、CYP3A4遺伝子（アクセッション番号：AF280107、CYP3A4タンパク質をコードする

最初のATGにおけるヌクレオチドAを1位とする)の14323位、14329位、21867位、21896位、22026位、22041位、23081位または25925位のいずれか一つに対応する位置に一つのTを有し、CYP3A4遺伝子(アクセッション番号:AF280107、CYP3A4タンパク質をコードする最初のATGにおけるヌクレオチドAを1位とする)の14357位、15753位または25958位のいずれか一つに対応する位置に一つのGを有し、CYP3A4遺伝子(アクセッション番号:AF280107、CYP3A4タンパク質をコードする最初のATGにおけるヌクレオチドAを1位とする)の14304位のいずれか一つに対応する位置に一つのCを有するポリペプチド、またはCYP3A7遺伝子(アクセッション番号:gi4503232)の1229位に対応する位置に一つのGを有するポリペプチドであり、CYP3A4ポリペプチドまたはCYP3A7ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド;

(e)CYP3A4ポリペプチド(アクセッション番号:AF280107)の56位、130位、170位、174位、363位、373位、416位または445位のいずれか一つにおけるアミノ酸置換を含むポリペプチドであり、445位に対応する位置における置換がMからTへのものではない、CYP3A4ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド;および  
(f)CYP3A4ポリペプチド(アクセッション番号:AF280107)の56位におけるGからDへの、130位におけるRからQへの、170位におけるVからIへの、174位におけるDからHへの、363位におけるTからMへの、373位におけるLからFへの、もしくは416位におけるPからLへのアミノ酸置換を含むか、またはCYP3A7ポリペプチド(アクセッション番号:gi4503232)の409位におけるTからRへの、アミノ酸置換を含む、CYP3A4ポリペプチドまたはCYP3A7ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド。

### 【0023】

本発明の状況においては、本明細書にて使用されるような「分子変異」CYP3A4またはCYP3A7の遺伝子またはタンパク質という用語は、CYP3A4またはCYP3A7の遺伝子またはタンパク質が、ヌクレオチドの置換、付加および/または欠失により、野生型のCYP3A4またはCYP3A7の遺伝子またはタンパク質とは異なることを意味する(CYP3A4、CYP3A7遺伝子のゲノム配列は、例えばBork, J Biol Chem 264(1989), 910~9; Hashimoto, Eur J Biochem 218(1993), 585~95; Beaune, Proc Nat

I Acad. Sci USA 83(1986), 8064~8; Malowa, Proc Natl Acad Sci USA 83(1986), 5311~5に記載されている; アクセション番号: M14096、J04449、X12387、M18907。多型の番号付けは配列M14096に委託される; CYP3A7については: 参照配列はKomori, J Biochem(Tokyo) 105(1989), 161~3に記載されている; アクセション番号: gi4503232。)。好ましくは、このヌクレオチド置換は、CYP3A4タンパク質またはCYP3A7タンパク質のアミノ酸配列において、対応する変化をもたらす。

#### 【0024】

本明細書にて使用される「対応する」という用語は、ある位置は先行するヌクレオチドおよびアミノ酸の数のみによってそれぞれ決定されるのではないことを意味する。欠失、置換の可能性のある、または一つもしくはそれ以上の付加的なヌクレオチドを含む可能性のある、本発明による一定のヌクレオチドまたはアミノ酸の位置は、遺伝子またはポリペプチドにおけるどこか他の欠失または付加的なヌクレオチドもしくはアミノ酸によって変化する可能性がある。ゆえに、本発明による「対応する位置」のもとでは、ヌクレオチドまたはアミノ酸は示された数において異なる可能性があるが、なおも同様の近傍ヌクレオチドまたはアミノ酸を有する可能性があることが理解されるべきである。置換、欠失される、または付加的なヌクレオチドまたはアミノ酸を含む可能性のあるヌクレオチドまたはアミノ酸は、「対応する位置」という用語にも含有される。ヌクレオチドまたはアミノ酸は、例えばそれらの近傍のヌクレオチドまたはアミノ酸と共に、遺伝子発現の制御、対応するRNAまたはRNAエディティングの安定性に関する可能性のある配列、加えて本発明のタンパク質の機能的ドメインまたはモチーフをコードする可能性のある配列を形成し得る。

#### 【0025】

本発明に従い、CYP3A4遺伝子およびCYP3A7遺伝子における新規のこれまで未定の遺伝子変異の様式および集団分布は、多くの異なる個体から得たヒトCYP3A4遺伝子およびCYP3A7遺伝子の関連領域の配列解析により解析された。CYP3A4およびCYP3A7を含む全ての遺伝子の各々の遺伝子的性質をもつ、個体のゲノムDNAが、個々の血液試料から容易に精製できることは既知の事実である。これらの個々

のDNA試料はその後、血液試料を提供した個体に存在するCYP3A4対立遺伝子およびCYP3A7対立遺伝子の配列組成の解析に使用される。配列解析はCYP3A4遺伝子およびCYP3A7遺伝子の関連領域のPCR増幅、それに続くPCR産物の精製、その後の、確立された方法（ABI ダイターミネーターサイクルシーケンシング）を用いた自動DNAシーケンシングにより実施した。

#### 【0026】

ヒト血液ゲノムDNAのPCR産物の直接DNA配列決定法によって個々のCYP3A4遺伝子および/またはCYP3A7遺伝子型を決定し、新規CYP3A4変異または新規CYP3A7変異を同定する試みにおいて、考慮しなければならなかったある重要なパラメータは、各ヒトは各々の常染色体上の遺伝子（二倍性）の2つの遺伝子コピーを有する（通常、異常な例外は非常に少ない）という事実である。それにより、ホモ接合配列変異のみならず、ヘテロ接合変異をも明瞭に同定できるようにするため、配列の評価には非常に慎重を要した。新規CYP3A4遺伝子およびCYP3A7遺伝子多型（ホモ接合およびヘテロ接合）の同定および特徴付けにおける異なる段階の詳細は、下記の実施例に記載される。

#### 【0027】

本発明に従って検出されるCYP3A4遺伝子およびCYP3A7遺伝子における突然変異のいくつかの配列データは図4にて示される（矢印により示される）。突然変異解析の方法は標準プロトコールに従い、実施例にて詳細に記載される。一般に、表現型スペクトルおよび、CYP3A4遺伝子またはCYP3A7遺伝子において突然変異をもつ患者における薬物代謝および変化した薬物耐性という、他の形態と重複する臨床的特徴の評価のため、本発明に従って使用されるそのような方法は、例えばハプロタイプ解析、単鎖コンフォメーション多型解析（SSCA）、PCR法および直接配列決定法を含む。多くの患者の徹底的な臨床的特徴付けに基づいて、表現型は後にこれらの突然変異、また以前に述べられた突然変異と関連付けることができる。

#### 【0028】

当業者には明白であるように、この新しい分子遺伝学的知識は現在、投与された薬物が異常な効果をもたらすような、指標となる患者およびその家族の遺伝子

型を正確に特徴付けるために使用することができる。

【0029】

過去20年間にわたって、遺伝子の異質性は薬物への反応にみられる変異の重要な原因としてますます認識されるようになった。多くの科学発表論文 (Meyer, *Ann.Rev.Pharmacol.Toxicol.* 37(1997), 269~296およびWest, *J.Clin.Pharmacol.* 37(1997), 635~648) は、ある種の薬物は、ある患者においては他の患者においてよりも、より良く作用する、または非常に毒性が高いことすらあること、また薬物に対する患者の反応におけるこれらの変異は分子的基盤に関連する可能性があることを明らかに示している。この「ゲノム薬理学」の概念は、患者の薬物への反応と遺伝子のプロフィールとの間の相関に焦点を向けている (Marshall, *Nature Biotechnology*, 15(1997), 954~957; Marshall, *Nature Biotechnology*, 15(1997), 1249~1252)。

【0030】

薬物療法に関連する集団変異性のこのような状況において、ゲノム薬理学は、特定の薬物に対して副作用なく反応できる患者の同定および選択に有用な手段として提案されてきた。この同定/選択は、例えば患者の血中の白血球からのDNAを遺伝形質決定することによる、遺伝子多型の分子診断および疾患の特徴付けに基づくことができる (Bertz, *Clin.Pharmacokinet.* 32(1997), 210~256; Engel, *J.Chromatogra.B.Biomed.Appl.* 678(1996), 93~103)。米国の民間健康保険医療団体、および多くの欧州諸国の政府公衆衛生局のような健康管理提供者のためには、このゲノム薬理学的アプローチにより健康管理を改善すること、ならびに不必要な治療、有効性のない薬物、および副作用のある薬物に対してかかる巨額な費用を削減することの双方の改善を示すことが可能である。

【0031】

変異型CYP3A4遺伝子および変異型CYP3A7遺伝子における突然変異は時には、単独または複合の、アミノ酸の欠失、挿入、および特に置換を生じる。野生型遺伝子または他の突然変異形態におけるそのような突然変異を遺伝子的に操作することは当然ながら可能である。CYP3A4遺伝子またはCYP3A7遺伝子のDNA配列におけるそのような改変の導入法は、当業者にはよく知られている；例えばサムブルッ

ク (Sambrook)、「分子クローニング実験マニュアル, (Molecular Cloning A Laboratory Manual)」、コールドスプリングハーバー研究所 (Cold Spring Harbor Laboratory) (1989) N.Y.を参照のこと。

#### 【0032】

本発明の好ましい態様において、上述のポリヌクレオチドは、例えば、配列番号：129、135、139、145、147、149、155、158、または160によりコードされるアミノ酸配列の一つ又は複数のエピトープを含む、変異型CYP3A4タンパク質もしくは変異型CYP3A7タンパク質またはその断片をコードする。

#### 【0033】

CYP3A4タンパク質およびCYP3A7タンパク質のアミノ酸配列における変化の性質の研究のために、インターネットから得られるBRASMOLのようなコンピュータープログラムが使用できる。さらに、他の適切なコンピュータープログラムを用いて、構造モチーフの折りたたまれ方のシミュレーションおよびコンピューターによる再設計を行うことができる (Olszewski, Proteins 25(1996), 286~299; Hoffman, Comput. Appl. Biosci. 11(1995), 675~679)。コンピューターは詳細なタンパク質モデルの構造解析およびエネルギー解析に使用できる (Monge, J. Mol. Biol. 247(1995), 995~1012; Renouf, Adv. Exp. Med. Biol. 376(1995), 37~45)。これらの解析は、薬物の結合および/または代謝に対する、特定の突然変異の影響の決定に使用できる。

#### 【0034】

一般に、本発明のポリヌクレオチドにコードされるタンパク質のアミノ酸配列におけるアミノ酸の欠失、付加または置換は、一つ又は複数のヌクレオチドの置換、挿入または欠失、またはそれらの任意の組み合わせによるものである。好ましくは、ヌクレオチド置換、挿入または欠失は、CYP3A4遺伝子におけるGly56からAsp、Arg130からGln、Val170からIle、Asp174からHis、Thr363からMet、Leu373からPhe、もしくはPro416からLeu、および/またはCYP3A7遺伝子のエキソン11におけるThr409からArgというアミノ酸の置換を生じる。

#### 【0035】

本発明のポリヌクレオチドは、本明細書の上記にて特定される他に、例えば先

行技術；例えば(13)に記述された、少なくとも一つのヌクレオチドおよび任意にアミノ酸の欠失、付加および/または置換をさらに含み得る。本発明のこの態様は、遺伝子のそのような突然変異形態、または上述のタンパク質により模倣され得る同様の突然変異形態をもつ患者における、薬物の薬理学的プロフィールに対する、CYP3A4遺伝子またはCYP3A7遺伝子における突然変異の相乗効果の研究を可能にする。相乗効果の解析により、癌およびその他の疾患のある形態の薬物耐性表現型または薬物感受性表現型の発現についてより深い洞察が提供されることが期待される。より深い洞察から、癌に関連する診断用組成物および薬学的組成物の開発は大いに恩恵を受けると考えられる。

#### 【0036】

ゆえに、好ましい態様において、本発明は、ヌクレオチドの欠失、付加および/または置換が、対応する野生型遺伝子と比較して、変異型CYP3A4遺伝子または変異型CYP3A7遺伝子の変化した発現をもたらすような、分子変異型CYP3A4遺伝子および変異型CYP3A7遺伝子のポリヌクレオチドに関連する。

#### 【0037】

本発明のポリヌクレオチドは、例えばDNA、cDNA、ゲノムDNA、RNA、または合成によって産生されたDNAもしくはRNA、またはこれらのうち任意のポリヌクレオチドを単独でもしくは組合せで含む、組換えにより産生したキメラ核酸分子が可能である。好ましくはポリヌクレオチドは、本発明のポリヌクレオチドを含む、遺伝子的な操作に従来使用されるベクター、特にプラスミド、コスミド、ウイルスおよびバクテリオファージの一部である。そのようなベクターはさらに、適した宿主細胞および適切な条件下においてベクターを選択させるマーカー遺伝子のような遺伝子を含む可能性がある。

#### 【0038】

本発明のベクターのさらに好ましい態様において、本発明のポリヌクレオチドは、原核細胞または真核細胞における発現をさせる発現制御配列に、有効に連結される。ポリヌクレオチドの発現はポリヌクレオチドの転写、好ましくは翻訳可能なmRNAへの転写を含む。真核細胞、好ましくは哺乳動物細胞における発現を保証する制御要素は、当業者によく知られている。それらは通常、転写開始を保証

する制御配列、および任意に、転写終結および転写の安定化を保證するポリAシグナルを含む。付加的な制御要素は転写エンハンサーおよび翻訳エンハンサーを含み得る。原核宿主細胞における発現を許容する可能な制御要素は、例えば、大腸菌におけるlac、trpまたはtacプロモーターを含み、真核宿主細胞における発現を許容する制御要素の例は、酵母におけるAOX1またはGAL1プロモーター、またはCMV、SV40、RSVプロモーター（ラウス肉腫ウイルス）、CMVエンハンサー、SV40エンハンサー、または哺乳動物細胞および他の動物細胞におけるグロビンイントロンである。転写開始を担う因子に加えて、そのような制御要素は、ポリヌクレオチドの下流に、SV40ポリA部位またはtkポリA部位のような転写終結シグナルをも含み得る。この状況において、Okayama-Berg cDNA発現ベクターpcDV1（Pharmacia）、pCDM8、pRc/CMV、pcDNA1、pcDNA3（In-vitro gene）、pSPORT1（GIBCO BRL）のような、適切な発現ベクターが、当技術分野において既知である。好ましくは、ベクターは発現ベクターおよび/または遺伝子転移ベクターもしくはターゲティングベクターである。レトロウイルス、ワクシニアウイルス、アデノ関連ウイルス、ヘルペスウイルス、またはウシパピローマウイルスのようなウイルスに由来する発現ベクターは、本発明のポリヌクレオチドまたはベクターの標的細胞集団への導入に使用できる。組換えウイルスベクターを構築するため、当業者に既知の方法が使用できる；例えば、サムブルック、「分子クローニング実験マニュアル」コールドスプリングハーバー研究所 N.Y.および、オースベル（Ausubel）、「分子生物学における最新プロトコル（Current Protocols in Molecular Biology）」Green Publishing Associates and Wiley Interscience, N.Y. (1994)に記載の技術を参照のこと。または、本発明のポリヌクレオチドおよびベクターは、標的細胞への運搬のためリポソームへ再構成することができる。

#### 【0039】

本発明はさらに、本発明のポリヌクレオチドまたはベクターを用いて形質転換した宿主細胞に関連する。宿主細胞は原核細胞または真核細胞が可能である；上記を参照のこと。宿主細胞において存在する本発明のポリヌクレオチドまたはベクターを、宿主細胞のゲノムへ組み込むか、または染色体外に維持することができる。この点において、本発明の組換えDNA分子を「遺伝子ターゲティング」お

よび/または「遺伝子置換」のために、突然変異遺伝子の回復または、相同組換えを介した突然変異遺伝子の作製のために使用できることもまた理解される；例えばモウリック (Mouellic, Proc.Natl.Acad.Sci.USA, 87(1990), 4712~4716)；ジョイナー (Joyner)、「遺伝子ターゲティング、実践アプローチ (Gene Targeting, A Practical Approach)」Oxford University Pressを参照のこと。

#### 【0040】

宿主細胞としては、バクテリア、昆虫、真菌類、植物、動物またはヒトの細胞のような、任意の原核細胞または真核細胞が可能である。好ましい真菌類細胞は、例えば、サッカロミセス属の細胞、特にサッカロミセス・セレビシエ (*S. cerevisiae*) 種の細胞である。「原核」という用語は、変異型CYP3A4タンパク質または変異型CYP3A7タンパク質またはその断片の発現のために、ポリヌクレオチドを用いて形質転換またはトランスフェクションできる全てのバクテリアを含むことを意味する。原核宿主はグラム陰性バクテリアおよびグラム陽性バクテリア、例えば大腸菌、チフス菌 (*S. typhimurium*)、セラチアマルセッセンス (*Serratia marcescens*) および枯草菌 (*Bacillus subtilis*) 等を含み得る。CYP3A4変異タンパク質およびCYP3A7変異タンパク質の突然変異形態をコードするポリヌクレオチドを、当業者に一般に知られた任意の技術を用いた宿主の形質転換またはトランスフェクションに使用できる。融合した、使用可能なように連結した遺伝子を調製する方法、およびそれらをバクテリア細胞または動物細胞において発現する方法は当技術分野にて既知である (サムブルック、上記)。そこで記述される遺伝子構築物および方法は、例えば原核細胞宿主における変異型CYP3A4タンパク質および変異型CYP3A7タンパク質の発現に利用できる。一般に、挿入されたポリヌクレオチドの十分な転写を容易にする、プロモーター配列を含む発現ベクターが、宿主に関連して使用される。発現ベクターは概して、複製起点、プロモーターおよびターミネーター、および形質転換した細胞の表現型による選抜を提供できる特定の遺伝子を含む。最適な細胞成長を達成するため、形質転換した原核宿主は発酵槽において増殖でき、当技術分野にて既知の技術に従って培養できる。本発明のタンパク質はその後、成長培地、細胞抽出物、または細胞膜分画から単離できる。微生物を用いてまたは別の方法で発現した本発明のポリペプチドの単

離および精製は、例えば、モノクローナル抗体またはポリクローナル抗体の使用に関わるもののような、分離用クロマトグラフィーおよび免疫学的分離等の、任意の従来法によって行うことが可能である。

#### 【0041】

ゆえに、さらなる態様において本発明は、上記に定義されるような、タンパク質を発現させるような条件下での宿主細胞の培養、および産生されたタンパク質または断片の培養からの回収を含む、変異型CYP3A4タンパク質および変異型CYP3A7タンパク質およびその断片を産生する方法に関連する。

#### 【0042】

もう一つの態様において、本発明は、本発明のポリペプチドまたはベクターを用いて遺伝子的に操作した細胞を含む、変異型CYP3A4遺伝子および/または変異型CYP3A7遺伝子を発現できる細胞を産生する方法に関連する。本発明の方法によって得られる細胞は、例えば、サムブルック、フリッヒ (Fritsch)、マニアティス (Maniatis) (1989) 「分子クローニング：実験マニュアル (Molecular cloning: a laboratory manual)」、コールドスプリングハーバー研究所出版、コールドスプリングハーバー；ペイロニュー (Peyronneau)、Eur J Biochem 218(1993)、355-61；ヤマザキ (Yamazaki)、Carcinogenesis 16(1995)、2167～2170に記載の方法に従い、薬物を試験するために使用できる。さらに、既知の薬物およびその未知の誘導体を、CYP3A4遺伝子またはCYP3A7遺伝子の突然変異によって生じる薬物効力の損失を相補する能力について研究するために、この細胞を使用できる。これらの態様については、宿主細胞は好ましくは野生型対立遺伝子を、好ましくはCYP3A4遺伝子および/またはCYP3A7遺伝子の両方の対立遺伝子を欠いており、および/または、少なくとも一つのその突然変異したものを有している。または、正常な対立遺伝子を超えた突然変異対立遺伝子の強度の過剰発現、および正常な対立遺伝子を同様のレベルで過剰発現する組換え細胞系列との比較は、スクリーニング系および解析系として使用できる。上記に説明する方法によって得られる細胞は、本明細書の以下に言及するスクリーニング法のために使用することもできる。

#### 【0043】

さらに、本発明は本発明によるポリヌクレオチドにコードされる、または上述の方法により得られる、または上述の方法によって産生される細胞からの、変異型CYP3A4タンパク質および変異型CYP3A7タンパク質ならびにその断片に関連する。この状況において、本発明による変異型CYP3A4タンパク質および変異型CYP3A7タンパク質はまた、当技術分野において既知の従来法によってさらに改変され得ることもまた理解される。本発明による変異型CYP3A4タンパク質および変異型CYP3A7タンパク質の提供により、それらの生物学的活性またはその阻害に関連する部分を決定することもまた可能である。

#### 【0044】

本発明はさらに、本発明による変異型CYP3A4タンパク質または変異型CYP3A7タンパク質を特異的に認識する抗体に関連する。好都合にも、この抗体は上記に定義される一つ又は複数のアミノ酸置換を含むエピトープを特異的に認識する。

#### 【0045】

本発明の変異型CYP3A4タンパク質または変異型CYP3A7タンパク質に対する抗体は、精製した本発明によるタンパク質またはそれに由来する（合成による）断片を抗原として用いた既知の方法により調製できる。例えば、コフラー（Kohler）およびミルシュタイン（Milstein）、Nature 256(1975), 495にて、またガルフ（Galfré）、Meth.Enzymol. 73(1981), 3にて最初に記述された、免疫化した哺乳動物に由来する脾臓細胞とマウス骨髄腫細胞との融合を含む技術により、モノクローナル抗体が調製できる。抗体はモノクローナル抗体、ポリクローナル抗体または合成抗体、またFab、Fv、またはscFv断片等のような抗体断片が可能である。さらに、前記のポリペプチドに対する抗体またはその断片は、例えば、ハーロウ（Harlow）およびレーン（Lane）の「抗体、実験マニュアル（Antibodies, A Laboratory Manual）」, CHS Press, Cold Spring Harbor, 1988に記載の方法を使用することにより得られる。これらの抗体は例えば、本発明の変異型CYP3A4タンパク質および変異型CYP3A7タンパク質の免疫沈降法および免疫学的局在決定に、または例えばトランスジェニック生物における、そのような変異型CYP3A4タンパク質および変異型CYP3A7タンパク質の存在のモニタリングに、および本発明によるタンパク質と相互作用する化合物の同定に使用できる。例えば、BIAコ

アシシステムにて利用されるような表面プラズモン共鳴は、本発明のタンパク質のエピトープに結合するファージ抗体の効率を増加するために用いることができる (Schier, Human Antibodies Hybridomas 7(1996), 97~105; Malmberg, J. Immunol. Methods 183(1995), 7~13)。

#### 【0046】

さらに、本発明は、上述の任意のポリヌクレオチドまたはその一部の相補鎖を表すまたは含むゆえに、上述のヌクレオチド置換、欠失および付加により特定される、対応する野生型CYP3A4遺伝子およびCYP3A7遺伝子のヌクレオチド配列と比較して、少なくとも一つのヌクレオチドの相違を含む核酸分子に関連する。デオキシリボ核酸またはリボ核酸のいずれかがそのような分子でありうる。そのような分子は例えば、アンチセンスRNAを含む。これらの分子はさらに、転写されたときに、本発明によるポリヌクレオチドの転写産物を特異的に切断するリボザイムを産生するような、リボザイムをコードする配列に連結することが可能である。

#### 【0047】

さらに、本発明は、本発明による核酸分子を含むベクターに関連する。そのようなベクターの例は上記に記載される。好ましくは、ベクター中に存在する核酸分子は、原核宿主細胞または真核宿主細胞において発現させる制御要素に機能的に連結される；上記を参照のこと。

#### 【0048】

本発明はまた、生殖細胞、胚細胞、幹細胞または卵、またはそこから由来する細胞への本発明のポリヌクレオチドまたはベクターの導入を含む、トランスジェニック非ヒト動物、好ましくはトランスジェニックマウスの産生方法に関連する。非ヒト動物は以下に記載の本発明の方法に従って使用でき、非トランスジェニック健常動物であること、または疾病、好ましくはCYP3A4遺伝子および/またはCYP3A7遺伝子における少なくとも一つの突然変異によって生じる疾病を有することが可能である。そのようなトランスジェニック動物は、それらのタンパク質または少なくともそれらの機能的ドメインは高等真核生物種間、特に哺乳動物間においては保存されているため、例えば上述の変異型CYP3A4タンパク質および変異

型CYP3A7タンパク質の変異形態に関連する、薬物の薬理学的研究に非常に適している。トランスジェニック胚の産生およびそれらのスクリーニングは、例えばA. L. ジョイナー (Joyner) 編、「遺伝子ターゲティング、実践アプローチ (Gene Targeting, A Practical Approach)」(1993), オックスフォード大学出版 (Oxford University Press) で記載の通りに実施できる。胚のDNAは例えば適切なプローブを用いたサザンブロット法を使用して解析できる。

#### 【0049】

本発明はまた、本発明のポリヌクレオチドまたはベクターを含む、または上述の方法により得られる、好ましくはポリヌクレオチドまたはベクターが安定して非ヒト動物のゲノムに組み込まれる、好ましくは該ポリヌクレオチドまたはベクターの存在が本発明の変異型CYP3A4遺伝子および/または変異型CYP3A7遺伝子の発現を導くような、トランスジェニックマウス、ラット、ハムスター、イヌ、サル、ウサギ、ブタ、線虫 (C. elegans) およびシビレイ等の魚類のようなトランスジェニック非ヒト動物にも関連する。この動物は、変異型CYP3A4遺伝子またはCYP3A7遺伝子の同じまたは異なるポリヌクレオチドの一つまたはそれ以上のコピーをもち得る。この動物は、薬物耐容性用の研究モデルとしての有益性を含む、多大な有益性をもち、ゆえに、細胞内の薬物代謝の欠損または不全によって生じる疾患の療法、治療等の開発において新規の、かつ価値のある動物を与える。したがって、この場合は、哺乳動物は好ましくはマウスまたはラットのような実験動物である。

#### 【0050】

好ましくは、本発明のトランスジェニック非ヒト動物はさらに、少なくとも一つのCYP3A4遺伝子および/またはCYP3A7遺伝子の不活性化野生型対立遺伝子を含む。この態様は、例えばCYP3A4タンパク質およびCYP3A7タンパク質の様々な変異形態の相互作用の研究を可能にする。トランスジェニック動物の成長および/または一生のある段階において、CYP3A4遺伝子および/またはCYP3A7遺伝子の発現または機能を不活性化することが望ましい可能性もある。例えば、CYP3A4遺伝子またはCYP3A7遺伝子のRNA転写産物に対する例えばアンチセンスまたはリボザイムの発現を促進させる、組織特異的な、発生上の、および/または細胞制御され

た、および/または誘導可能なプロモーターの使用により、これが達成されうる。同様に上記も参照のこと。適切な誘導可能な系は、例えば、ゴッセン (Gossen) およびビュヤード (Bujard) (Proc.Natl.Acad.Sci. 89 USA(1992), 5547~5551)、およびゴッセン (Gossen) ら、(Trends Biotech. 12(1994), 58~62) に記載のテトラサイクリン制御の遺伝子発現である。同様に、変異型CYP3A4遺伝子および変異型CYP3A7遺伝子の発現は、そのような制御要素により制御できる。

#### 【0051】

本発明の変異型CYP3A4および変異型CYP3A7のポリヌクレオチドおよびタンパク質およびベクターを用い、インビボまたはインビトロにおいて、患者のCYP3A4遺伝子またはCYP3A7遺伝子における特定の突然変異および影響を受けた表現型に関して、薬物の効能についての研究を行うことが現在可能である。さらに、本発明の変異型CYP3A4タンパク質および変異型CYP3A7タンパク質は、薬物の薬理的プロファイルの決定に、および、例えば癌の治療についてより有効性の高い可能性のあるさらなる薬物の同定および調製に、特に上述のもののような、各々の突然変異によって生じるある種の表現型の改善に使用できる。

#### 【0052】

ゆえに、本発明の特別な目的は、治療を受けるべき患者の、影響を受けた表現型と共分離するCYP3A4遺伝子およびCYP3A7遺伝子の変異形態の多型を考慮した、化学療法が効果的な疾患の治療のための、薬物/プロドラッグの選択および薬学的組成物の製剤に関わる。これにより、例えば、患者の一部におけるそれらの副作用および/または、疾患の同じまたは異なる表現型に関するそれらの不確実な薬理的プロファイルによって、例えば癌には適当ではないと従来考えられていた安全かつ安価な薬物の適用がなされる。本明細書に記載の方法および手段は、例えば推奨用量の改善に使用でき、また考慮される患者群に依存する必要投与量の調整を処方者に予想させる。

#### 【0053】

さらなる態様において、本発明は、以下の段階を含む、CYP3A4遺伝子またはCYP3A7遺伝子またはその遺伝子産物の分子変異の活性を調節できるCYP3A4阻害剤またはCYP3A7阻害剤を同定および獲得する方法に関連する：

(a) 変異型CYP3A4タンパク質もしくは変異型CYP3A7タンパク質または本発明のポリヌクレオチドを含む分子変異型遺伝子を発現する細胞を、薬物代謝に应答して検出可能なシグナルを提供できる成分の存在下において、CYP3A4媒介性またはCYP3A7媒介性の薬物代謝を可能にする条件下でスクリーニングされる化合物と接触させる段階；および

(b) シグナルの存在または増加が推定上の阻害剤について示唆するような、シグナルの有無、または代謝薬物により生み出されたシグナルの増加を検出する段階。

#### 【0054】

本発明の方法における「化合物」という用語は、単独の物質、または同一となり得るまたはなり得ない、複数の物質を含む。

#### 【0055】

化合物は、化学的に合成されうる、または微生物発酵を介して産生されうるが、また、例えば植物、動物または微生物由来の、例えば細胞抽出物のような試料にも含まれ得る。さらに、化合物は当技術分野において既知の可能性があるが、各々阻害剤として有用であることは従来知られていない可能性がある。複数の化合物を、例えば培養培地に加えることができ、または本発明の細胞もしくは非ヒト動物に注射することができる。

#### 【0056】

化合物を含む試料が本発明の方法において同定される場合、その後、化合物を含むと同定された元の当該試料から化合物を単離すること、または、例えば複数の異なる化合物を含む場合、試料当たりの異なる物質数を減少するために、元の試料をさらに小分別し、元の試料の小分別を用いた方法を繰り返すことのいずれかが可能である。その後、例えば本明細書または文献（例えば、(13)およびレーマン (Lehmann)、J Clin Invest 102(1998), 1016~23)に記載の方法により、この試料または化合物が望ましい特性を示すかどうかを決定することができる。試料の複雑性によって、上述の段階を数回、好ましくは本発明の方法に従って同定された試料が限られた数のまたは唯一の物質のみを含むまで、実施することができる。好ましくは上記試料は、同様の化学的および/または物理的特性の物

質を含み、最も好ましくは該物質は同一である。本発明の方法は、例えば先行技術に記載の他の細胞に基づいた試験法に従って、または本明細書に記載の方法を使用および改変することにより、当業者により容易に実施および設計できる。さらに、本発明の方法を実施するために、例えば必要に応じてある種の化合物をCYP3A4タンパク質またはCYP3A7タンパク質の基質となる前駆体に引き続き転換する酵素のように、さらなるどの化合物および/またはどの酵素が使用できるかということ、当業者は容易に認識すると考えられる。本発明の方法のそのような適用は十分当業者の技術内にあり、不適当な実験を用いずに実施できるものである。

#### 【0057】

本発明に従って使用できる適した試験法は、例えば、HepG2細胞におけるキメラCYP3A4遺伝子を用いたトランスフェクションアッセイを説明する、ハシモト (Hashimoto)、Eur J Biochem 218(1993), 585~95に記載されている。同様に、変異型CYP3A4遺伝子および/または変異型CYP3A7遺伝子は、HepG2細胞において発現または共発現することができ、それらの転写活性、およびCYP3A4またはCYP3A7の触媒特性について分析できる。そのような試験法はまた、ステロイド (テストステロン、プロゲステロン、アンドロステンジオン、コルチソール、17 $\beta$ -エストラジオール、17 $\beta$ -エチニルエストラジオール)、抗生物質 (エリスロマイシン)、免疫抑制剤 (シクロスポリンA)、ベンゾジアゼピン (ミダゾラム)、ベンゾジアゼピン誘導体 (ジルチアゼム、トリアゾラム)、およびニフェジピンのようなその基質に対する、CYP3A4およびCYP3A7の触媒特性の研究にも使用できる。特に、そのような試験は、各々の変異型CYP3A4遺伝子および/または変異型CYP3A7遺伝子をもつ個体において、与えられた薬剤が相互作用するかどうかの予測を加えるのに有用である。上記に記載の本発明の方法に従って使用できる、適した発現系は、(22)においてもまた記述されている。さらに、相当する野生型遺伝子産物と比較した、変異型CYP3A4遺伝子および変異型CYP3A7遺伝子の遺伝子産物の安定性、結合特性および触媒活性の研究のため、酵母菌のようなヘテロ接合体発現系が使用できる。前述のように、分子変異型CYP3A4遺伝子および分子変異型CYP3A7遺伝子およびそれらの遺伝子産物は、特に上記に記載の方法において使用

される場合、薬剤代謝の薬理学的研究および毒物学的研究に使用できる。本発明の方法に従って試験されるべき好ましい薬剤は、上記に記載の薬剤を含み、ニフェジピン、エリスロマイシン、トロレアンドマイシン、キニジン、シクロスポリンA、17 $\beta$ -エチニルエストラジオール、リドカイン、ジルチアゼム、デキサメタゾン、RU486を含むが限定はしない。上記も参照のこと。

#### 【0058】

本発明に従って使用されうる化合物はペプチド、タンパク質、核酸、抗体、小有機化合物、リガンド、ペプチド模倣物、PNAなどを含む。化合物は、上記記載物からの既知薬物の機能的誘導体または類似体であることも可能である。化学的誘導体および類似体の調製方法は当業者には既知であり、例えばベイルステイン (Beilstein)、「有機化学ハンドブック (Handbook of Organic Chemistry)」スプリングーエディションニューヨーク社 (Springer edition New York Inc.)、5番街175、New York, N.Y. 10010 U.S.A.、および「有機合成 (Organic Synthesis)」ウィリー (Wiley) New York, USAに記載されている。さらに、誘導体および類似体を、当技術分野において既知の、または記載の方法に従い、その効果について試験することができる。さらに、例えば、以下に記載の方法に従い、ペプチド模倣物および/または適切な薬物誘導体および類似体のコンピューター支援の設計が使用できる。そのような類似体は、基礎として既知のCYP3A4およびCYP3A7の基質ならびに/または阻害剤ならびに/または調節剤の構造を有する分子を含む；以下を参照のこと。

#### 【0059】

相補的な構造モチーフのコンピューター支援探索による、推定上の阻害剤と本発明のCYP3A4タンパク質またはCYP3A7タンパク質との相互作用部位の同定のために、適切なコンピュータープログラムを使用できる (Fassina, Immunomethods 5 (1994), 114~120)。タンパク質およびペプチドのコンピューター支援の設計のための、さらなる適切なコンピューターシステムは、例えばベリー (Berry)、Biochem.Soc.Trans. 22(1994), 1033~1036；ウォダック (Wodak)、Ann.N.Y. Acad.Sci. 501(1987), 1~13)；パド (Pado)、Biochemistry 25(1986), 5987~5991のような、先行技術に記載されている。上述のコンピューター解析から得

られる結果は、例えば既知の阻害剤の最適化のために、本発明の方法と組み合わせ使用できる。適切なペプチド模倣物および他の阻害剤もまた、例えば本明細書に記載の方法に従う、連続した化学的改変およびその結果生じた化合物の試験によって、ペプチド模倣物コンビナトリアルライブラリを合成することにより同定できる。ペプチド模倣物コンビナトリアルライブラリの作製および使用の方法は、例えばオストレシュ (Ostresh)、Methods in Enzymology 267(1996), 220~234、およびドナー (Dorner)、Bioorg.Med.Chem.4(1996), 709~715のような先行技術に記載されている。さらに、本発明の阻害剤およびCYP3A4タンパク質またはCYP3A7タンパク質の三次元および/または結晶構造は、ペプチド模倣物薬物の設計に使用できる (Rose, Biochemistry 35(1996), 12933~12944 ; Rutenberg, Bioorg.Med.Chem. 4(1996), 1545~1558)。

#### 【0060】

要約すると、本発明は、例えば、しばしば改変活性または薬物代謝レベルまたは感受性のある表現型を生じる、CYP3A4遺伝子またはCYP3A7遺伝子の多機能により化学療法が複雑化する癌のような、疾患の特殊な形態の治療のために、特定の投与量において使用できる化合物を同定および獲得する方法を提供する。

#### 【0061】

本発明の方法の好ましい態様において、上記の細胞は本発明の細胞、または本発明の方法によって得られる細胞、または上述のトランスジェニック非ヒト動物に含まれる細胞である。

#### 【0062】

さらなる態様において本発明は、以下の段階を含む、CYP3A4遺伝子またはCYP3A7遺伝子またはその遺伝子産物の分子変異の活性を調節できるCYP3A4阻害剤またはCYP3A7阻害剤の同定および獲得の方法に関する：

- (a) 本発明の変異型CYP3A4タンパク質または変異型CYP3A7タンパク質を、CYP3A4タンパク質またはCYP3A7タンパク質により結合されることが知られる第一の分子に接触させ、タンパク質および第一の分子の第一の複合体を形成する段階；
- (b) 第一の複合体をスクリーニングされる化合物と接触させる段階；および
- (c) 化合物が第一の分子を第一の化合物から置換するかどうかを測定する段階

。

## 【0063】

好都合なことに、この方法における測定段階は、タンパク質および阻害剤候補との第二の複合体の形成の測定を含む。好ましくは、この測定段階は該タンパク質に結合しない第一の分子の量の測定を含む。

## 【0064】

上述の方法の特に好ましい態様において、第一の分子は、ニフェジピン、リファンピシンまたはコルチコステロンである。さらに、本発明の方法において第一の分子は、例えば放射線標識または蛍光標識を用いて標識されることが好ましい

。

## 【0065】

よりさらなる態様において本発明は、以下の段階を含む、分子変異型CYP3A4遺伝子もしくは分子変異型CYP3A7遺伝子の存在に関連する疾病、またはそのような疾病への感受性の診断方法に関連する：

(a) 被験者からの試料における本発明のポリヌクレオチドの存在を決定する段階；および/または

(b) 例えば本発明の抗体を用いて、CYP3A4タンパク質またはCYP3A7タンパク質の変異形態の存在を決定する段階。

## 【0066】

本発明のこの態様に従い、疾病またはそのような疾病への感受性の状態を試験する方法は、例えばサザンブロット法またはノーザンブロット法またはインサイチュ解析の形態において、本発明のポリヌクレオチドまたは核酸分子の使用により達成され得る。核酸配列はいずれかの遺伝子のコード領域または非コード領域、例えばイントロンにハイブリダイズできる。本発明の方法において相補的配列が使用される場合、核酸分子はノーザンブロット法において再度使用できる。さらにこの試験は、例えば遺伝子の転写の実際の遮断と共に行うことができ、ゆえに治療上の関連性をもつことが期待される。さらに、プライマーまたはオリゴヌクレオチドも上述のCYP3A4遺伝子またはCYP3A7遺伝子または対応するmRNAの一つへのハイブリダイゼーションに使用できる。ハイブリダイゼーションに使用さ

れる核酸は、当然、例えば放射性マーカーまたは他のマーカーを取りこむまたは付着することにより好都合に標識され得る。そのようなマーカーは当技術分野において既知である。核酸分子の標識は従来法により達成できる。

#### 【0067】

さらに、変異型CYP3A4遺伝子および変異型CYP3A7遺伝子の存在または発現は、対応する核酸配列のいずれかに特異的にハイブリダイズするプライマー対の使用により、および標準的な手順に従ったPCR反応の実行により試験できる。上述のプローブまたはプライマーの特異的なハイブリダイゼーションは、好ましくはストリンジントなハイブリダイゼーション条件にて生じる。「ストリンジントなハイブリダイゼーション条件」という用語は当技術分野にてよく知られている；例えばサムブルックら、「分子クローニング、実験マニュアル (Molecular Cloning, A Laboratory Manual)」第2版、CHS出版コールドスプリングハーバー、1989；「核酸ハイブリダイゼーション、実践アプローチ (Nucleic Acid Hybridisation, A Practical Approach)」ハムス (Hames) およびヒギンズ (Higgins) 編、IRL出版、Oxford、1985を参照のこと。さらに、被験者から得られたmRNA、cRNA、cDNAまたはゲノムDNAは、CYP3A4遺伝子およびCYP3A7遺伝子の突然変異特有のフィンガープリントとなり得る突然変異を同定するために配列決定できる。本発明はさらに、被験者から得られたDNAまたはRNAのRFLPによってそのようなフィンガープリントを検出できる可能性があり、当技術分野において既知の方法を用いる分析に先立って、DNAまたはRNAを任意に増幅できるような方法を含む。RNAフィンガープリントは、例えば、適切なRNA酵素、例えばリボヌクレアーゼ $T_1$ 、またはリボヌクレアーゼ $T_2$ などまたはリボザイムを用いて被験者から得られたRNA試料を切断すること、および、例えば上述のように、RNA断片の電気泳動による分離および検出を行うことにより実行できる。

#### 【0068】

本発明の上述の態様のさらなる改変は、この開示から、いかなる不適當な実験もなく、当業者により容易に工夫することができる；例えば実施例を参照のこと。本発明の付加的な態様は、本発明の抗体またはその断片の使用により、決定が達成されるような方法に関連する。本発明の方法にて使用される抗体は、ヒスチ

ジンフラッグまたはビオチン分子のような、検出可能なタグを用いて標識することができる。

【0069】

本発明の好ましい態様において、上記に説明した方法はPCR法、リガーゼ連鎖反応法、制限酵素切断法、直接配列決定法、核酸増幅技術、ハイブリダイゼーション技術または免疫測定法（Sambrookら、上記引用文中「CSHクローニング（CSH cloning）」、HarlowおよびLane 上記引用文中「CSH抗体（CSH antibodies）」）を含む。

【0070】

本発明の方法の好ましい態様において、上記疾病は癌である。

【0071】

上述の方法のさらなる態様において、本発明の方法の全ての適用に一致して、CYP3A4遺伝子またはCYP3A7遺伝子における変異をなくすため、または軽減するための被験者への薬物の投与を含むさらなる段階は、CYP3A4遺伝子またはCYP3A7遺伝子により生じる表現型反応による臨床徴候の発症以前に、所定の疾患の治療を許容する。

【0072】

本発明の方法の好ましい態様において、本薬物はCYP3A4の基質のような化学療法薬：パクリタキセル（Eur J Drug Metab Pharmacokinet 23(1998), 417~24）、タモキシフェンおよびトレミフェン（Drug Metab Dispos 27(1999), 681~8; Clin Pharmacol Ther 64(1998), 648~54; Clin Pharmacol Ther 57(1995), 628~35）、トロホスファミド（trofosfamide）（Cancer Chemother Pharmacol 44(1999), 327~334）、シクロホスファミドおよびイフォスファミド（Drug Metab Dispos 27(1999), 655~66; Cancer Res 58(1998), 4391~401; Br J Clin Pharmacol 40(1995), 523~30）、タキソテール（Pharmacogenetics 8(1998), 391~401; Clarke, Clin Pharmacokinet 36(1999), 99~114）である。

【0073】

上述の方法のもう一つの好ましい態様において、本方法はさらに以下を細胞内へ導入する段階を含む

- (i) 機能的および発現可能な野生型CYP3A4遺伝子あるいは野生型CYP3A7遺伝子、または
- (ii) 本発明の核酸分子またはベクター。

【0074】

本状況において、および本明細書を通して使用されるように、「機能的」CYP3A4遺伝子および「機能的」CYP3A7遺伝子とは、コードされるタンパク質が野生型CYP3A4タンパク質および野生型CYP3A7タンパク質の一次構造コンフォメーションの一部または全部を有する、即ち、薬物を代謝し、かつCYP3A4遺伝子、CYP3A7遺伝子をそれぞれ制御する生物学的特性を所有する遺伝子を意味する。本発明のこの態様は、特にヒトにおける癌の治療に適している。変異型CYP3A4遺伝子および/または変異型CYP3A7遺伝子の発現の検出は、発現が疾患の対応する表現型の発生または維持と相関するという結論を成立させると考えられる。したがって、発現レベルを低レベルにまで下げるため、またはそれをなくすため、ある段階が適用される。これは、例えば、リボザイム、アンチセンス核酸分子、細胞内抗体または上述のこれらのCYP3A4タンパク質および/またはCYP3A7タンパク質の変異形態に対する阻害剤の使用によるような、生物学的方法による、突然変異遺伝子の発現の少なくとも部分的な除去により行うことができる。さらに、対応する突然変異タンパク質および遺伝子の発現レベルを下げる製剤が開発できる。

【0075】

さらなる態様において本発明は、上述の方法の任意の一つの段階を含み、段階(b)において同定される化合物またはその誘導體またはその類似体を、薬学的に許容される形態に合成および/または製剤化するような、薬学的組成物を産生する方法に関連する。本発明の方法に従って同定される治療に有用な化合物は、上記にて議論されるように製剤、および患者への投与をすることができる。当業者により適切であると決定される使用および治療用量については以下を参照のこと。

【0076】

さらに、本発明は上述の方法の段階を含む、薬学的組成物の調製方法、および薬物またはプロドラッグの治療的適用に適した形態での製剤方法、および本発明

の方法において診断された被験者における疾病の予防または改善の方法に関連する。

【0077】

薬物またはプロドラッグはそれらのインビボにおける投与後、排出または代謝のいずれかにより排除されるために、一つまたは複数の活性または不活性代謝産物へ代謝される (Meyer, J. Pharmacokinet. Biopharm. 24(1996), 449~459)。ゆえに、本発明の方法に従って同定および獲得された実際の化合物または阻害剤を使用する以外に、患者において活性型に転換される、プロドラッグとしての対応する製剤を用いることができる。プロドラッグおよび薬物の投与についてとられる可能性のある予防手段は、文献に記載されている；概説については、オザマ (Ozama)、J. Toxicol. Sci. 21(1996), 323~329)を参照のこと。

【0078】

本発明の方法の好ましい態様において、薬物またはプロドラッグは、本明細書前述にて定義されるような薬物の誘導体である。

【0079】

なおさらなる態様において、本発明は、本明細書前述に記載の方法により同定または獲得される阻害剤に関連する。好ましくは、阻害剤は本発明の変異型CYP3A4タンパク質または変異型CYP3A7タンパク質に特異的に結合する。本発明の抗体、核酸分子および阻害剤は好ましくは、天然のリガンドまたは本発明のCYP3A4タンパク質またはCYP3A7タンパク質の結合パートナーの結合特異性と少なくとも実質的に同一の特異性を有する。抗体または阻害剤は、本発明のCYP3A4タンパク質またはCYP3A7タンパク質に対し、少なくとも $10^5 \text{ M}^{-1}$ の、好ましくは $10^7 \text{ M}^{-1}$ より高い、および有利には、CYP3A4活性またはCYP3A7活性が抑制されるべき場合に $10^{10} \text{ M}^{-1}$ までの結合親和性をもち得る。したがって、好ましい態様においては、本発明の抑制抗体または阻害剤は、少なくとも約 $10^{-7} \text{ M}$ の、好ましくは少なくとも約 $10^{-9} \text{ M}$ の、および最も好ましくは少なくとも約 $10^{-11} \text{ M}$ の親和性をもつ。

【0080】

さらに、本発明は、本発明のポリヌクレオチドの検出のための、および/または対応する個々のCYP3A4対立遺伝子またはCYP3A7対立遺伝子の遺伝形質決定のた

めの、オリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドの使用に関連する。好ましくは、このオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドは、先に記載の本発明のポリヌクレオチドまたは核酸分子である。

【0081】

特定の好ましい態様において、オリゴヌクレオチドは、約15ヌクレオチド長～50ヌクレオチド長、好ましくは20ヌクレオチド長～40ヌクレオチド長、より好ましくは20ヌクレオチド長～30ヌクレオチド長であり、配列番号：1～127、140、141もしくは142の、またはこれらの任意の一つの相補的配列の、任意の一つのヌクレオチド配列を含む。

【0082】

したがって、なおさらなる態様において、本発明は上記に定義されるようなオリゴヌクレオチドからなるプライマーまたはプローブに関連する。この状況において、「～からなる」という用語は、上述のヌクレオチド配列、および本発明のプライマーまたはプローブのために使用されるヌクレオチド配列が、その5'末端および/または3'末端にすぐ隣接したCYP3A4遺伝子もしくはCYP3A7遺伝子のさらなるヌクレオチド配列を全くもたないことを意味する。しかし、標識のような他の成分、例えばビオチン分子、ヒスチジンフラッグ、抗体断片、金コロイド等、CYP3A4遺伝子またはCYP3A7遺伝子に対応しないヌクレオチド配列は、本発明のプライマーおよびプローブ中に存在できる。さらに、上述の特定のヌクレオチド配列を使用すること、およびそれらを、これらの付加的なヌクレオチド配列が核酸以外の成分と共に散在させられるような、または核酸がCYP3A4遺伝子またはCYP3A7遺伝子のヌクレオチド配列に対応しないような、CYP3A4遺伝子またはCYP3A7遺伝子に由来する他のヌクレオチド配列と組合せることも、また可能である。その上さらに、例えば、当技術分野で周知のチオリン酸バックボーン(thio-phosphate-backbone)および/または塩基類似体によってオリゴヌクレオチドの改変が可能であることは当業者には明らかである(Flanagan, Proc.Natl.Acad.Sci.USA 96(1999), 3513～8; Witters, Breast Cancer Res.Treat. 53(1999), 41～50; Hawley, Antisense Nucleic Acid Drug Dev. 9(1999), 61～9; Peng Ho, Brain Res.Mol.Brain Res. 62(1998), 1～11; Spiller, Antisense Nucleic Acid Drug D

ev. 8(1998), 281 ~ 93; Zhang, J.Pharmacol.Exp.Ther. 278(1996), 971 ~ 9; Shoji, Antimicrob.Agents Chemother. 40(1996), 1670 ~ 5; Crooke, J.Pharmacol. Exp.Ther. 277(1996), 923 ~ 37)。

#### 【0083】

さらに、本発明は、本発明の変異型CYP3A4タンパク質または変異型CYP3A7タンパク質の検出、本発明のポリヌクレオチドを含む分子変異型CYP3A4遺伝子または分子変異型CYP3A7遺伝子の発現、および/または本発明のポリヌクレオチドを含むCYP3A4対立遺伝子およびCYP3A7対立遺伝子の識別のため、CYP3A4遺伝子またはCYP3A7遺伝子の遺伝子産物に特異的に結合できる抗体または物質の使用に関連する。

#### 【0084】

さらに、本発明は、組成物、好ましくは本発明の抗体、核酸分子、ベクターまたは阻害剤、および薬学的に許容される担体を任意に含む薬学的組成物に関連する。例えば、阻害剤または薬学的に許容されるそれらの塩類を含む、これらの薬学的組成物は、薬物投与に従来使用される任意の経路、例えば経口、局所的、腸管外、または吸入により、好都合に投与できる。許容できる塩類はアセテート、メチルエステル、HCl、スルフェート、および塩化物などを含む。化合物は、従来の手順に従い、薬物を標準の薬学的担体と組合せることにより調製される従来の剤形にて投与できる。これらの手順は、望ましい調製物に適切な、成分の混合、顆粒化および圧縮または溶解に関わり得る。薬学的に許容される担体または希釈剤の形態および特性は、組合せられる活性成分の量、投与経路、および他の既知の変数により決定されることは理解されるところと考えられる。担体は製剤の他の成分と適合性があるという意味で、「許容される」ものでなければならず、そのレシピエントに対し有害であってはならない。使用される薬学的担体は、例えば、固体または液体のいずれかが可能である。固体担体の例は、ラクトース、カオリン (terra alba)、ショ糖、タルク、ゼラチン、寒天、ペクチン、アカシア、ステアリン酸マグネシウム、およびステアリン酸などが可能である。液体担体の例は、生理的リン酸緩衝液、シロップ、ピーナッツオイルおよびオリーブオイルのようなオイル、水、乳剤、様々な種類の湿潤剤、および滅菌溶液などである。

同様に、担体または希釈剤は、モノステアリン酸グリセリンまたはジステアリン酸グリセリンのような、当技術分野において既知の遅効性物質を、単独で、またはワックスと共に含み得る。

【0085】

用法は、主治医および他の臨床因子により決定され、好ましくは上述のいずれか一つの方法に従う。医学分野においてよく知られるように、ある患者のための用量は、患者の大きさ、体表面積、年齢、投与される特定の化合物、性別、投与の時間および経路、一般健康状態、ならびに同時に投与される他の薬物を含む、多くの因子に依存する。進行を定常的な評価によりモニタリングできる。

【0086】

さらに、本発明によるCYP3A4遺伝子またはCYP3A7遺伝子の突然変異型をコードするRNAに特異的にハイブリダイズするアンチセンスオリゴヌクレオチドを含む、または突然変異型CYP3A4タンパク質または突然変異型CYP3A7タンパク質を特異的に認識するが、機能的な野生型は認識しないもしくは実質的に認識しない抗体を含む薬学的組成物の使用は、細胞における突然変異型の濃度を減少させるべきである場合に考えられる。

【0087】

本発明により、本発明に従い、特定の薬物の選択、投与計画および対応する治療されるべき患者を決定することができる。誤った薬物が誤った患者に対して誤った投与量で処方されることを回避するような情報と共に、考慮される患者群に依存する投与量の調整を処方者に予想させるように、推奨用量は製品のラベルにて示される。

【0088】

さらに本発明は、先に記載の本発明のポリヌクレオチド、ベクター、宿主細胞、変異型CYP3A4タンパク質および変異型CYP3A7タンパク質、抗体、阻害剤、核酸分子または対応するベクターのうちいずれか一つ、および適した検出方法を随意に含む、診断用組成物または診断キットに関連する。

【0089】

本発明のキットは、選択マーカーならびに、トランスジェニック細胞およびト

ランスジェニック動物の作製に適した選択培地の構成成分のような材料を更に含み得る。本発明のキットを本発明の方法の実施のために好都合に使用でき、特に、例えば診断分野のような様々な適用において、または研究手段として、使用できる。本発明のキットの一部はバイアルに個包装でき、または容器もしくは複数容器ユニット中にて組合せることができる。キットの製造は好ましくは、当業者に既知の標準の手順に従う。キットまたは診断用組成物は、例えば放射性免疫測定法もしくは酵素免疫測定法のような免疫測定法、または好ましくは、本明細書上記および実施例に記載の核酸ハイブリダイゼーションおよび/または核酸増幅技術を使用する、上述の本発明の方法のいずれか一つに従い、CYP3A4遺伝子またはCYP3A7遺伝子の突然変異形態の発現の検出法に使用できる。

#### 【0090】

いくつかの遺伝子変化は、変化したタンパク質のコンフォメーション状態を変化させる。例えば、ある変異型CYP3A4タンパク質または変異型CYP3A7タンパク質は、薬物代謝および転写開始の促進能力を大きく低下させる三次構造をそれぞれ有していてもよい。突然変異タンパク質の正常な、または制御されたコンフォメーションを回復することは、困難ではあるが、これらの分子欠損を修正するのに非常に的確かつ特異的な方法である。ゆえに薬理学的操作においては、タンパク質の野生型のコンフォメーションの回復を目指すことができる。そのため、本発明のポリヌクレオチドおよびコードされたタンパク質は、CYP3A4またはCYP3A7の遺伝子またはタンパク質の野生型の機能を活性化できる分子を設計および/または同定するために使用することもできる。

#### 【0091】

その他の態様において、本発明は本明細書で前述した方法により診断される疾病の治療または予防のための、薬学的組成物の調製のための薬物またはプロドラッグの使用に関連する。

#### 【0092】

さらに、本発明は、本発明の方法により診断される疾病を治療、予防および/または遅延する薬学的組成物を調製するための、機能的および発現可能な野生型CYP3A4タンパク質または野生型CYP3A7タンパク質をコードする核酸配列の有効用

量の使用に関連する。機能的および発現可能なCYP3A4タンパク質またはCYP3A7タンパク質をコードする遺伝子は細胞に導入され、関心対象のタンパク質が産生される。エクスピボ法またはインスピボ法における治療遺伝子の細胞への導入に基づく遺伝子治療は、遺伝子転移の最も重要な適用の一つである。インビトロまたはインスピボの遺伝子治療に適したベクターおよび方法は、文献に記載されており、当業者には既知である；例えば、ジオルダーノ (Giordano), *Nature Medicine* 2(1996), 534 ~ 539；シェイパー (Schaper), *Circ.Res.*79(1996), 911 ~ 919；アンダーソン (Anderson), *Science* 256(1992), 808 ~ 813；イスナー (Isner), *Lancet* 348(1996), 370 ~ 374；ムルホーサー (Muhlhauser), *Circ.Res.*77(1995), 1077 ~ 1086；ワン (Wang), *Nature Medicine* 2(1996), 714 ~ 716；国際公開公報第94/29469号；国際公開公報第97/00957号またはシェイパー (Schaper), *Current Opinion in Biotechnology* 7(1996), 635 ~ 640、およびそこに引用される文献を参照のこと。遺伝子は細胞への直接導入、またはリポソームもしくはウイルスベクター（例えばアデノウイルス、レトロウイルス）を介した細胞への導入のために設計できる。好ましくは、この細胞は生殖系列細胞、胚細胞、もしくは卵細胞またはそれらに由来するものであり、最も好ましくは、この細胞は幹細胞である。

#### 【0093】

上記から明らかなように、本発明の使用において、特定の細胞に対しCYP3A4タンパク質またはCYP3A7タンパク質を発現および/またはターゲティングさせる制御要素に核酸配列が機能的に連結されることが好ましい。本発明に従って使用できる、適した遺伝子導入系は、リポソーム、受容体介在の導入系、裸のDNA、ならびにヘルペスウイルス、レトロウイルス、アデノウイルス、およびアデノ関連ウイルス、その他のウイルスベクターを含み得る。遺伝子治療のための、身体の特定位点への核酸の導入は、ウィリアムス (Williams) (*Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 88(1991), 2726 ~ 2729) に記載のバイオリスティック導入系を使用して達成することもできる。組換えDNAにより細胞をトランスフェクションする標準法は、分子生物学の当業者には既知である。例えば、国際公開公報第94/29469号；上記も参照のこと。遺伝子治療は、本発明の組換えDNA分子もしくはベクターの患

者への直接投与により、または本発明のポリヌクレオチドもしくはベクターによりエクスピボで細胞をトランスフェクションすることにより、およびトランスフェクションされた細胞を患者に注入することにより実施できる。

【0094】

本発明の使用および方法の好ましい態様において、上記疾病は癌である。

【0095】

これらのおよび他の態様は、本発明の説明および実施例により開示され、または明らかであり、含まれる。本発明に従って使用される方法、用途および化合物のいずれか一つに関わるさらなる文献は、例えば電子デバイスを用いて公共のライブラリから検索できる。例えば、<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed/medline.html>のような、インターネット上で利用可能な公共データベース「メドライン (Medline)」が使用できる。さらなるデータベースおよびアドレス、例えば<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>、<http://www.infobiogen.fr/>、[http://www.fmi.ch/biology/research\\_tools.html](http://www.fmi.ch/biology/research_tools.html)、<http://www.tigr.org/>が当業者に知られており、また例えば<http://www.lycos.com>を使用して得ることもできる。バイオテクノロジーにおける特許情報の概説ならびに、遡及的探索および最新の知見の認識に有用な特許の関連情報源の通覧は、バークス (Berks), TIBTECH 12(1994), 352~364により与えられている。

【0096】

本発明の薬学的組成物および診断用組成物、使用、方法は、これまで変異型CYP3A4遺伝子および変異型CYP3A7遺伝子に関連するまたは依存することが知られていない、あらゆる種類の疾患の診断および治療に使用できる。本発明の組成物、方法および使用は、ヒトにおいて望ましく使用することができるが一方、本明細書に記載の方法および使用には動物の治療もまた含まれる。

【0097】

単なる説明のために役立ちかつ本発明の特許請求の範囲を制限すると解釈されない、以下の実施例に関して、本発明を説明する。

【0098】

実施例

### 実施例1：CYP3A4およびCYP3A7のコード領域の増幅のためのゲノム構成およびオリゴヌクレオチド

CYP3A4のゲノム構造は以前の研究 (Hashimoto, Eur.J.Biochem. 218(1993), 585~95) で記述された; しかし、公表されたエキソン近傍の配列はエキソン増幅のためのオリゴヌクレオチドを設計するには短すぎた。本発明に従い、CYP3A4エキソン5、7、9、12および13周辺の配列は、PCR (ポリメラーゼ連鎖反応) 増幅した、2つの近傍エキソンおよび挿入されたイントロン部分を含む断片の配列決定法により、解明された。CYP3A4エキソン6、8、10および11周辺の配列は、PCR増幅した、2つの近傍エキソンおよび挿入されたイントロン部分を含む断片の配列決定法により、また3A4を含有する細菌人工染色体 (BAC) (ゲンバンク (GenBank) アクセッション番号AF280107) の配列決定法により、解明された。CYP3A4エキソン1、3および4の周辺の配列は、CYP3A4を含有する細菌人工染色体 (BAC) (ゲンバンクアクセッション番号AF280107) に由来した。これらの断片の増幅に、およびBACの配列決定法に使用されたオリゴヌクレオチドは、遺伝子のエキソン/イントロン構成 (Hashimoto, Eur.J.Biochem 218(1993), 585~95) を考慮して、CYP3A4 cDNA配列 (ゲンバンクアクセッション番号M14096) に由来した。ゆえに得られた配列は、エキソン1および3~13の増幅のためのオリゴヌクレオチドを設計するために使用された。エキソン2の増幅のためのオリゴヌクレオチドは、近年決定されたCYP3A4を含有する細菌人工染色体 (BAC) (ゲンバンクアクセッション番号AF280107) の配列を用いて設計された。

#### 【0099】

ゆえに得られた配列は、遺伝子エキソンの増幅のためのオリゴヌクレオチドの設計に使用された。それらの組成および結果的に生じるDNA断片の大きさは表2にて与えられる。エキソン配列に加え、増幅された断片は、スプライス部位を含む、幾つかの近傍イントロン配列、および遺伝子の幾つかの5'-および3'-UTR (非翻訳領域) 配列をも含有する。

#### 【0100】

実施例2：ゲノムDNAの単離、CYP3A4遺伝子断片およびCYP3A7遺伝子断片の増幅、精製および配列決定

キアゲン (Qiagen) 血液および組織DNA単離キットを用い、白人の血液または肝臓試料からゲノムDNAを単離した。ドイツ、ベルリンのフンボルト大学、シャリテ (Charite) 大学医学センター臨床薬理学研究所、ドイツ、シュトゥットガルトのマルガリート・フィッシャー ボッシュ博士臨床薬理学研究所 (Dr. Margarete Fischer-Bosch-Institute of Clinical Pharmacology)、スイス、バーゼル大学、バイオセントラム (Biozentrum) 薬理学部、およびドイツ、ベルリンのパレクセルインターナショナル (Parexel International) によって、試料を、あらゆる倫理的および法的要件を考慮して収集した。CYP3A4遺伝子断片およびCYP3A7遺伝子断片のPCR法による増幅条件は、表2に各々示される。単位複製配列 (amplicon) の完全な配列は、図6にて示される。単位複製配列の質は定常的に、アガロースゲル電気泳動により検査を行った。断片はその後、引き続き行う配列決定反応を阻害する可能性のある、PCRの全ての成分を除去する、PCR精製カラム (キアゲン) を通して精製された。

#### 【0101】

配列決定反応はダイターミネーター法を用いて実施し、試料をその後ポリアクリルアミドゲル (パーキンエルマー377および3700配列決定機) 上にて分離した。結果およびヘテロ接合体の検出の高い正確性を確認するため、両鎖を常法により配列決定した。配列をその質について視覚的に検査し、その後PHRED/PHRAP/POLYPHRED/CONSEDソフトウェアパッケージ (ワシントン大学、シアトル、USA) を用いて、多型の存在について分析した。

#### 【0102】

##### 実施例3：CYP3A4遺伝子およびCYP3A7遺伝子における多型

本発明に従い、白人のDNA試料の一部をCYP3A4遺伝子のエキソン1~13における突然変異、およびCYP3A7遺伝子のエキソン11における突然変異についてスクリーニングした。CYP3A4についての結果は、一つのPCR断片につき、296~426個の染色体が得られた (表3)。最初に発表されている3つのCYP3A4 cDNA (Beaune, Proc.Natl.Acad.Sci.USA 83(1986), 8064~8; Gonzalez, Dna 7(1988), 79~86; Bork, J.Biol.Chem. 264(1989), 910~9) と、生じた配列の比較により、ゲンバンクアクセッション番号M18907をもつcDNA (Gonzalez, Dna 7(1988), 79~86) の

みが、多くの白人によって発現されるようなCYP3A4タンパク質をコードすることが示唆される。発見された変異の概要は表3に示してある。CYP3A4遺伝子においては、本発明者らは総計18個の変異位置を同定し、それら全ては単一ヌクレオチド多型 (SNP) であった。10個の変異はCYP3A4のタンパク質コード領域内に位置し、一つはエキソン13の非翻訳領域 (3'UTR) 内に、および7つはエキソン近傍イントロン配列内にある。遺伝子のエキソンのスプライス部位内には変異は認められなかった。18個のうち15個の変異は1%より低い、および一つのミスセンス突然変異 (M1) を含む3個は1%より高い対立遺伝子頻度であった。最も高い対立遺伝子頻度 (9.5%) は、イントロン10に位置するM14変異を表している (表3)。

#### 【0103】

遺伝子のタンパク質コード領域における10個の変異のうち、2つはサイレントである一方、8つはCYP3A4タンパク質のアミノ酸置換を生じる。8つのミスセンス変異のうち、7つは新規のものである一方、M8変異 (M445T) は、近年中国人被験者で述べられたCYP3A4\*3対立遺伝子 (Sata, Clin.Pharmacol.Ther. 67(2000), 48~56) に一致する。最も頻度の高いミスセンス突然変異 (G56D) は、試験された被験者の2.82%において認められた (表3)。総括すると、スクリーニングにおいて試験された白人の7.5%は、変異型CYP3A4タンパク質についてヘテロ接合体であった。

#### 【0104】

CYP3A7については、スクリーニングされた染色体232個のうち17個で、エキソン11におけるC1229G SNPが認められた。SNPは、CYP3A7タンパク質の位置409における非保存的アミノ酸置換 (Thr Arg) を生じる。

#### 【0105】

##### 実施例4：CYP3A7エキソン11 C1229G多型についての酵素試験

CYP3A7のエキソン11において検出されるC1229G多型は、AlwNI 制限酵素部位を消失する (図5A)。本発明に従い、C1229G対立遺伝子の遺伝子型決定のため、AlwNIに基づく試験法が開発された。実施例が図5Bにて示される。野生型試料 (wt/wt) からプライマー3A742Fおよび3A738R (表2) を用いて増幅した404 bpゲノム断片の切断により、各々316 bpおよび88 bpの2つの断片を生じる。ヘテロ接合体

試料 (wt/C1229G) において、DNAの約半分は、突然変異対立遺伝子における制限酵素部位の消失により、切断されないままである。

#### 【0106】

集団遺伝学は、定義された遺伝子のホモ接合体対立遺伝子対ヘテロ接合体対立遺伝子の、予測される頻度の計測を可能にする（ハーディ・ワインベルグの式、 $p^2 + 2pq + q^2 = 1$ ）ため、実験から得られる知見を用いて、ホモ接合体対立遺伝子対ヘテロ接合体対立遺伝子の、（その式を用いて）予測される分布、および偏差を確認することもまた可能である。これは、内部対照および、検出される配列偏差が実際に新規の対立遺伝子を表すということの確認としての役割を担い得る。

#### 【0107】

実施例5：CYP3A4突然変異発現、精製およびウェスタンブロット法

突然変異は大腸菌TOPP3細胞において発現させた。各株の培養は、アンピシリン（50  $\mu$ g/ml）およびテトラサイクリン（15  $\mu$ g/ml）を含む2mlのLB培地における単一コロニーから開始し、37℃にて一晩振とう培養した。より大きい、各試料の20ml培養は、2ml培養に記述の通りに播種し、培養した。開始培養（15ml）を、アンピシリン（50  $\mu$ g/ml）を含む250mlのTB培地に植付け、37℃、250rpmにて2～3時間培養した。L-アミノレブリン酸（80mg/L）およびIPTG（1mM）を付加し、培養は30℃、190rpmにて72時間培養した。細胞を収集し、超音波処理し、CHAPSに可溶化し、クロンテック（Clontech）社（Palo Alto, CA）のタロン（Talon）金属アフィニティー樹脂上でタンパク質を精製した。最終のP450含有量を還元CO差違スペクトル（Omura, J.Biol.Chem. 239(1964), 2370～2378）によって測定し、各タンパク質をクーマシーブルーによって染色した8.5%のSDS PAGEゲル上で可視化した。3A4野生型およびM5の1pmol、およびM2およびM7の総タンパク質試料の8  $\mu$ lを、8.5%のSDS PAGEゲル上で分離することにより、CYP3A4野生型、M2、M5およびM7のウェスタンブロット法による分析を行った。その後試料をニトロセルロースに移行させ、CYP3A4と交差反応することが知られる抗3A12ポリクローナル抗体（Ciaccio, Arch Biochem Biophys 271(1989), 284～99）で探索した。

## 【0108】

## 実施例6：CYP3A4タンパク質変異の機能的特徴付け

細菌CYP3A4発現系を用い、タンパク質変異のCYP3A4の発現レベルおよび触媒活性に対する影響を調べた。配列変異は、多くの白人において認められるものと同じとするCYP3A4タンパク質をコードするpSE3A4H発現ベクター (Harlow, J Biol Chem 272(1997), 5396~402) に導入した。他の望ましくない突然変異は、CYP3A4挿入または配列決定により確認されるようなその発現を促進するプロモーターに導入されなかった。実施例5に記載の通り、突然変異M1~M8は大腸菌において発現させ、CYP3A4ホロ酵素の発現を還元CO相違スペクトルの測定により評価し、タンパク質を精製した。M2、M5およびM7突然変異以外の全てはCYP3A4と同様なレベルで検出可能であった。M5はCYP3A4の10%未満のレベルで発現され、複数回の測定におけるP450測定の不一致により示されるように、ある程度の不安定性を示した。M2およびM7では、4回の試行の結果、検出可能なP450ホロタンパク質は認められなかった。実施例5に記載の通り、CYP3A4と交差反応をすることが知られる抗CYP3A12ポリクローナル抗体 (Ciaccio, Arch Biochem Biophys 271(1989), 284~99) を用いたウェスタンブロット法により、M2、M5およびM7の発現をさらに調べた。予測される大きさ (約54 kDa) のバンドをCYP3A4野生型およびM2突然変異タンパク質を含むレーンにおいて可視化した (図7)。M7を含むレーンにおいては非常に薄いバンドのみが認められ、このバンドはバックグラウンドよりも有意に濃くなかった。これらの結果は、M2およびM7突然変異はCYP3A4ホロ酵素の発現を消失させる一方、M5はその発現を減少させることを示す。

## 【0109】

NADPH-チトクロームP450還元酵素およびチトクロームb<sub>5</sub>を用いた再構築に続き、M1、M4、M5およびM6変異の触媒活性を、テストステロン、プロゲステロンおよび7-BFCを基質として用いて測定した (表5~7)。突然変異M1およびM4は、CYP3A4とは異なるステロイドヒドロキシラーゼ活性および7-BFCデベンジラーゼ活性を示した (表5~7)。ステロイドの低濃度においては、M4は野生型CYP3A4の<50%のステロイドヒドロキシラーゼ活性を示し (表5および6)、および、<50%のCYP3A4 7-BFCデベンジラーゼ活性を示した (表7)。25 μMのテストステロン濃度

において、M1は137%のCYP3A4 7-BFCデベンジラーゼ活性を示したが（表7）、CYP3A4 テストステロンヒドロキシラーゼ活性は53%しか示さなかった（表5）。野生型CYP3A4と比較した場合、M1突然変異およびM4突然変異のいずれも、そのステロイドヒドロキシラーゼ代謝プロフィールにおいて変化を示さなかった。この知見はM5の明らかに減少した安定性のある程度しか反映し得なかったが、M5突然変異の活性は野生型タンパク質のおよそ半分であった（表5～7）。一方、突然変異M6は著しく変化したテストステロンヒドロキシラーゼ代謝プロフィールを示した（表5）。

【0110】

【表1】 CYP3A4遺伝子およびCYP3A7のエキソン11（太字）のエキソン/イントロン境界を決定するために使用されたオリゴヌクレオチド

| 名称            | 位置       | 配列 (5' - 3')              |
|---------------|----------|---------------------------|
| T7            | BAC CS   | TAATACGACTCACTATAGGG      |
| 3A43F         | エキソン 2   | GAACCCATTACATGGAC         |
| 3A46R         | エキソン 4   | TGATCATGTCAGGATCTG        |
| 3A47F         | エキソン 4   | GGTCAACAGCCTGTGCTG        |
| 3A48R         | エキソン 5   | TCCACTGGTGAAGGTTGG        |
| 3A49F         | エキソン 5   | GTGCCATCTCTATAGCTG        |
| 3A410R        | エキソン 6   | CTTCCCGCCTCAGATTTT        |
| 3A411F        | エキソン 6   | GAAATCTGAGGCGGGAAG        |
| 3A412R        | エキソン 7   | GGGTCTTGTGGATTGTTG        |
| 3A413F        | エキソン 7   | CAACAATCCACAAGACCC        |
| 3A414R        | エキソン 8   | GTGTATCTTCGAGGCGAC        |
| 3A415F        | エキソン 8   | CTTTCATTCCCTCATCCC        |
| 3A416R        | エキソン 9   | CCTTTGTGGGACTCAGTTTC      |
| 3A419F        | エキソン 10  | GCCACTCACCTGATGTC         |
| <b>3A720R</b> | エキソン 11  | <b>ATCACCACCCACCCTTTG</b> |
| <b>3A721F</b> | エキソン 11  | <b>CAAAGGGTGGGTGGTGAT</b> |
| 3A422R        | エキソン 12  | GAGAGCAAACCTCATGCC        |
| 3A423F        | エキソン 12  | GGCATGAGGTTTGCTCTC        |
| 3A424R        | エキソン 13  | GGTGCCATCCCTTGACTC        |
| 3A426R        | エキソン 2   | GCAGAGGTGTGGGCCCTG        |
| 3A4436F       | イントロン 8  | GGAGATCAAGGACCACGCTTGTG   |
| 3A441R        | イントロン 10 | CTTACGCTTCTGCCAGTAGCAACC  |
| CYP3A4PF      | プロモーター   | AACAGGCGTGAAACACAAT       |
| CYP3A4PR      | プロモーター   | CTTTCCTGCCCTGCACAG        |

## 【 0 1 1 1 】

50ngのゲノムDNAを、1×PCR緩衝液 (Q=キアゲン社、カタログ番号1005479またはB2=ベーリンガー社 (現口シュ社) 伸長テンプレート(Expand Long Template)PCR緩衝液ナンバー2, カタログ番号1742655)、0.25 μMの各オリゴヌクレオチド (メタビオン (Metabion) 社)、200 μMのdNTP、および1UのTaqポリメラーゼ (キアゲン社) を含む反応混合物 (総量30または50 μl) に加えた。ロボサイクラーグラジエント96 (RoboCycler Gradient 96) (ストラタジーン (Stratagene

社)において増幅を実施し、94 で2分間の最初の変性段階を行い、続けて、変性(40秒、94 )、アニーリング(45秒、56~60 )、および伸長(60~150秒、72 )の増幅サイクルを32サイクル行った。これに続き、72 にて5分間の最終伸長段階を行った。PCR断片およびBACクローンの配列決定は、製造者の使用説明書に従い、ダイターミネーターDNAシーケンシングキット(パーキンエルマー社、カタログ番号4303154)を用い、GeneAmp PCRシステム9700(パーキンエルマー社)において実施した。

【0112】

【表2】 CYP3A4(エキソン1~13)およびCYP3A7(エキソン11、太字)多型スクリーニング:オリゴヌクレオチド配列、増幅条件および断片サイズ

| エキソン           | プライマー名   | プライマー配列(5'-3'方向)               | BAC 22300上の位置 | 断片長    | アニーリング温度 |
|----------------|----------|--------------------------------|---------------|--------|----------|
| 1              | 3A4-62F  | AACTGCAGGCAGAGCACAGGT          | 61838 - 61858 | 384 bp | 63°C     |
|                | 3A4-64R  | CCACGCCCGGCCTGAACATCT          | 62221 - 62201 |        |          |
| 2 <sup>a</sup> | 3A4-101F | TAGGATCCAATCATCTCCTAC          | 65072 - 65092 | 463 bp | 62°C     |
|                | 3A4-68F  | GGTGTCTCATGGTGGAGG             | 65841 - 65858 |        |          |
|                | 3A4-103R | AGAGTTAGCAAGAGAGCCCTT          | 66303 - 66283 |        |          |
| 3              | 3A4-50F  | CCTCTAACTGCCAGCAAGTCTG         | 67924 - 67945 | 249 bp | 58°C     |
|                | 3A4-51R  | GCGCTGAGACTGTCTCTGTG           | 68172 - 68152 |        |          |
| 4 <sup>b</sup> | 3A4-52F  | AGTCTGGCTTCTGGGTTGGGCTC        | 73343 - 73366 | 293 bp | 58°C     |
|                | 3A4-37R  | GAAGTGGACGTGGAACCTTCCTGGAC     | 73635 - 73610 | 304 bp | 63°C     |
|                | 3A4-100R | GGGGACAGGATGAAGTGGACG          | 73646 - 73626 |        |          |
| 5              | 3A4-28F  | TACAACCATGGAGACCTCC            | 75813 - 75832 | 236 bp | 62°C     |
|                | 3A4-29R  | TACCTGTCCCACAGATTC             | 76048 - 76029 |        |          |
| 6              | 3A4-57F  | CCCTTCCAAGGGGTAGTCC            | 76066 - 76085 | 379 bp | 58°C     |
|                | 3A4-32R  | GTCTGGTCACTGGAATAACCCAACAGCAGG | 76444 - 76415 |        |          |
| 7              | 3A4-33F  | GTCTGTCTTGACTGGACATGTGG        | 77509 - 77531 | 393 bp | 58°C     |
|                | 3A4-34R  | GATGATGGTCACACATATCTTC         | 77901 - 77880 |        |          |
| 8              | 3A4-35F  | GGCTTCCAGTTGAGAACCTTGATGTC     | 78723 - 78748 | 389 bp | 58°C     |
|                | 3A4-59R  | GCTCTAACATGAGCAGTCTTC          | 79111 - 79090 |        |          |
| 9              | 3A4-36F  | GGAGATCAAGGACCACGCTTGTG        | 79584 - 79606 | 240 bp | 62°C     |
|                | 3A4-47R  | CTCATCATCCTGGAATACTTCCTGC      | 79823 - 79799 |        |          |
| 10             | 3A4-82F  | CCCAGTGTACCTCTGAATTGC          | 81959 - 81979 | 431 bp | 50°C     |
|                | 3A4-95R  | CAGAGCCTTCCTACATAG             | 82389 - 82372 |        |          |
| 11             | 3A4-97F  | CAGTATGAGTTAGTCTCTGG           | 83733 - 83752 | 574 bp | 50°C     |
|                | 3A4-80R  | CATAACTGATGACCTTCATCG          | 84306 - 84286 |        |          |
| 12             | 3A4-49F  | CCTGTGTACTGCTAGTAGAGGG         | 85020 - 85041 | 411 bp | 50°C     |
|                | 3A4-39R  | CACAGATGGGCCTAATTG             | 85430 - 85413 |        |          |
| 13             | 3A4-48F  | GGAGTGTCTCACTCACTTTGATGC       | 87799 - 87822 | 288 bp | 50°C     |
|                | 3A4-25R  | TGGATGAAGCCCATCTTC             | 88086 - 88069 |        |          |
| 11             | 3A7-42F  | CCAGTATGAGTTGTTCTCTGG          | 87799 - 87822 | 404 bp | 58°C     |
|                | 3A7-38R  | AGGCAGAATATGCTTGAACCAGGC       | 88086 - 88069 |        |          |

a プライマー3A4-101Fおよび3A4-103Rは1231 bp断片の増幅のために使用される；プライマー3A4-68Fおよび3A4-103Rは配列決定法のために使用される。

b プライマー3A4-52Fおよび3A4-37Rは、58 のアニーリング温度にて、結果的に293 bpの断片を得る増幅のために組合わせて使用でき、プライマー3A4-52Fお

よび3A4-100Rは、63 のアニーリング温度にて、結果的に304 bpの断片を得る増幅のために組合わせて使用できる。

【0113】

50ngのゲノムDNAを、1×PCR緩衝液（キアゲン社）、0.5 μMのオリゴヌクレオチド、200 μMのdNTP、および1UのTaqポリメラーゼ（キアゲン社）を含む反応混合物に加えた。ロボサイクラーグラジエント96（RoboCycler Gradient 96）（ストラタジーン社）において増幅を実施し、94 で2分間の最初の変性段階を行い、続けて変性（40秒、94 ）、アニーリング（45秒、上記にて与えられた温度）、および伸長（60秒、72 ）の増幅サイクルを32サイクル行った。これに続き、72 にて5分間の最終伸長段階を行った。全ての配列決定反応は、製造者の使用説明書に従い、ダイターミネーターDNAシーケンシングキット（パーキンエルマー社、カタログ番号4303154）を用い、GeneAmp PCRシステム9700（パーキンエルマー社）において実施した。

【0114】

【表3】 CYP3A4変異<sup>a</sup>の位置、配列および頻度

| 番号  | 変異 <sup>a</sup> | 5'→3' スノレオチド配列                | 遺伝的因子    | 予測される効果 | N <sup>o</sup> | 認められたヘテロ接合体(%) | 認められたホモ接合体(%) | 計測されたホモ接合体(%) | 変異対立遺伝子頻度(%) |
|-----|-----------------|-------------------------------|----------|---------|----------------|----------------|---------------|---------------|--------------|
| M1  | g.6004G>A       | TCCCAGGGCTTTGT<br>.....A..... | エキソン 3   | G56D    | 426            | 2,82           | 0,00          | 0,0190        | 1,41         |
| M2  | g.13908G>A      | ATTACGATCAT<br>.....A.....    | エキソン 5   | R130Q   | 300            | 0,66           | 0,00          | 0,0011        | 0,33         |
| M3  | g.14292G>A      | AGCCTGTCACC<br>.....A.....    | エキソン 6   | V170I   | 424            | 0,47           | 0,00          | 0,0006        | 0,24         |
| M4  | g.14304G>C      | TGAAAGAGTAA<br>.....C.....    | エキソン 6   | D174H   | 424            | 0,47           | 0,00          | 0,0006        | 0,24         |
| M10 | g.14323C>T      | GCAGCCATGGG<br>.....T.....    | イントロン 6  |         | 424            | 0,47           | 0,00          | 0,0006        | 0,24         |
| M11 | g.14329G>T      | ATGGGTTCTG<br>.....T.....     | イントロン 6  |         | 424            | 0,47           | 0,00          | 0,0006        | 0,24         |
| M12 | g.14357T>G      | CCAGCTGCCTG<br>.....G.....    | イントロン 6  |         | 424            | 1,89           | 0,00          | 0,009         | 0,94         |
| M13 | g.15753T>G      | TATCTTTCTCTCTT<br>.....G..... | イントロン 7  |         | 296            | 5,41           | 0,00          | 0,073         | 2,70         |
| M14 | g.20230G>A      | GGATGGTACAT<br>.....A.....    | イントロン 10 |         | 296            | 17,56          | 0,68          | 0,895         | 9,46         |
| M5  | g.21867C>T      | TGAAACGCTCA<br>.....T.....    | エキソン 11  | T363M   | 298            | 0,67           | 0,00          | 0,001         | 0,34         |
| M15 | g.21868G>A      | GAAACGTCAG<br>.....A.....     | エキソン 11  | サイレント   | 298            | 0,67           | 0,00          | 0,001         | 0,34         |
| M6  | g.21896C>T      | TGAGACTTGAG<br>.....T.....    | エキソン 11  | L373F   | 298            | 0,67           | 0,00          | 0,001         | 0,34         |
| M7  | g.22026C>T      | CCTCCCTGAAA<br>.....T.....    | エキソン 11  | P416L   | 298            | 0,67           | 0,00          | 0,001         | 0,34         |
| M16 | g.22041C>T      | CAAGGCCCTG<br>.....T.....     | イントロン 11 |         | 298            | 0,67           | 0,00          | 0,001         | 0,34         |
| M17 | g.23081C>T      | ACCAACGTGGA<br>.....T.....    | イントロン 11 | 77      | 426            | 0,47           | 0,00          | 0,001         | 0,23         |
| M8  | g.23172T>C      | TGGCATGAGGT<br>.....C.....    | エキソン 12  | M445T   | 426            | 0,94           | 0,00          | 0,002         | 0,47         |
| M18 | g.25925C>T      | GGCACCGTAAG<br>.....T.....    | エキソン 13  | サイレント   | 300            | 0,66           | 0,00          | 0,001         | 0,33         |
| M19 | g.25958T>G      | ACTTCTGCTTT<br>.....G.....    | 3'UTR    |         | 300            | 0,66           | 0,00          | 0,001         | 0,33         |

<sup>a</sup> CYP3A4遺伝子上の位置に従って一覧にされた変異

- ⓑ 参照配列ゲンバンクアクセス番号AF280107。CYP3A4タンパク質の最初のATGにおけるヌクレオチドAを1位とした。
- ⓒ スクリーニングされた染色体番号。

【0115】

【表4】 CYP3A4およびCYP3A7の遺伝子変異

| 遺伝子    | 位置       | 野生型配列(5'-3')   | 突然変異型配列(5'-3')   |  |
|--------|----------|--|--|--|
| CYP3A4 | エキソン 3   | F: TCCCAGGG <u>g</u> CTTTTGT<br>R: ACAAAG <u>C</u> CCTGGGA | F: TCCCAGGG <u>A</u> CTTTTGT<br>R: ACAAAG <u>T</u> CCTGGGA |  |
|        | イントロン7   | F: TATCTT <u>T</u> CTCTCTT<br>R: AAGAGAG <u>A</u> AAGATA   | F: TATCTT <u>G</u> CTCTCTT<br>R: AAGAGAG <u>C</u> AAGATA   |  |
|        | エキソン 5   | F: ATTAC <u>G</u> ATCAT<br>R: ATGAT <u>C</u> GTAAT         | F: ATTAC <u>A</u> ATCAT<br>R: ATGAT <u>T</u> GTAAT         |  |
|        | エキソン 6   | F: AGCCT <u>G</u> TCACC<br>R: GGTGAC <u>A</u> GGCT         | F: AGCCT <u>A</u> TCACC<br>R: GGTGAT <u>T</u> AGGCT        |  |
|        | エキソン 6   | F: TGAAAG <u>G</u> AGTAA<br>R: TTACT <u>C</u> TTTCA        | F: TGAAAG <u>C</u> AGTAA<br>R: TTACT <u>G</u> TTTCA        |  |
|        | イントロン 6  | F: GCAGC <u>C</u> ATGGG<br>R: CCCAT <u>G</u> GCTGC         | F: GCAGC <u>T</u> ATGGG<br>R: CCCAT <u>A</u> GCTGC         |  |
|        | イントロン 6  | F: ATGGG <u>G</u> TTCTG<br>R: CAGAA <u>C</u> CCCAT         | F: ATGGG <u>T</u> TTCTG<br>R: CAGAA <u>A</u> CCCAT         |  |
|        | イントロン 6  | F: CCAGC <u>T</u> GCCTG<br>R: CAGGC <u>A</u> GCTGG         | F: CCAGC <u>G</u> GCCTG<br>R: CAGGC <u>C</u> GCTGG         |  |
|        | イントロン 10 | F: GGATG <u>G</u> TACAT<br>R: ATGTA <u>C</u> CATCC         | F: GGATG <u>A</u> TACAT<br>R: ATGTA <u>T</u> CATCC         |  |
|        | エキソン 11  | F: TGAAAG <u>G</u> CTCA<br>R: TGAGC <u>G</u> TTTCA         | F: TGAAAG <u>T</u> GCTCA<br>R: TGAGC <u>A</u> TTTCA        |  |
|        | エキソン 11  | F: GAAAC <u>G</u> CTCAG<br>R: CTGAGC <u>G</u> TTC          | F: GAAAC <u>A</u> CTCAG<br>R: CTGAGC <u>T</u> TTC          |  |
|        | エキソン 11  | F: TGAGAC <u>T</u> TGAG<br>R: CTCAA <u>G</u> TCTCA         | F: TGAGAT <u>T</u> TGAG<br>R: CTCAA <u>A</u> TCTCA         |  |
|        | エキソン 11  | F: CCTCC <u>C</u> TGAAA<br>R: TTTCAG <u>G</u> GGAGG        | F: CCTCC <u>T</u> TGAAA<br>R: TTTCAG <u>A</u> GGAGG        |  |
|        | イントロン 11 | F: CAAGG <u>C</u> CCCTG<br>R: CAGGG <u>G</u> CCTTG         | F: CAAGG <u>T</u> CCCTG<br>R: CAGGG <u>A</u> CCTTG         |  |
|        | イントロン 11 | F: ACCAAG <u>C</u> GTGGA<br>R: TCCAC <u>G</u> TGGT         | F: ACCAAG <u>T</u> GTGGA<br>R: TCCAC <u>A</u> TGGT         |  |
|        | エキソン 12  | F: TGGCA <u>T</u> GAGGT<br>R: ACCTC <u>A</u> TGCCA         | F: TGGCA <u>C</u> GAGGT<br>R: ACCTC <u>G</u> TGCCA         |  |
|        | エキソン 13  | F: GGCAC <u>C</u> GTAAG<br>R: CTTAC <u>G</u> GTGCC         | F: GGCAC <u>T</u> GTAAG<br>R: CTTAC <u>A</u> GTGCC         |  |
|        | 3'UTR    | F: ACTTC <u>T</u> GCTTT<br>R: AAAGC <u>A</u> GAACT         | F: ACTTC <u>G</u> GCTTT<br>R: AAAGC <u>C</u> GAACT         |  |
|        | CYP3A7   | エキソン 11  | F: TACTGGAC <u>A</u> GAGC<br>R: GCTCT <u>G</u> TCCAGTA     | F: TACTGGAG <u>A</u> GAGC<br>R: GCTCT <u>C</u> TCCAGTA |

【表5】 野生型および突然変異型CYP3A4タンパク質のテストステロンヒドロキシラーゼ活性

| タンパク質 | 25 $\mu$ M テストステロン<br>(nmol産物/分/nmolタンパク質) |                |               | 400 $\mu$ M テストステロン<br>(nmol産物/分/nmolタンパク質) |                |               |
|-------|--|----------------|---------------|---|----------------|---------------|
|       | 6 $\beta$ -OH                              | 15 $\beta$ -OH | 2 $\beta$ -OH | 6 $\beta$ -OH                               | 15 $\beta$ -OH | 2 $\beta$ -OH |
| WT    | 9.3 <sup>a</sup>                           | 0.4            | 0.2           | 41.6 <sup>a</sup>                           | 1.2            | 3.0           |
| M1    | 5.1, 4.8 <sup>b</sup>                      | 0.2, 0.2       | <0.1, <0.1    | 32.1, 32.2 <sup>b</sup>                     | 1.2, 1.1       | 5.4, 6.9      |
| M4    | 4.4, 3.9                                   | 0.1, 0.1       | <0.1, <0.1    | 32.4, 29.8                                  | 1.3, 0.9       | 5.3, 5.6      |
| M5    | 5.1 <sup>c</sup>                           | 0.1            | <0.1, <0.1    | 19.5 <sup>c</sup>                           | 0.7            | 3.6           |
| M6    | 10.1, 8.6                                  | 1.7, 1.3       | 3.5, 2.8      | 45.3, 58.8                                  | 5.9, 7.7       | 29.2,<br>36.3 |

<sup>a</sup> 単一の値は、一つの調製物のみで実施された試験から得られた複数の平均である。

<sup>b</sup> 2つの値は別々のタンパク質調製物を表す。各値は複数回実施された試験の平均である。

<sup>c</sup> M5の一つの調製物のみを精製した。

【0117】

【表6】 野生型および突然変異型CYP3A4タンパク質のプロゲステロンヒドロキシラーゼ活性

| タンパク質 | 25 $\mu$ M プロゲステロン<br>(nmol産物/分/nmolタンパク質) |                 |                        | 150 $\mu$ M プロゲステロン<br>(nmol産物/分/nmolタンパク質) |                 |                        |
|-------|--|-----------------|------------------------|---|-----------------|------------------------|
|       | 6 $\beta$ -OH                              | 16 $\alpha$ -OH | 6 $\beta$ /16 $\alpha$ | 6 $\beta$ -OH                               | 16 $\alpha$ -OH | 6 $\beta$ /16 $\alpha$ |
| WT    | 12.1 <sup>a</sup>                          | 1.7             | 7.1                    | 32.1 <sup>a</sup>                           | 6.4             | 5.0                    |
| M1    | 7.8, 7.9 <sup>b</sup>                      | 1.4, 1.4        | 5.6, 5.6               | 21.3, 21.3 <sup>b</sup>                     | 4.2, 4.2        | 5.1, 5.1               |
| M4    | 5.5, 5.4                                   | 0.5, 0.5        | 11.0,<br>10.8          | 21.4, 18.4                                  | 3.9, 3.1        | 5.5, 5.9               |
| M5    | 5.9 <sup>c</sup>                           | 0.6             | 9.8                    | 16.6 <sup>c</sup>                           | 3.1             | 5.4                    |
| M6    | 15.8, 12.3                                 | 2.1, 1.6        | 7.5, 7.7               | 40.1, 49.8                                  | 5.1, 6.5        | 7.9, 7.7               |

【0118】

【表7】 野生型および突然変異型CYP3A4タンパク質の7-ベンジロキシ-4-(トリフルオロメチル)クマリン(7-BFC) デベンジラーゼ活性

| タンパク質 | 7-ヒドロキシ-4-(トリフルオロメチル)クマリン<br>(nmol産物/分/nmolタンパク質) |
|-------|---|
| WT    | 6.5 <sup>a</sup>                                  |
| M1    | 8.8, 9.1 <sup>b</sup>                             |
| M4    | 2.3, 1.9 <sup>b</sup>                             |
| M5    | 2.9 <sup>c</sup>                                  |
| M6    | 4.5, 5.2 <sup>b</sup>                             |

<sup>a</sup> 単一の値は、一つの調製物のみで実施された試験から得られた複数の平均である。

<sup>b</sup> 2つの値は別々のタンパク質調製物を表す。各値は複数回実施された試験の平均である。

<sup>c</sup> M5の一つの調製物のみを精製した。

【0119】

参考文献

- (1) Daly, Toxicol Lett 102-103 (1998), 143-7
- (2) Touw, Drug Metabol Drug Interact 14 (1997), 55-82
- (3) Thummel, Annu Rev Pharmacol Toxicol 38 (1998), 389-430
- (4) Cholerton, Trends Pharmacol Sci 13 (1992), 434-9
- (5) Ketter, J Clin Psychopharmacol 15 (1995), 387-98
- (6) Forrester, Proc Natl Acad Sci U S A 87 (1990), 8306-10
- (7) Paolini, Nature 398 (1999), 760-1
- (8) Westlind, Biochem Biophys Res Commun 259 (1999), 201-5
- (9) Jounaidi, Biochem Biophys Res Commun 221 (1996), 466-70
- (10) Schuetz, Pharmacogenetics 4 (1994), 11-20
- (11) Hunt, Clin Pharmacol Ther 51 (1992), 18-23
- (12) Kashuba, Clin Pharmacol Ther 64 (1998), 269-77
- (13) Peyronneau, Eur J Biochem 218 (1993), 355-61
- (14) Rebbeck, J Natl Cancer Inst 90 (1998), 1225-9
- (15) Felix, Proc Natl Acad Sci U S A 95 (1998), 13176-81
- (16) He, Biochemistry 36 (1997), 8831-9
- (17) Szklarz, J Comput Aided Mol Des 11 (1997), 265-72
- (18) Harlow, J Biol Chem 272 (1997), 5396-402
- (19) Wang, Biochemistry 37 (1998), 12536-45
- (20) Harlow, Proc Natl Acad Sci U S A 95 (1998), 6636-41
- (21) Domanski, Arch Biochem Biophys 350 (1998), 223-32
- (22) Lehmann, J Clin Invest 102 (1998), 1016-23
- (23) Bertilsson, Proc Natl Acad Sci U S A 95 (1998), 12208-13
- (24) Kliewer, Cell 92 (1998), 73-82
- (25) Pascussi, Biochem Biophys Res Commun 260 (1999), 377-81

**【配列表】**

## SEQUENCE LISTING

<110> Epidauros Biotechnologie AG

<120> Polymorphisms in the human CYP3A4 and CYP3A7 genes and their use in diagnostic and therapeutic applications

<130> D 2145 PCT

<140>

<141>

<150> EP 99 11 8120.7

<151> 1999-09-10

<160> 172

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 1

taatacgact cactataggg

20

<210> 2

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 2

gaaccattc acatggac

18

<210> 3

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 3

tgatcatgtc aggatctg

18

<210> 4

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 4  
ggtcaacagc ctgtgctg 18

<210> 5  
<211> 18  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 5  
tccactggtg aaggttgg 18

<210> 6  
<211> 18  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 6  
gtgcatctc tatagctg 18

<210> 7  
<211> 18  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 7  
cttccgcct cagatttc 18

<210> 8  
<211> 18  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 8  
gaaatctgag gcggaag 18

<210> 9  
<211> 18  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 9  
gggtcttgtg gattgttg 18

<210> 10  
 <211> 18  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
 <400> 10  
 caacaatcca caagaccc 18

<210> 11  
 <211> 18  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
 <400> 11  
 gtgtatcttc gaggcgac 18

<210> 12  
 <211> 18  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
 <400> 12  
 ctttccattc ctcatccc 18

<210> 13  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
 <400> 13  
 cctttgtggg actcagtttc 20

<210> 14  
 <211> 18  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
 <400> 14  
 gccactcacc ctgatgtc 18

<210> 15  
 <211> 18

<212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
 <400> 15  
 atcaccacccc accctttg 18

<210> 16  
 <211> 18  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
 <400> 16  
 caaagggtgg gtggtgat 18

<210> 17  
 <211> 18  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
 <400> 17  
 gagagcaaac ctcatgcc 18

<210> 18  
 <211> 18  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
 <400> 18  
 ggcacgaggt ttgctctc 18

<210> 19  
 <211> 18  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
 <400> 19  
 ggtgccatcc cttgactc 18

<210> 20  
 <211> 18  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
 <400> 20  
 gcagaggtgt gggccctg 18  
  
 <210> 21  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
 <400> 21  
 ggagatcaag gaccacgctt gtg 23  
  
 <210> 22  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
 <400> 22  
 cttacgcttc tgccagtagc aacc 24  
  
 <210> 23  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
 <400> 23  
 aacaggcgtg gaaacacaat 20  
  
 <210> 24  
 <211> 18  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
 <400> 24  
 ctttctgcc ctgcacag 18  
  
 <210> 25  
 <211> 21  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 25  
 aactgcaggc agagcacagg t 21

<210> 26  
 <211> 21  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 26  
 ccacgcccgg cctgaacatc t 21

<210> 27  
 <211> 21  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 27  
 taggatccaa tcatctccta c 21

<210> 28  
 <211> 18  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 28  
 ggtgtctcat ggtggagg 18

<210> 29  
 <211> 21  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 29  
 agagttagca agagagccct t 21

<210> 30  
 <211> 22  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 30  
 cctctaactg ccagcaagtc tg 22

<210> 31  
 <211> 21  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
 <400> 31  
 gcgctgagac tgcctctgt g 21  
  
  
 <210> 32  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
 <400> 32  
 agtctggctt cctgggttg gctc 24  
  
  
 <210> 33  
 <211> 21  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
 <400> 33  
 ggggacagga tgaagtggac g 21  
  
  
 <210> 34  
 <211> 19  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
 <400> 34  
 tacaaccatg gagacctcc 19  
  
  
 <210> 35  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
 <400> 35  
 tacctgtccc caccagatc 20  
  
  
 <210> 36  
 <211> 20

<212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
 <400> 36  
 ccctttccaa gggtagtcc 20

<210> 37  
 <211> 30  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
 <400> 37  
 gtctggtcac tggataacc caacagcagg 30

<210> 38  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
 <400> 38  
 gtctgtcttg actggacatg tgg 23

<210> 39  
 <211> 22  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
 <400> 39  
 gatgatggtc acacatatct tc 22

<210> 40  
 <211> 26  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
 <400> 40  
 ggcttcagc tgagaacctt gatgtc 26

<210> 41  
 <211> 22  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
 <400> 41  
 gctctaaca tgagcagtct tc 22  
  
 <210> 42  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
 <400> 42  
 ggagatcaag gaccacgctt gtg 23  
  
 <210> 43  
 <211> 25  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
 <400> 43  
 ctcatcatcc tggaaactt cctgc 25  
  
 <210> 44  
 <211> 21  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
 <400> 44  
 cccagtgtac ctctgaattg c 21  
  
 <210> 45  
 <211> 18  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
 <400> 45  
 cagagccttc ctacatag 18  
  
 <210> 46  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 46  
 cagtatgagt tagtctctgg 20

<210> 47  
 <211> 21  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 47  
 cataactgat gaccttcacg g 21

<210> 48  
 <211> 22  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 48  
 cctgtgtact gctagtagag gg 22

<210> 49  
 <211> 18  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 49  
 cacagatggg cctaattg 18

<210> 50  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 50  
 ggagtgtctc actcactttg atgc 24

<210> 51  
 <211> 18  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 51

tg gat ga agc cca tcttc

18

<210> 52  
 <211> 15  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 52  
 tcccagggct tttgt

15

<210> 53  
 <211> 15  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 53  
 acaaaagccc tggga

15

<210> 54  
 <211> 15  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 54  
 tcccaggact tttgt

15

<210> 55  
 <211> 15  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 55  
 acaaaagtcc tggga

15

<210> 56  
 <211> 14  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 56  
 tatctttctc tctt

14

<210> 57  
 <211> 14  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
 <400> 57  
 aagagagaaa gata 14

<210> 58  
 <211> 14  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
 <400> 58  
 tatcttgctc tctt 14

<210> 59  
 <211> 14  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
 <400> 59  
 aagagagcaa gata 14

<210> 60  
 <211> 11  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
 <400> 60  
 attacgatca t 11

<210> 61  
 <211> 11  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
 <400> 61  
 atgacgtaa t 11

<210> 62  
 <211> 11  
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 62

attacaatca t

11

<210> 63

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 63

atgattgtaa t

11

<210> 64

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 64

agcctgtcac c

11

<210> 65

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 65

ggtgacaggc t

11

<210> 66

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 66

agcctatcac c

11

<210> 67

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial  
<400> 67  
ggtgatagc t 11

<210> 68  
<211> 11  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Description of Artificial Sequence: artificial  
<400> 68  
tgaagagta a 11

<210> 69  
<211> 11  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Description of Artificial Sequence: artificial  
<400> 69  
ttactctttc a 11

<210> 70  
<211> 11  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Description of Artificial Sequence: artificial  
<400> 70  
tgaacagta a 11

<210> 71  
<211> 11  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Description of Artificial Sequence: artificial  
<400> 71  
ttactgtttc a 11

<210> 72  
<211> 11  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Description of Artificial Sequence: artificial  
<400> 72

gcagccatgg g 11

<210> 73  
<211> 11  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 73  
cccattggctg c 11

<210> 74  
<211> 11  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 74  
gcagctatgg g 11

<210> 75  
<211> 11  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 75  
cccatagctg c 11

<210> 76  
<211> 11  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 76  
atggggttct g 11

<210> 77  
<211> 11  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 77  
cagaacccca t 11

<210> 78  
<211> 11  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
  
<220>  
<223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
<400> 78  
atgggtttct g 11  
  
<210> 79  
<211> 11  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
  
<220>  
<223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
<400> 79  
cagaaaccca t 11  
  
<210> 80  
<211> 11  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
  
<220>  
<223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
<400> 80  
ccagctgcct g 11  
  
<210> 81  
<211> 11  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
  
<220>  
<223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
<400> 81  
caggcagctg g 11  
  
<210> 82  
<211> 11  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
  
<220>  
<223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
<400> 82  
ccagcggcct g 11  
  
<210> 83  
<211> 11  
<212> DNA

<213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
 <400> 83  
 caggccgctg g 11

<210> 84  
 <211> 11  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
 <400> 84  
 ggatggtaca t 11

<210> 85  
 <211> 11  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
 <400> 85  
 atgtaccatc c 11

<210> 86  
 <211> 11  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
 <400> 86  
 ggatgataca t 11

<210> 87  
 <211> 11  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
 <400> 87  
 atgtatcatc c 11

<210> 88  
 <211> 11  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial  
 <400> 88  
 tgaaacgctc a 11

<210> 89  
 <211> 11  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
 <400> 89  
 tgagcgtttc a 11

<210> 90  
 <211> 11  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
 <400> 90  
 tgaaatgctc a 11

<210> 91  
 <211> 11  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
 <400> 91  
 tgagcatttc a 11

<210> 92  
 <211> 11  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
 <400> 92  
 gaaacgctca g 11

<210> 93  
 <211> 11  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

<220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
 <400> 93

ctgagcgttt c 11

<210> 94  
<211> 11  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 94  
gaaacactca g 11

<210> 95  
<211> 11  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 95  
ctgagtgttt c 11

<210> 96  
<211> 11  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 96  
tgagacttga g 11

<210> 97  
<211> 11  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 97  
ctcaagtctc a 11

<210> 98  
<211> 11  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 98  
tgagatttga g 11

<210> 99  
 <211> 11  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
 <400> 99  
 ctcaaatctc a 11

<210> 100  
 <211> 11  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
 <400> 100  
 cctccctgaa a 11

<210> 101  
 <211> 11  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
 <400> 101  
 tttcagggag g 11

<210> 102  
 <211> 11  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
 <400> 102  
 cctccttgaa a 11

<210> 103  
 <211> 11  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
 <400> 103  
 tttcaaggag g 11

<210> 104  
 <211> 11  
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
 <400> 104  
 caaggcccct g 11

<210> 105  
 <211> 11  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
 <400> 105  
 caggggcctt g 11

<210> 106  
 <211> 11  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
 <400> 106  
 caaggtcctt g 11

<210> 107  
 <211> 11  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
 <400> 107  
 cagggacctt g 11

<210> 108  
 <211> 11  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
 <400> 108  
 accaacgttg a 11

<210> 109  
 <211> 11  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial  
 <400> 109  
 tccacgttgg t 11  
  
 <210> 110  
 <211> 11  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
 <400> 110  
 accaatgtgg a 11  
  
 <210> 111  
 <211> 11  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
 <400> 111  
 tccacattgg t 11  
  
 <210> 112  
 <211> 11  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
 <400> 112  
 tggcatgagg t 11  
  
 <210> 113  
 <211> 11  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
 <400> 113  
 acctcatgcc a 11  
  
 <210> 114  
 <211> 11  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
 <400> 114

tggcacgagg t 11

<210> 115  
<211> 11  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 115  
acctcgtgcc a 11

<210> 116  
<211> 11  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 116  
ggcaccgtaa g 11

<210> 117  
<211> 11  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 117  
cttacggtgc c 11

<210> 118  
<211> 11  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 118  
ggcactgtaa g 11

<210> 119  
<211> 11  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 119  
cttacagtgc c 11

<210> 120  
 <211> 11  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
 <400> 120  
 acttctgctt t 11

<210> 121  
 <211> 11  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
 <400> 121  
 aaagcagaag t 11

<210> 122  
 <211> 11  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
 <400> 122  
 acttcggctt t 11

<210> 123  
 <211> 11  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
 <400> 123  
 aaagccgaag t 11

<210> 124  
 <211> 13  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
  
 <400> 124  
 tactggacag agc 13

<210> 125  
 <211> 13  
 <212> DNA

```

<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 125
gctctgtcca gta 13

<210> 126
<211> 13
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 126
tactggagag agc 13

<210> 127
<211> 13
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 127
gctctctcca gta 13

<210> 128
<211> 249
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> intron
<222> (1)..(115)

<220>
<221> exon
<222> (116)..(168)

<220>
<221> intron
<222> (169)..(249)

<220>
<221> CDS
<222> (116)..(166)

<400> 128
cctctaactg ccagcaagtc tgatttcatt ggcttcgact gttttcatcc caattagagg 60

caggggtaag tacattaaaa ataataatca aatattatct tgtttctcct cccag grc 118
Xaa
1

ttt tgt atg ttt gac atg gaa tgt cat aaa aag tat gga aaa gtg tgg 166
Phe Cys Met Phe Asp Met Glu Cys His Lys Lys Tyr Gly Lys Val Trp

```

5 10 15  
 gggtgagtat tctggaaact tccattggat agacttgttt ctatgatgag tttaccccac 226  
 tgcacagagg acagtctcag ccc 249

<210> 129  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 129  
 Xaa Phe Cys Met Phe Asp Met Glu Cys His Lys Lys Tyr Gly Lys Val  
 1 5 10 15

Trp

<210> 130  
 <211> 293  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> intron  
 <222> (1)..(77)

<220>  
 <221> exon  
 <222> (78)..(177)

<220>  
 <221> intron  
 <222> (178)..(293)

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (79)..(177)

<400> 130  
 agtctggctt cctgggttgg gctccagctg tagaataagg ctggtgatgt ttaatcaact 60  
 ctgttttttt cacacagc ttt tat gat ggt caa cag cct gtg ctg gct atc 111  
 Phe Tyr Asp Gly Gln Gln Pro Val Leu Ala Ile  
 1 5 10  
 aca gat cct gac atg atc aaa aca gtg cta gtg aaa gaa tgt tat tct 159  
 Thr Asp Pro Asp Met Ile Lys Thr Val Leu Val Lys Glu Cys Tyr Ser  
 15 20 25  
 gtc ttc aca aac cgg agg gtaagcattc atgtggtgaa attaaaatac 207  
 Val Phe Thr Asn Arg Arg  
 30  
 tgattgatta aatttatatt ttgaaattct tatatattca tagacagttg cctaaaaaat 267  
 gtccaggaag gttccacgtc cacttc 293

<210> 131

<211> 33  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 131  
 Phe Tyr Asp Gly Gln Gln Pro Val Leu Ala Ile Thr Asp Pro Asp Met  
 1 5 10 15  
 Ile Lys Thr Val Leu Val Lys Glu Cys Tyr Ser Val Phe Thr Asn Arg  
 20 25 30

Arg

<210> 132  
 <211> 236  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> intron  
 <222> (1)..(61)

<220>  
 <221> exon  
 <222> (62)..(175)

<220>  
 <221> intron  
 <222> (176)..(236)

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (62)..(175)

<400> 132  
 ctacaacccat ggagacctcc acaactgatg taggacaaaa tgtttctgct ttgaactcta 60  
 g cct ttt ggt cca gtg gga ttt atg aaa agt gcc atc tct ata gct gag 109  
 Pro Phe Gly Pro Val Gly Phe Met Lys Ser Ala Ile Ser Ile Ala Glu  
 1 5 10 15  
 gat gaa gaa tgg aag aga tta cga tca ttg ctg tct cca acc ttc acc 157  
 Asp Glu Glu Trp Lys Arg Leu Arg Ser Leu Leu Ser Pro Thr Phe Thr  
 20 25 30  
 agt gga aaa ctc aag gag gtatgaaaat aacatgagtt ttaataagaa 205  
 Ser Gly Lys Leu Lys Glu  
 35  
 acttaaagaa tgaatctggt ggggacaggt a 236

<210> 133  
 <211> 38  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 133  
 Pro Phe Gly Pro Val Gly Phe Met Lys Ser Ala Ile Ser Ile Ala Glu  
 1 5 10 15



```

      1             5             10             15
Val Asn Ile Asp Ser Leu Asn Asn Pro Gln Asp Pro Phe Val Glu Asn
      20             25             30
Thr Lys Lys Leu Leu Arg Phe Asp Phe Leu Asp Pro Phe Phe Leu Ser
      35             40             45

```

Ile

<210> 136  
 <211> 240  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> intron  
 <222> (1)..(82)

<220>  
 <221> exon  
 <222> (83)..(149)

<220>  
 <221> intron  
 <222> (150)..(240)

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (83)..(148)

```

<400> 136
ggagatcaag gaccacgctt gtgatttact tctgacttca ggagccactt tctgtcagtg 60
aaatttctct ttttgcctct ag cac cga gtg gat ttc ctt cag ctg atg att 112
                               His Arg Val Asp Phe Leu Gln Leu Met Ile
                               1             5             10
gac tct cag aat tca aaa gaa act gag tcc cac aaa ggtaaccaga 158
Asp Ser Gln Asn Ser Lys Glu Thr Glu Ser His Lys
      15             20
gtgtttctga gggctacttg tggggcactc agaggaagg ccttgctctg aaaatgtgca 218
ggaagtattc caggatgatg ag 240

```

<210> 137  
 <211> 22  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

```

<400> 137
His Arg Val Asp Phe Leu Gln Leu Met Ile Asp Ser Gln Asn Ser Lys
  1             5             10             15
Glu Thr Glu Ser His Lys
      20

```

<210> 138  
 <211> 399  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> intron  
 <222> (1)..(111)

<220>  
 <221> exon  
 <222> (112)..(338)

<220>  
 <221> intron  
 <222> (339)..(399)

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (112)..(336)

<400> 138  
 ccagtatgag ttgttctctg gaacttctaa cagttcaaca gtactacatg gactgagtta 60  
 aaagttaatt caaaaatctc aatttatcca aatctgttcc tttcttttca g gca cca 117  
 Ala Pro  
 1  
 ccc acc tat gat act gtg cta cag atg gag tat ctt gac atg gtg gtg 165  
 Pro Thr Tyr Asp Thr Val Leu Gln Met Glu Tyr Leu Asp Met Val Val  
 5 10 15  
 aat gaa acg ctc aga tta ttc cca att gct atg aga ctt gag agg gtc 213  
 Asn Glu Thr Leu Arg Leu Phe Pro Ile Ala Met Arg Leu Glu Arg Val  
 20 25 30  
 tgc aaa aaa gat gtt gag atc aat ggg atg ttc att ccc aaa ggg tgg 261  
 Cys Lys Lys Asp Val Glu Ile Asn Gly Met Phe Ile Pro Lys Gly Trp  
 35 40 45 50  
 gtg gtg atg att cca agc tat gct ctt cac cgt gac cca aag tac tgg 309  
 Val Val Met Ile Pro Ser Tyr Ala Leu His Arg Asp Pro Lys Tyr Trp  
 55 60 65  
 asa gag cct gag aag ttc ctc cct gaa aggtaggagg ccctgggaa 356  
 Xaa Glu Pro Glu Lys Phe Leu Pro Glu  
 70 75  
 gggagccctc cctgaaccag cctgggtcaa gcatattctg cct 399

<210> 139  
 <211> 75  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 139  
 Ala Pro Pro Thr Tyr Asp Thr Val Leu Gln Met Glu Tyr Leu Asp Met  
 1 5 10 15  
 Val Val Asn Glu Thr Leu Arg Leu Phe Pro Ile Ala Met Arg Leu Glu  
 20 25 30

Arg Val Cys Lys Lys Asp Val Glu Ile Asn Gly Met Phe Ile Pro Lys  
           35                          40                          45  
 Gly Trp Val Val Met Ile Pro Ser Tyr Ala Leu His Arg Asp Pro Lys  
           50                          55                          60  
 Tyr Trp Xaa Glu Pro Glu Lys Phe Leu Pro Glu  
           65                          70                          75

<210> 140

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 140

ccagtatgag ttgttctctg g

21

<210> 141

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 141

aggcagaata tgcttgaacc aggc

24

<210> 142

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial  
 sequence

<400> 142

gaagtggacg tggaaccttc ctggac

26

<210> 143

<211> 304

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 143

agtctggcct cctgggttgg gctccagctg tagaataagg ctgttgatgt ttaatcaact 60

ctgttttttt cacacagctt ttatgatggt caacagcctg tgctggctat cacagatcct 120

gacatgatca aaacagtgct agtgaagaa tgttattctg tcttcacaaa ccggagggta 180

agcattcatg tgttgaaatt aaaatactga ttgattaaat ttatattttg aaattcttat 240

atattcatag acagttgcct aaaaaatgtc caggaagggt ccacgtccac ttcacacctgt 300  
 cccc 304

<210> 144  
 <211> 236  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (62)..(175)

<220>  
 <221> intron  
 <222> (1)..(61)

<220>  
 <221> intron  
 <222> (176)..(236)

<220>  
 <221> exon  
 <222> (62)..(175)

<400> 144  
 ctacaaccat ggagacctcc acaactgatg taggacaaaa tgtttctgct ttgaacteta 60  
 g cct ttt ggt cca gtg gga ttt atg aaa agt gcc atc tct ata gct gag 109  
 Pro Phe Gly Pro Val Gly Phe Met Lys Ser Ala Ile Ser Ile Ala Glu  
 1 5 10 15  
 gat gaa gaa tgg aag aga tta caa tca ttg ctg tct cca acc ttc acc 157  
 Asp Glu Glu Trp Lys Arg Leu Gln Ser Leu Leu Ser Pro Thr Phe Thr  
 20 25 30  
 agt gga aaa ctc aag gag gtatgaaaat aacatgagtt ttaataagaa 205  
 Ser Gly Lys Leu Lys Glu  
 35  
 acttaaagaa tgaatctggt ggggacaggt a 236

<210> 145  
 <211> 38  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 145  
 Pro Phe Gly Pro Val Gly Phe Met Lys Ser Ala Ile Ser Ile Ala Glu  
 1 5 10 15  
 Asp Glu Glu Trp Lys Arg Leu Gln Ser Leu Leu Ser Pro Thr Phe Thr  
 20 25 30  
 Ser Gly Lys Leu Lys Glu  
 35

<210> 146  
 <211> 379  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (188)..(274)

<400> 146  
 ccctttccaa ggggtagtcc actgaatttg agctgcctaa aaatggtctt ttatctttat 60  
 gtacagaaaa cacatcacia aattcattat aaaatgtcac ttactgctcc atgctgggga 120  
 aagccatgtc cttctgggac tagagtctgc acatttaact atgggtgggtg ttgtgttttg 180  
 tgcttag atg gtc cct atc att gcc cag tat gga gat gtg ttg gtg aga 229  
           Met Val Pro Ile Ile Ala Gln Tyr Gly Asp Val Leu Val Arg  
           1                  5                          10  
 aat ctg agg cgg gaa gca gag aca ggc aag cct atc acc ttg aaa 274  
 Asn Leu Arg Arg Glu Ala Glu Thr Gly Lys Pro Ile Thr Leu Lys  
           15                  20                          25  
 gagtaagtag aagcgcagcc atggggttct gagctgtcat gaacccctcc agctgcctgc 334  
 catggagctg atattcctgc tgttgggtta ttccagtgc cagac 379

<210> 147  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 147  
 Met Val Pro Ile Ile Ala Gln Tyr Gly Asp Val Leu Val Arg Asn Leu  
           1                  5                          10                          15  
 Arg Arg Glu Ala Glu Thr Gly Lys Pro Ile Thr Leu Lys  
                   20                          25

<210> 148  
 <211> 379  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (188)..(274)

<400> 148  
 ccctttccaa ggggtagtcc actgaatttg agctgcctaa aaatggtctt ttatctttat 60  
 gtacagaaaa cacatcacia aattcattat aaaatgtcac ttactgctcc atgctgggga 120  
 aagccatgtc cttctgggac tagagtctgc acatttaact atgggtgggtg ttgtgttttg 180  
 tgcttag atg gtc cct atc att gcc cag tat gga gat gtg ttg gtg aga 229  
           Met Val Pro Ile Ile Ala Gln Tyr Gly Asp Val Leu Val Arg  
           1                  5                          10

aat ctg agg cgg gaa gca gag aca ggc aag cct gtc acc ttg aaa 274  
 Asn Leu Arg Arg Glu Ala Glu Thr Gly Lys Pro Val Thr Leu Lys  
 15 20 25

cagtaagtag aagggcagcc atggggttct gagctgtcat gaacccctcc agctgcctgc 334

catggagctg atattcctgc tgttgggtta ttccagtgc cagac 379

<210> 149

<211> 29

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 149

Met Val Pro Ile Ile Ala Gln Tyr Gly Asp Val Leu Val Arg Asn Leu  
 1 5 10 15

Arg Arg Glu Ala Glu Thr Gly Lys Pro Val Thr Leu Lys  
 20 25

<210> 150

<211> 379

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 150

ccctttccaa ggggtagtcc actgaatttg agctgcctaa aaatggctct ttatctttat 60  
 gtacagaaaa cacatcacia aattcattat aaaatgtcac ttactgctcc atgctgggga 120  
 aagccatgtc cttctgggac tagagtctgc acatttaact atgggtggtg ttgtgttttg 180  
 tgcttagatg gtccctatca ttgccagta tggagatgtg ttggtgagaa atctgaggcg 240  
 ggaagcagag acaggcaagc ctgtcacctt gaaagagtaa gtagaagcgc agctatgggg 300  
 ttctgagctg tcatgaacct ctccagctgc ctgccatgga gctgatattc ctgctgtttg 360  
 gttattccag tgaccagac 379

<210> 151

<211> 379

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 151

ccctttccaa ggggtagtcc actgaatttg agctgcctaa aaatggctct ttatctttat 60  
 gtacagaaaa cacatcacia aattcattat aaaatgtcac ttactgctcc atgctgggga 120  
 aagccatgtc cttctgggac tagagtctgc acatttaact atgggtggtg ttgtgttttg 180  
 tgcttagatg gtccctatca ttgccagta tggagatgtg ttggtgagaa atctgaggcg 240  
 ggaagcagag acaggcaagc ctgtcacctt gaaagagtaa gtagaagcgc agccatgggt 300  
 ttctgagctg tcatgaacct ctccagctgc ctgccatgga gctgatattc ctgctgtttg 360  
 gttattccag tgaccagac 379

<210> 152

<211> 379

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 152

ccctttccaa ggggtagtcc actgaatttg agctgcctaa aaatggctct ttatctttat 60  
 gtacagaaaa cacatcacia aattcattat aaaatgtcac ttactgctcc atgctgggga 120  
 aagccatgtc cttctgggac tagagtctgc acatttaact atgggtggtg ttgtgttttg 180  
 tgcttagatg gtccctatca ttgccagta tggagatgtg ttggtgagaa atctgaggcg 240

ggaagcagag acaggcaagc ctgtcacctt gaaagagtaa gtagaagcgc agccatgggg 300  
 ttctgagctg tcatgaaccc ctccagcggc ctgccatgga gctgatattc ctgctgttgg 360  
 gttattccag tgaccagac 379

<210> 153  
 <211> 431  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<400> 153  
 cccagtgtac ctctgaattg cttttctatt cttttccctt agggatttga gggcttcaact 60  
 tagatctctc ttcattctaaa ctgtgatgcc ctacattgat ctgatttacc taaaatgtct 120  
 ttcctctcct ttcagctctg tccgatctgg agctcgtggc ccaatcaatt atctttattt 180  
 ttgctggcta tgaaccacag agcagtgttc tctccttcat tatgtatgaa ctggccactc 240  
 accctgatgt ccagcagaaa ctgcaggagg aaattgatgc agttttacc aataagggtga 300  
 gtggatgata catggagaag gagggaggag gtgaaacctt agcaaaaatg cctcctcacc 360  
 acttcccagg agaattttta taaaagcat aatcactgat tctttcactg actctatgta 420  
 ggaaggctct g 431

<210> 154  
 <211> 574  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (110)..(334)

<400> 154  
 cagtatgagt tagtctctgg agctcctaact acttcattag tactgcatgg actgagttaa 60  
 aagttaattc aaaatctcaa tttatccaaa tctgtttcgt tctttccag gca cca ccc 118  
 Ala Pro Pro  
 1

acc tat gat act gtg cta cag atg gag tat ctt gac atg gtg gtg aat 166  
 Thr Tyr Asp Thr Val Leu Gln Met Glu Tyr Leu Asp Met Val Val Asn  
 5 10 15

gaa atg ctg aga tta ttc cca att gct atg aga ctt gag agg gtc tgc 214  
 Glu Met Leu Arg Leu Phe Pro Ile Ala Met Arg Leu Glu Arg Val Cys  
 20 25 30 35

aaa aaa gat gtt gag atc aat ggg atg ttc att ccc aaa ggg gtg gtg 262  
 Lys Lys Asp Val Glu Ile Asn Gly Met Phe Ile Pro Lys Gly Val Val  
 40 45 50

gtg atg att cca agc tat gct ctt cac cgt gac cca aag tac tgg aca 310  
 Val Met Ile Pro Ser Tyr Ala Leu His Arg Asp Pro Lys Tyr Trp Thr  
 55 60 65

gag cct gag aag ttc ctg cct gaa aggtacaagg ccctgggaa gggagccctc 364  
 Glu Pro Glu Lys Phe Leu Pro Glu  
 70 75

cctgaaccag cctggttcaa gcatattctg cctctcttaa tctacaggac agtcatgtgg 424

ttgtataatt atttgcttgt atttttatat ttagagattt ttttaattcat caaattgatt 484

attgtcacac ttacaaacc atagactaga aaaaagaaaa ctacagtcat ccacaattcc 544

aacaacttac gatgaaggtc atcagttatg

574

<210> 155  
<211> 75  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 155  
Ala Pro Pro Thr Tyr Asp Thr Val Leu Gln Met Glu Tyr Leu Asp Met  
1 5 10 15  
Val Val Asn Glu Met Leu Arg Leu Phe Pro Ile Ala Met Arg Leu Glu  
20 25 30  
Arg Val Cys Lys Lys Asp Val Glu Ile Asn Gly Met Phe Ile Pro Lys  
35 40 45  
Gly Val Val Val Met Ile Pro Ser Tyr Ala Leu His Arg Asp Pro Lys  
50 55 60  
Tyr Trp Thr Glu Pro Glu Lys Phe Leu Pro Glu  
65 70 75

<210> 156  
<211> 574  
<212> DNA  
<213> Homo sapiens

<400> 156  
cagtatgagt tagtctctgg agctcctaact acttcattag tactgcatgg actgagttaa 60  
aagttaattc aaaatctcaa tttatccaaa tctgtttcgt tctttccagg caccacccac 120  
ctatgatact gtgctacaga tggagtatct tgacatggtg gtgaatgaaa cactcagatt 180  
attccaatt gctatgagac ttgagagggt ctgcaaaaaa gatggttgaga tcaatgggat 240  
gttcattccc aaaggggtgg tggatgatgat tccaagctat gctcttcacc gtgacccaaa 300  
gtactggaca gagcctgaga agttcctccc tgaaaggtag aaggcccctg ggaaggggagc 360  
cctccctgaa ccagcctggt tcaagcatat tctgcctctc ttaatctaca ggacagtcac 420  
gtggttgat aattatttgc ttgtattttt atatttagag atttttttaa tcatcaaat 480  
gattattgtc acactttaca aacctatagac tagaaaaaag aaaactacag tcatccaaa 540  
ttccaacaac ttacgatgaa ggatcatgag tatg 574

<210> 157  
<211> 574  
<212> DNA  
<213> Homo sapiens

<220>  
<221> CDS  
<222> (110)..(334)

<400> 157  
cagtatgagt tagtctctgg agctcctaact acttcattag tactgcatgg actgagttaa 60  
aagttaattc aaaatctcaa tttatccaaa tctgtttcgt tctttccagg gca cca ccc 118  
Ala Pro Pro  
1  
acc tat gat act gtg cta cag atg gag tat ctt gac atg gtg gtg aat 166  
Thr Tyr Asp Thr Val Leu Gln Met Glu Tyr Leu Asp Met Val Val Asn  
5 10 15

gaa acg ctc aga tta ttc cca att gct atg aga ttt gag agg gtc tgc 214  
 Glu Thr Leu Arg Leu Phe Pro Ile Ala Met Arg Phe Glu Arg Val Cys  
 20 25 30 35

aaa aaa gat gtt gag atc aat ggg atg ttc att ccc aaa ggg gtg gtg 262  
 Lys Lys Asp Val Glu Ile Asn Gly Met Phe Ile Pro Lys Gly Val Val  
 40 45 50

gtg atg att cca agc tat gct ctt cac cgt gac cca aag tac tgg aca 310  
 Val Met Ile Pro Ser Tyr Ala Leu His Arg Asp Pro Lys Tyr Trp Thr  
 55 60 65

gag cct gag aag ttc ctc cct gaa aggtacaagg ccctctggaa gggagccctc 364  
 Glu Pro Glu Lys Phe Leu Pro Glu  
 70 75

cctgaaccag cctggttcaa gcatattctg cctctcttaa tctacaggac agtcatgtgg 424

ttgtataatt atttgcttgt atttttatat ttagagattt ttttaatcat caaattgatt 484

attgtcacac ttacaaaacc atagactaga aaaaagaaaa ctacagtcac ccacaattcc 544

aacaacttac gatgaaggtc atcagttatg 574

<210> 158

<211> 75

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 158

Ala Pro Pro Thr Tyr Asp Thr Val Leu Gln Met Glu Tyr Leu Asp Met  
 1 5 10 15

Val Val Asn Glu Thr Leu Arg Leu Phe Pro Ile Ala Met Arg Phe Glu  
 20 25 30

Arg Val Cys Lys Lys Asp Val Glu Ile Asn Gly Met Phe Ile Pro Lys  
 35 40 45

Gly Val Val Val Met Ile Pro Ser Tyr Ala Leu His Arg Asp Pro Lys  
 50 55 60

Tyr Trp Thr Glu Pro Glu Lys Phe Leu Pro Glu  
 65 70 75

<210> 159

<211> 574

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (110)..(334)

<400> 159

cagtatgagt tagtctctgg agctcctaact acttcattag tactgcatgg actgagttaa 60

aagttaattc aaaatctcaa tttatccaaa tctgtttcgt tctttccag gca cca ccc 118  
 Ala Pro Pro

1

acc tat gat act gtg cta cag atg gag tat ctt gac atg gtg gtg aat 166  
 Thr Tyr Asp Thr Val Leu Gln Met Glu Tyr Leu Asp Met Val Val Asn  
           5                          10                          15

gaa acg ctc aga tta ttc cca att gct atg aga ctt gag agg gtc tgc 214  
 Glu Thr Leu Arg Leu Phe Pro Ile Ala Met Arg Leu Glu Arg Val Cys  
       20                          25                          30                          35

aaa aaa gat gtt gag atc aat ggg atg ttc att ccc aaa ggg gtg gtg 262  
 Lys Lys Asp Val Glu Ile Asn Gly Met Phe Ile Pro Lys Gly Val Val  
                           40                          45                          50

gtg atg att cca agc tat gct ctt cac cgt gac cca aag tac tgg aca 310  
 Val Met Ile Pro Ser Tyr Ala Leu His Arg Asp Pro Lys Tyr Trp Thr  
                           55                          60                          65

gag cct gag aag ttc ctc ctt gaa aggtacaagg ccctctggaa gggagcctc 364  
 Glu Pro Glu Lys Phe Leu Leu Glu  
                           70                          75

cctgaaccag cctggttcaa gcatattctg cctctcttaa tctacaggac agtcatgtgg 424

ttgtataatt attgcttgt atttttatat ttagagattt ttttaatcat caaattgatt 484

attgtcacac ttacaaacc atagactaga aaaaagaaaa ctacagtcac ccacaattcc 544

aacaacttac gatgaaggtc atcagttatg 574

<210> 160

<211> 75

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 160

Ala Pro Pro Thr Tyr Asp Thr Val Leu Gln Met Glu Tyr Leu Asp Met  
       1                          5                          10                          15

Val Val Asn Glu Thr Leu Arg Leu Phe Pro Ile Ala Met Arg Leu Glu  
           20                          25                          30

Arg Val Cys Lys Lys Asp Val Glu Ile Asn Gly Met Phe Ile Pro Lys  
       35                          40                          45

Gly Val Val Val Met Ile Pro Ser Tyr Ala Leu His Arg Asp Pro Lys  
       50                          55                          60

Tyr Trp Thr Glu Pro Glu Lys Phe Leu Leu Glu  
       65                          70                          75

<210> 161

<211> 574

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 161

cagtatgagt tagtctctgg agctcctaact acttcattag tactgcatgg actgagttaa 60  
 aagttaattc aaaatctcaa tttatccaaa tctgtttcgt tctttccagg caccacccac 120  
 ctatgatact gtgctacaga tggagtatct tgacatggtg gtgaatgaaa cgctcagatt 180

```

attccaatt gctatgagac ttgagagggt ctgcaaaaaa gatgttgaga tcaatgggat 240
gttcattccc aaaggggtgg tggatgatgat tccaagctat gctcttcacc gtgacccaaa 300
gtactggaca gagcctgaga agttcctccc tgaaggttac aaggctcctg ggaagggagc 360
cctccctgaa ccagcctggg tcaagcatal tctgcctctc ttaatctaca ggacagtcac 420
gtgggttgat aattatttgc ttgtattttt atatttagag atttttttaa tcatcaaatt 480
gattattgtc acactttaca aaccatagac tagaaaaaag aaaactacag tcatccacaa 540
ttccaacaac ttacgatgaa ggtcatcagt tatg 574

```

<210> 162  
 <211> 411  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

```

<400> 162
cctgtgtact actagttgag ggggtggcccc taagtaagaa accctaacat gtaactctta 60
ggggattat gtcattaact ttttaaaaat ctaccaatgt ggaaccagat tcagcaagaa 120
gaacaaggac aacatagatc cttacatata cacacccttt ggaagtggac ccagaaactg 180
cattggcatg aggtttgctc tcatgaacat gaaacttgct ctaatcagag tccttcagaa 240
cttctccttc aaaccttgta aagaaacaca ggtagtcaa ttttctataa aaataatgtt 300
gtattaataa ttcttttaac tgagtgtct gtatttttta aaaagaatat gcttgtttaa 360
tcttttacta atttgttctc tgggccaaag aatcaattag gcccatctgt g 411

```

<210> 163  
 <211> 288  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

```

<400> 163
ggagtgtctc actcactttg atgctatact ttctactttt gtttatttaa tgcttctcaa 60
tatgcttggt taactgttgc agatccccct gaaattaagc ttaggaggac ttcttcaacc 120
agaaaaaccc gttgttctaa aggttgagtc aagggatggc actgtaagtg gagcctgaat 180
tttctaaagg acttctgctt tgctcttcaa gaaatctgtg cctgagaaca ccagagacct 240
caaattactt tgtgaataga actctgaaat gaagatgggc ttcatcca 288

```

<210> 164  
 <211> 288  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

```

<400> 164
ggagtgtctc actcactttg atgctatact ttctactttt gtttatttaa tgcttctcaa 60
tatgcttggt taactgttgc agatccccct gaaattaagc ttaggaggac ttcttcaacc 120
agaaaaaccc gttgttctaa aggttgagtc aagggatggc accgtaagtg gagcctgaat 180
tttctaaagg acttctgctt tgctcttcaa gaaatctgtg cctgagaaca ccagagacct 240
caaattactt tgtgaataga actctgaaat gaagatgggc ttcatcca 288

```

<210> 165  
 <211> 236  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <223> r=g or a

```

<400> 165
ctacaacctt ggagacctcc acaactgatg taggacaaaa tgtttctgct ttgaactcta 60
gccttttggt ccagtgggat ttatgaaaag tgccatctct atagctgagg atgaagaatg 120
gaagagatta cratcattgc tgtctccaac cttcaccagt ggaaaactca aggaggtatg 180
aaaataacat gagttttaa aagaaaactta aagaatcaat ctatgtggga caggta 236

```

<210> 166  
 <211> 379  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <223> r=g or a, y=t or c, s=g or c, k=g or t

<400> 166  
 ccctttccaa ggggtagtcc actgaatttg agctgcctaa aaatggtctt ttatctttat 60  
 gtacagaaaa cacatcacia aattcattat aaaatgtcac ttactgctcc atgctgggga 120  
 aagccatgtc cttctgggac tagagtctgc acatttaact atgggtggg tttgtttttg 180  
 tgcttagatg gtccctatca ttgccagta tggagatgtg ttggtgagaa atctgaggcg 240  
 ggaagcagag acaggcaagc ctrtcacctt gaaasagtaa gtagaagcgc agcyatgggk 300  
 ttctgagctg tcatgaacce ctccagckgc ctgccatgga gctgatattc ctgctgtttg 360  
 gttattccag tgaccagac 379

<210> 167  
 <211> 431  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <223> r=g or a

<400> 167  
 ccagtgtagt ctctgaattg cttttctatt cttttccctt agggatttga gggcttcact 60  
 tagattttctc ttcattctaaa ctgtgatgcc ctacattgat ctgatttacc taaaatgtct 120  
 ttctctctctc ttcagctctg tccgatctgg agctcgtggc ccaatcaatt atctttattt 180  
 ttgctgggcta tgaaccacg agcagtgctc tctccttcat tatgtatgaa ctggccactc 240  
 accctgatgt ccagcagaaa ctgcaggagg aaattgatgc agttttacc aataagggtga 300  
 gtggatgrta catggagaag gagggaggag gtgaaacctt agcaaaaatg cctcctcacc 360  
 acttcccagg agaattttta taaaagcat aatcactgat tctttcactg actctatgta 420  
 ggaaggctct g 431

<210> 168  
 <211> 574  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <223> y=t or c, r=g, or a

<400> 168  
 cagtatgagt tagtctctgg agctcctaata acttcattag tactgcatgg actgagttaa 60  
 aagttaattc aaaatctcaa tttatccaaa tctgtttcgt tctttccagg caccaccac 120  
 ctatgatact gtgctacaga tggagtatct tgacatgggt gtgaatgaaa yrctcagatt 180  
 attcccaatt gctatgagay ttgagagggt ctgcaaaaaa gatgttgaga tcaatgggat 240  
 gttcattccc aaaggggtgg tggatgatgat tccaagctat gctcttcacc gtgacccaaa 300  
 gtactggaca gagcctgaga agttcctccy tgaaagggtac aaggyccctg ggaaggagc 360  
 cctccctgaa ccagcctggt tcaagcatat tctgcctctc ttaatctaca ggacagtcac 420  
 gtgggtgtgat aattatttgc ttgtattttt atatttagag atttttttaa tcatcaaatt 480  
 gattattgtc aacttttaca aaccatagac tagaaaaaag aaaactacag tcatccaaa 540  
 ttccaacaac ttacgatgaa ggtcatcagt tatg 574

<210> 169  
 <211> 411  
 <212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> y=t or c

<400> 169

```
cctgtgtact actagttgag ggggtggccc taagtaagaa accctaacat gtaactctta 60
gggggtattat gtcattaact ttttaaaaaat ctaccaaygt ggaaccagat tcagcaagaa 120
gaacaaggac aacatagatc cttacatata cacacccttt ggaagtggac ccagaaactg 180
cattggcatg aggtttgctc tcatgaacat gaaacttgct ctaatcagag tccttcagaa 240
cttctccttc aaaccttgta aagaaacaca ggtagtcaa tttctataa aaataatggt 300
gtattaataa ttcttttaac tgagtgtct gtatTTTTTA aaaagaatat gcttgtttaa 360
tcttttacta atttgttctc tgggccaag aatcaattag gcccatctgt g 411
```

<210> 170

<211> 288

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> y=t or c, k=g or t

<400> 170

```
ggagtgtctc actcactttg atgctatact ttctactttt gtttatttaa tgcttctcaa 60
tatgcttggt taactgttgc agatccccct gaaattaagc ttaggaggac ttcttcaacc 120
agaaaaaccc gttgttctaa aggttgagtc aagggatggc acygtaatg gagcctgaat 180
tttctaaagg acttckgctt tgctcttcaa gaaatctgtg cctgagaaca ccagagacct 240
caaattactt tgtgaataga actctgaaat gaagatgggc ttcattcca 288
```

<210> 171

<211> 30

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(30)

<400> 171

```
cct gtc acc ttg aaa cac gtc ttt ggg gcc 30
Pro Val Thr Leu Lys His Val Phe Gly Ala
  1 5 10
```

<210> 172

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 172

```
Pro Val Thr Leu Lys His Val Phe Gly Ala
  1 5 10
```

## 【図面の簡単な説明】

【図1】 遺伝子構成における差異は、薬物治療の有効性および安全性に影響を与える。

【図2】 hPXRによるCYP3A4の最新の制御モデル。

【図3】 (A) ハシモト (Hashimoto)、Eur Biochem 218(1993) 585~95 による参考文献に記述され、本研究によって確認される、CYP3A4遺伝子の構造。

コード領域は黒い長方形として、非コード5'非翻訳領域は斜線を施した長方形として示される。矢先は遺伝子のコード領域のスクリーニングに使用されたオリゴヌクレオチドの位置を表す（オリゴヌクレオチド配列については表2を参照のこと）。(B)エキソンに近接する配列の決定。両側矢印は、PCR法により増幅されたゲノム領域を表す。片側矢印はBACクローンの直接配列決定法により得られた配列を示す。(B)において示されるオリゴヌクレオチドの配列は、表1にて与えられる。

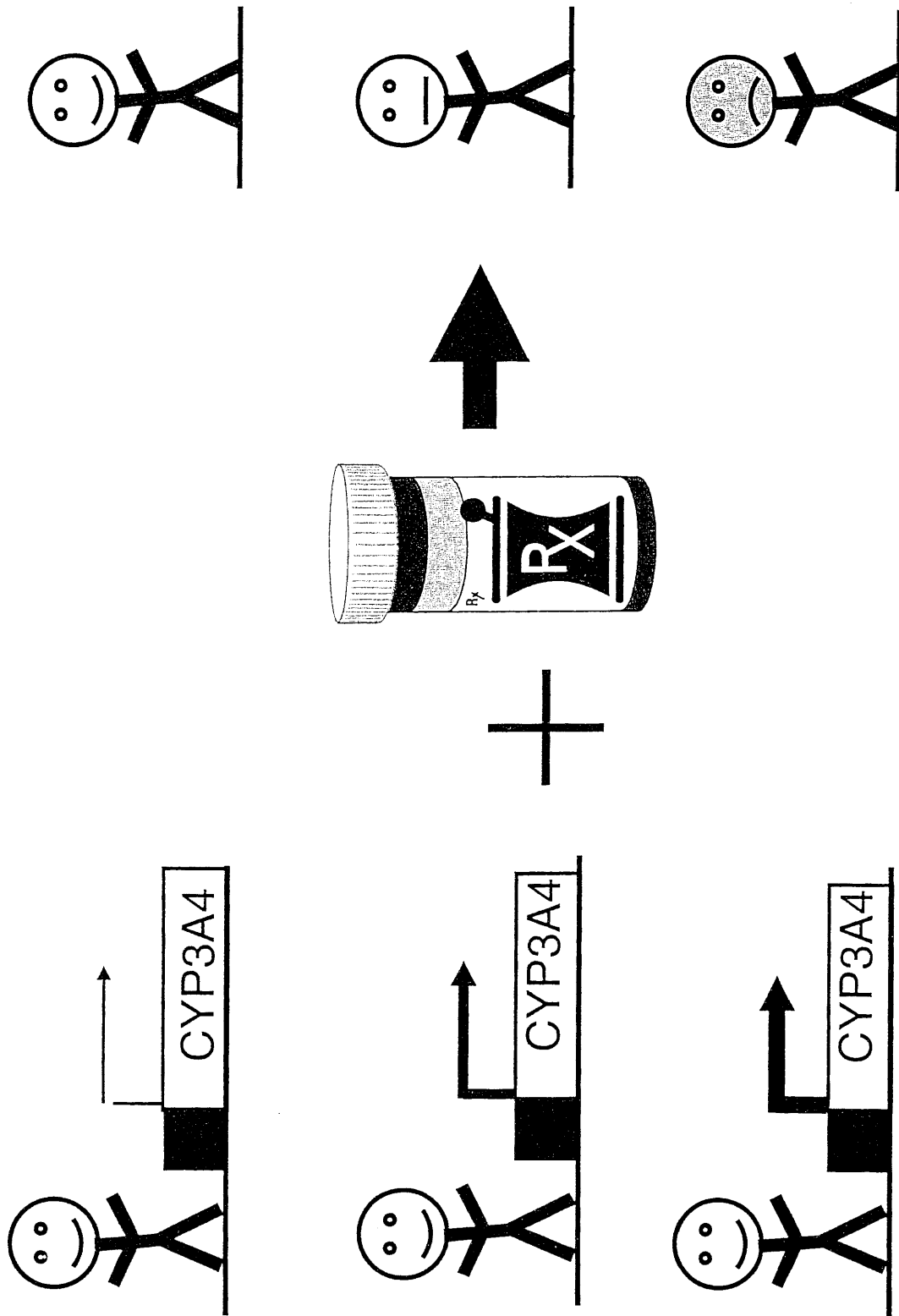
【図4】 CYP3A4遺伝子およびCYP3A7遺伝子における多型の例。CYP3A4のエキソン内の多型部位の番号付けは、ゲンバンク配列M14096に基づく。CYP3A7のエキソン内の多型部位の番号付けは、ゲンバンク配列gi4503232に基づく。

【図5】 CYP3A7エキソン11 C1229G (Thr409Arg) 多型についての酵素試験。(A) 突然変異は、オリゴヌクレオチド3A442Fおよび3A438R (矢先) を用いて増幅されたエキソン11を含有する断片から、独自のAlwNI制限酵素部位を除去する。(B) AlwNI制限酵素切断による、野生型 (wt/wt) およびヘテロ接合体 (wt/C1229G) DNA試料の遺伝子型決定。

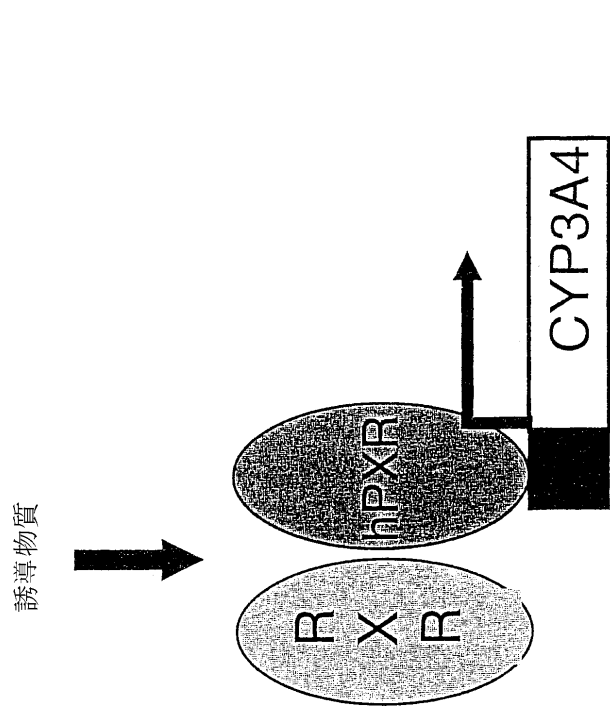
【図6】 CYP3A4遺伝子およびCYP3A7遺伝子における、ゲノム配列および多型。増幅および配列決定法に使用されたプライマー (表1)、およびスプライス部位には下線を引いてある。太下線は多型部位であり、矢印により分けられた、野生型および変異塩基として示される。

【図7】 野生型CYP3A4(3A4)、R130Q(M2)、T363M(M5)、およびP416L(M7)の免疫プロット法。材料および方法に記載の通り、P450 (1pmol) を各レーンに添加し、ニトロセルロースに移行させ、抗3A12 IgGで探索した。

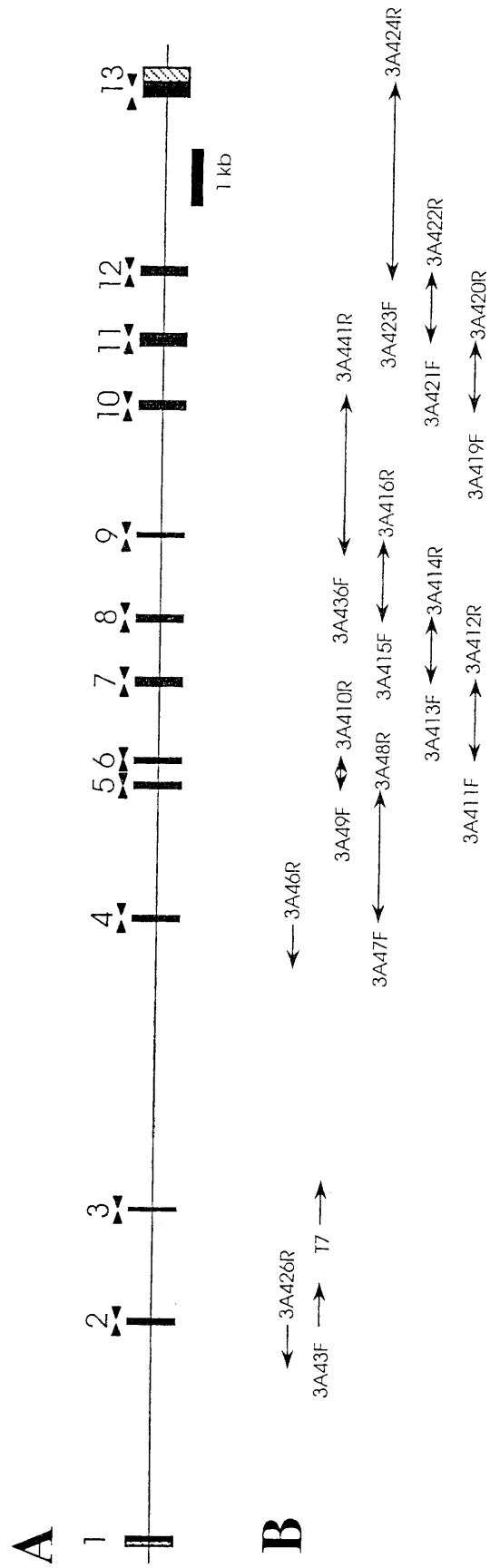
【図1】



【圖2】



【図3】

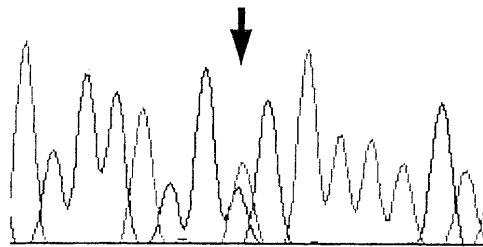


【図4】

CYP3A4 多型

エキソン3 (G6004A; Gly56Asp)

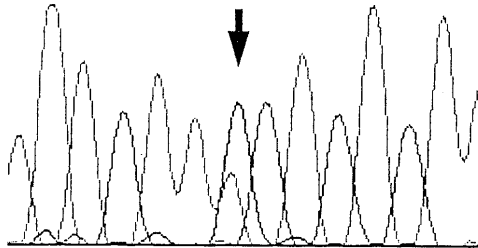
T C C C A G G N C T T T T G T



wt/mut (野生型/突然変異型)  
オリゴヌクレオチド(3A450F) (フォワード配列)

イントロン7 (T→G)

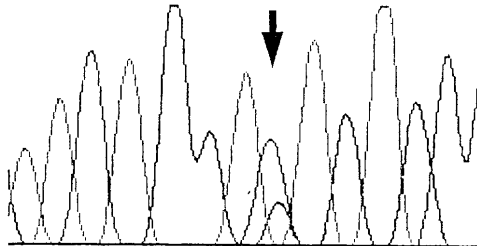
T A T C T T G C T C T C T T



wt/mut (野生型/突然変異型)  
オリゴヌクレオチド3A433F (フォワード配列)

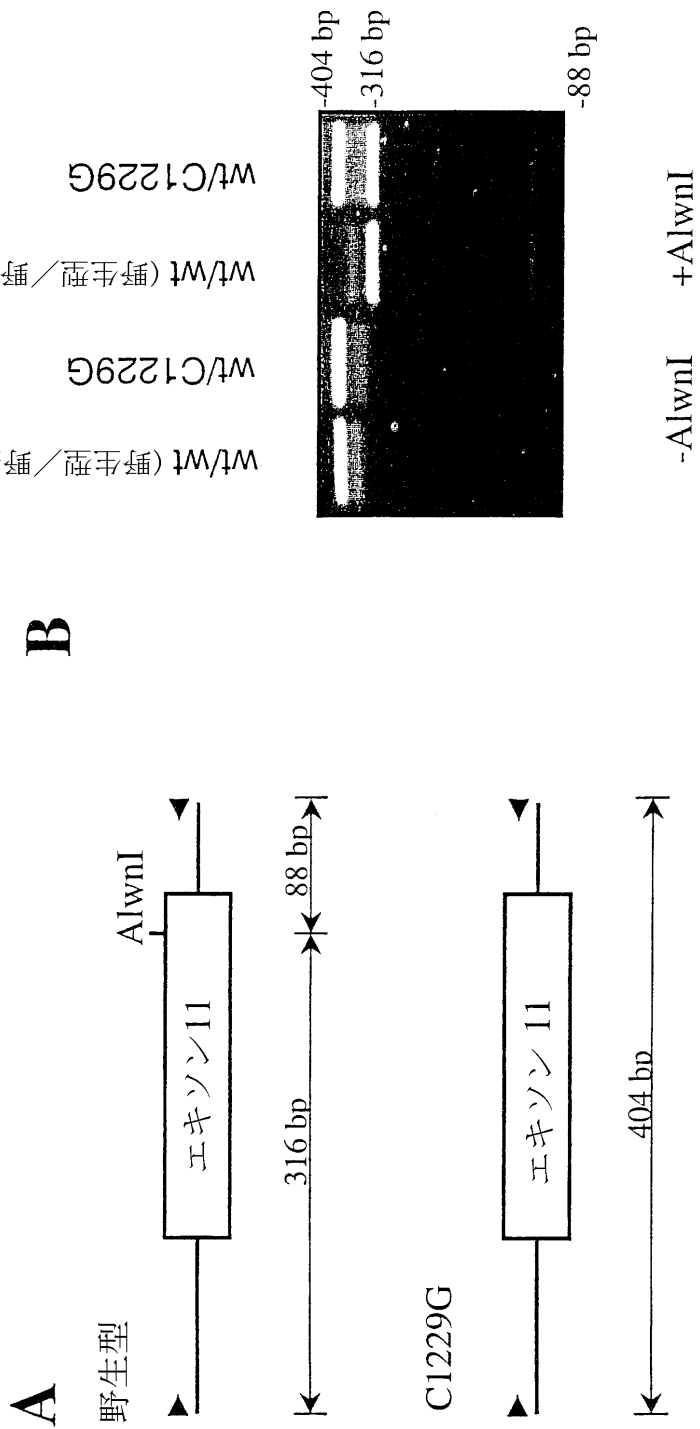
A CYP3A7エキソン11 多型 (C1229G; Thr409Arg)

T A C T G G A C A G A G C C



wt/mut (野生型/突然変異型)  
オリゴヌクレオチド3A742F (フォワード配列)

【図5】



## 【図6】

**CYP3A4**

エキソン3 (g.6004G&gt;A, G56D)

CCTCTAACTGCCAGCAAGTCTGATTTTCATTGGCTTCGACTGTTTTTCAT→CCCCAATTAGAGGCAG  
GGTTAAGTACATTAATAATAATCAAATATTATTTGTTTCTCCTCCCAGGG→ACTTTTGTATGT  
TTGACATGGAATGTCATAAAAAGTATGGAAAAGTGTGGGGGTGAGTATTCTGGAACTTCATT  
GGATAGACTTGTCTATGATGAGTTTACCCCACTGCACAGAGGACAGTCTCAGCCC

エキソン4 (プライマー3A4-52F および3A4-37R)

AGTCTGGCTTCCTGGGTTGGGCTCCAGCTGTAGAATAAGGCTGTTGATGTTTAA  
TCAACTCTGTTTTTTCACACAGCTTTTATGATGGTCAACAGCCTGTGCTGGCTA  
TCACAGATCCTGACATGATCAAACAGTGCTAGTGAAAGAATGTTATTCTGTCT  
TCACAAACCGGAGGGTAAGCATTTCATGTGTTGAAATTAATACTGATTGATTAA  
ATTTATATTTTGAATTCTTATATATTCATAGACAGTTGCCTAAAAAATGTCCAGG  
AAGGTTCCACGTCCACTTC

エキソン5

CTACAACCATGGAGACCTCCACAACCTGATGTAGGACAAAATGTTTCTGCTTTGAA  
CTCTAGCCTTTTGGTCCAGTGGGATTTATGAAAAGTGCCATCTCTATAGCTGAG  
GATGAAGAATGGAAGAGATTACGATCATTGCTGTCTCCAACCTTCACCAGTGG  
AAAACCTCAAGGAGGTATGAAAATAACATGAGTTTTAATAAGAACTTAAAGAATG  
AATCTGGTGGGGACAGGTA

エキソン7 (g.15753T&gt;G)

GTCTGTCTTGACTGGACATGTGGCTTTCCTGATGCACGCATAGAGGAAGGATGG  
TAAAAAGGTGCTGATTTTAATTTCCACATCTTCTCCACTCAGCGTCTTTGGGG  
CCTACAGCATGGATGTGATCACTAGCACATCATTGGAGTGAACATCGACTCT  
CTCAACAATCCACAAGACCCCTTTGTGGAAAACACCAAGAAGCTTTTAAGATT  
TGATTTTTTGGATCCATTCTTCTCTCAATAAGTATGTGGACTACTATTTCCTTTT  
ATTTATCTTT→GCTCTCTTAAAAATAACTGCTTTATTGAGATATAAATCACCATGT  
AATTCATCCACTTAAATATACAGTTCAGTGATTTGTAGTACATTTGAAGATATGT  
GTGACCATCATC

エキソン9

GGAGATCAAGGACCACGCTTGTGATTTACTTCTGACTTCAGGAGCCACTTTCTG  
TCAGTGAAATTTCTCTTTTGGCTTCTAGCACCGAGTGGATTTCTTCAGCTGATG  
ATTGACTCTCAGAATTCAAAAGAACTGAGTCCCACAAAGGTAACCAGAGTGT  
TTCTGAGGGCTACTTGTGGGGCACTCAGAGGGAAGGCCTTGTCTGAAAATGTG  
CAGGAAGTATTCCAGGATGATGAG

**CYP3A7**

エキソン11 (C1229G Thr409Arg 多型)

CCAGTATGAGTTGTTCTCTGGAACCTTCTAACAGTTCAACAGTACTACATGGACTG  
AGTTAAAAGTTAATTCAAAAATCTCAATTTATCCAAATCTGTTTCTTTCTTTTCAGG  
CACCACCCACCTATGATACTGTGCTACAGTTGGAGTATCTTGACATGGTGGTG  
AATGAAACACTCAGATTATTCCCAGTTGCTATGAGACTTGAGAGGGTCTGCAA  
AAAAGATGTTGAAATCAATGGGATGTTTATTCCCAAAGGGGTGGTGGTGTGATGA  
TTCCAAGCTATGTTCTTCATCATGACCCAAAGTACTGGAC→GAGAGCCTGAGA  
AGTTCCTCCCTGAAAGGTAGGAGGCCCTGGGAAGGGAGCCCTCCCTGAACC  
AGCCTGGTTCAAGCATATTCTGCCT

## 【図6-1】

CYP3A4

エキソン4 (プライマー 3A4-52Fおよび3A4-100R)

AGTCTGGCTTCCTGGGTTGGGCTCCAGCTGTAGAATAAGGCTGTTGATGTTTAA  
TCAACTCTGTTTTTTTACACACAGCTTTTATGATGGTCAACAGCCTGTGCTGGCTA  
TCACAGATCCTGACATGATCAAAACAGTGCTAGTGAAAGAATGTTATTCTGTCT  
TCACAAACCGGAGGGTAAGCATTTCATGTGTTGAAATTAATACTGATTGATTAA  
ATTTATATTTTCAAATTCCTTATATATTCATAGACAGTTGCCTAAAAAATGTCCAGG  
AAGTTCCACGTCCACTTCATCCTGTCCCC

エキソン5 (g.13908G&gt;A, R130Q)

CTACAACCATGGAGACCTCCACAACCTGATGTAGGACAAAATGTTTCTGCTTTGAA  
CTCTAGCCTTTTGGTCCAGTGGGATTTATGAAAAGTGCCATCTCTATAGCTGAG  
GATGAAGAATGGAAGAGATTACG→AATCATTGCTGTCTCCAACCTTCACCAGT  
GGAAAACCTCAAGGAGGTATGAAAATAACATGAGTTTTAATAAGAACTTAAAGA  
ATGAATCTGGTGGGGACAGGTA

エキソン6 (g.14292G&gt;A, V170I; g.14304G&gt;C, D174H; g.14323C&gt;T; g.14329G&gt;T; g.14357T&gt;G)

CCCTTTCCAAGGGGTAGTCCACTGAATTTGAGCTGCCTAAAAATGGTCTTTTATC  
TTTATGTACAGAAAACACATCACAAAATTCATTATAAAATGTCACCTACTGCTCCA  
TGCTGGGGAAAGCCATGTCCTTCTGGGACTAGAGTCTGCACATTTAACTATGGG  
TGGTGTGTTGTTTTGTGCTTAGATGGTCCCTATCATTGCCAGTATGGAGATGT  
GTTGGTGAGAAATCTGAGGCGGGAAGCAGAGACAGGCAAGCCTG→ATCACC  
TTGAAAG→CAGTAAGTAGAAGCGCAGCC→TATGGGG→TTTCTGAGCTGTCAT  
GAACCCCTCCAGCT→GGCCTGCCATGGAGCTGATATTCCTGCTGTTGGGTTAT  
TCCAGTGACCAGAC

エキソン10 (g.20230G&gt;A)

CCCAGTGTACCTCTGAATTGCTTTTTCTATTCTTTTCCCTTAGGGATTTGAGGGCT  
TCACTTAGATTTCTCTTCATCTAAACTGTGATGCCCTACATTGATCTGATTTACCT  
AAAATGTCTTTCTCCTCTCCTTTTCAAGCTCTGTCCGATCTGGAGCTCGTGGCCCAAT  
CAATTATCTTTATTTTTGCTGGCTATGAAACCACGAGCAGTGTCTCTCCTTCAT  
TATGTATGAACTGGCCACTCACCTGATGTCCAGCAGAACTGCAGGAGGAA  
ATTGATGCAGTTTTACCCAATAAGGTGAGTGGATGG→ATACATGGAGAAGGAG  
GGAGGAGGTGAAACCTTAGCAAAAATGCCTCCTCACCCTTCCCAGGAGAATTT  
TTATAAAAAGCATAATCACTGATTCTTTCACTGACTCTATGTAGGAAGGCTCTG

エキソン11 (g.21867C&gt;T, T363M; g.21868G&gt;A; g.21896C&gt;T, L373F; g.22026C&gt;T, P416L; g.22041C&gt;T;)

CAGTATGAGTTAGTCTCTGGAGCTCCTAATACTTCATTAGTACTGCATGGACTGA  
GTTAAAAGTTAATTCAAAATCTCAATTTATCCAAATCTGTTTCGTTCTTTCCAGGC  
ACCACCCACCTATGATACTGTGCTACAGATGGAGTATCTTGACATGGTGGTGA  
ATGAAAC→TG→ACTCAGATTATCCCAATTGCTATGAGAC→TTTGAGAGGGT  
CTGCAAAAAGATGTTGAGATCAATGGGATGTTTCATTCCCAAAGGGGTGGTGG  
TGATGATTCCAAGCTATGCTCTTACCGTGACCCAAAGTACTGGACAGAGCCT  
GAGAAGTTCCTCC→TTGAAAGGTACAAGGC→TCCCTGGGAAGGGAGCCCTC

## 【図6-2】

CCTGAACCAGCCTGGTTCAAGCATATTCTGCCTCTCTTAATCTACAGGACAGTCA  
 TGTGGTTGTATAATTATTTGCTTGTATTTTTATATTTAGAGATTTTTTTAATCATCA  
 AATTGATTATTGTCACACTTTACAAACCATAGACTAGAAAAAAGAAAACCTACAGTC  
 ATCCACAATTCCAACAACCTTACGATGAAGGTCATCAGTTATG

## エキソン 12 (g.23081C&gt;T)

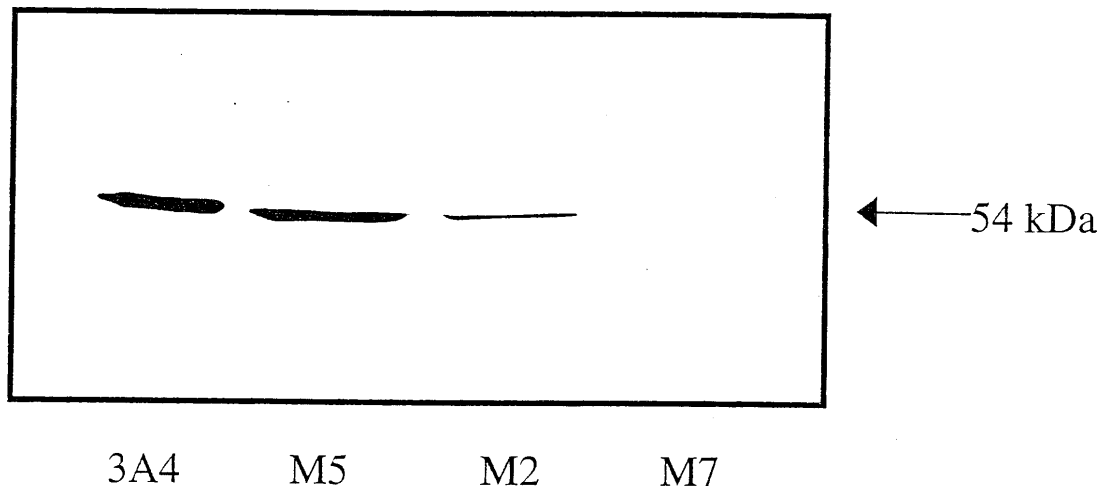
CCTGTGTACTACTAGT7GAGGGGTGGCCCTAAGTAAGAAACCCTAACATGTAA  
 CTCTTAGGGGTATTATGTCATTAACTTTTTAAAAATCTACCAAC→TGTGGAACCA  
GATTCAGCAAGAAGAACAAGGACAACATAGATCCTTACATATACACACCCTTT  
GGAAGTGGACCCAGAAACTGCATTGGCATGAGGTTTGCTCTCATGAACATGAA  
ACTTGCTCTAATCAGAGTCCTTCAGAACTTCTCCTTCAAACCTTGTAAGAAAC  
ACAGGTTAGTCAATTTTCTATAAAAATAATGTTGTATTAATAATTCTTTTAACTGA  
 GTGGTCTGTATTTTTTAAAAAGAATATGCTTGTTTAATCTTTTACTAATTTGTTCTC  
 TGGGCCAAAGAATCAATTAGGCCCATCTGTG

このオリゴヌクレオチドは、イタリック体で示した箇所の遺伝子配列とは異なる遺伝子型決定に用いた

## エキソン 13 (g.25925C&gt;T; g.25958T&gt;G)

GGAGTGTCTCACTCACTTTGATGCTATACTTTCTACTTTTGTTTATTTAATGCTTC  
 TCAATATGCTTGTTTAACTGTTGCAGATCCCCCTGAAATTAAGCTTAGGAGGAC  
TTCTTCAACCAGAAAAACCCGTTGTTCTAAAGGTTGAGTCAAGGGATGGCACC  
 →TGTAAGTGGAGCCTGAATTTTCTAAGGACTTCT→GGCTTTGCTCTTCAAGAA  
 ATCTGTGCCTGAGAACACCAGAGACCTCAAATTACTTTGTGAATAGAACTCTGAA  
 ATGAAGATGGGCTTCATCCA

## 【図7】



【手続補正書】

【提出日】平成14年7月31日(2002.7.31)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0119

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0119】

参考文献

- (1) Daly, Toxicol Lett 102-103 (1998), 143-7
- (2) Touw, Drug Metabol Drug Interact 14 (1997), 55-82
- (3) Thummel, Annu Rev Pharmacol Toxicol 38 (1998), 389-430
- (4) Cholerton, Trends Pharmacol Sci 13 (1992), 434-9
- (5) Ketter, J Clin Psychopharmacol 15 (1995), 387-98
- (6) Forrester, Proc Natl Acad Sci U S A 87 (1990), 8306-10
- (7) Paolini, Nature 398 (1999), 760-1
- (8) Westlind, Biochem Biophys Res Commun 259 (1999), 201-5
- (9) Jounaidi, Biochem Biophys Res Commun 221 (1996), 466-70
- (10) Schuetz, Pharmacogenetics 4 (1994), 11-20
- (11) Hunt, Clin Pharmacol Ther 51 (1992), 18-23
- (12) Kashuba, Clin Pharmacol Ther 64 (1998), 269-77
- (13) Peyronneau, Eur J Biochem 218 (1993), 355-61
- (14) Rebbeck, J Natl Cancer Inst 90 (1998), 1225-9
- (15) Felix, Proc Natl Acad Sci U S A 95 (1998), 13176-81
- (16) He, Biochemistry 36 (1997), 8831-9
- (17) Szklarz, J Comput Aided Mol Des 11 (1997), 265-72
- (18) Harlow, J Biol Chem 272 (1997), 5396-402
- (19) Wang, Biochemistry 37 (1998), 12536-45
- (20) Harlow, Proc Natl Acad Sci U S A 95 (1998), 6636-41
- (21) Domanski, Arch Biochem Biophys 350 (1998), 223-32
- (22) Lehmann, J Clin Invest 102 (1998), 1016-23
- (23) Bertilsson, Proc Natl Acad Sci U S A 95 (1998), 12208-13
- (24) Kliewer, Cell 92 (1998), 73-82
- (25) Pascussi, Biochem Biophys Res Commun 260 (1999), 377-81

**【配列表】**

## SEQUENCE LISTING

<110> Epidaurus Biotechnologie AG

<120> Polymorphisms in the human CYP3A4 and CYP3A7 genes and  
their use in diagnostic and therapeutic applications

<140> JP 2001-523796

<141> 2000-09-01

<150> EP 991 18 120.7

<151> 1999-09-10

<160> 172

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 1

taatagcact cactataggg

20

<210> 2

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 2

gaaccattc acatggac

18

<210> 3

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 3

tgatcatgtc aggatctg

18

<210> 4

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 4

ggccaacagc ctgtgctg

18

<210> 5

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 5

tccactggtg aaggttgg

18

<210> 6

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 6

gtgccatctc tatagctg

18

<210> 7

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 7

cttcccgct cagatttc

18

<210> 8

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 8

gaaatctgag gcgggaag

18

<210> 9

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 9

gggtcttgat gattgttg

18

<210> 10

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 10

caacaatcca caagacct

18

<210> 11

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 11

gtgtatcttc gaggcgac

18

<210> 12

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 12

ctttccattc ctcatccc

18

<210> 13

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 13

cctttgtggg actcagtttc

20

<210> 14

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 14

|  |    |
|--|----|
| gccactcacc ctgatgtc                                  | 18 |
| <210> 15   |    |
| <211> 18   |    |
| <212> DNA  |    |
| <213> Artificial Sequence                            |    |
| <220>  |    |
| <223> Description of Artificial Sequence: artificial |    |
| <400> 15   |    |
| atcaccaccc accctttg                                  | 18 |
| <210> 16   |    |
| <211> 18   |    |
| <212> DNA  |    |
| <213> Artificial Sequence                            |    |
| <220>  |    |
| <223> Description of Artificial Sequence: artificial |    |
| <400> 16   |    |
| caaagggtgg gtggtgat                                  | 18 |
| <210> 17   |    |
| <211> 18   |    |
| <212> DNA  |    |
| <213> Artificial Sequence                            |    |
| <220>  |    |
| <223> Description of Artificial Sequence: artificial |    |
| <400> 17   |    |
| gagagcaaac ctcatgcc                                  | 18 |
| <210> 18   |    |
| <211> 18   |    |
| <212> DNA  |    |
| <213> Artificial Sequence                            |    |

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 18

ggcatgaggt ttgctctc

18

<210> 19

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 19

ggtgccatcc cttgactc

18

<210> 20

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 20

gcagaggtgt gggccctg

18

<210> 21

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 21

ggagatcaag gaccacgctt gtg

23

<210> 22

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 22

cttacgcttc tgccagtagc aacc

24

<210> 23

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 23

aacaggcgtg gaaacacaat

20

<210> 24

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 24

ctttcctgcc ctgcacag

18

<210> 25

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 25  
 aactgcaggc agagcacagg t 21  
 <210> 26  
 <211> 21  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
 <400> 26  
 ccacgcccgg cctgaacatc t 21  
 <210> 27  
 <211> 21  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
 <400> 27  
 taggatccaa tcatctccta c 21  
 <210> 28  
 <211> 18  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence: artificial  
 <400> 28  
 ggtgtctcat ggtggagg 18  
 <210> 29  
 <211> 21  
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 29

agagttagca agagagccct t

21

<210> 30

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 30

cctctaactg ccagcaagtc tg

22

<210> 31

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 31

gcgctgagac tgcctctgt g

21

<210> 32

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 32

agtctggctt cctgggttg gctc

24

<210> 33

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 33

ggggacagga tgaagtggac g

21

<210> 34

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 34

tacaaccatg gagacctcc

19

<210> 35

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 35

tacctgtccc caccagattc

20

<210> 36

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 36

ccctttccaa ggggtagtcc

20

<210> 37

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 37

gtctgtcac tggataacc caacagcagg

30

<210> 38

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 38

gtctgtcttg actggacatg tgg

23

<210> 39

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 39

gatgatggtc acacatatct tc

22

<210> 40

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 40

ggcttcagt tgagaacctt gatgtc

26

<210> 41

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 41

gctctaaaca tgagcagtct tc

22

<210> 42

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 42

ggagatcaag gaccacgctt gtg

23

<210> 43

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 43

|  |    |
|--|----|
| ctcatcatcc tggataactt cctgc                          | 25 |
| <210> 44   |    |
| <211> 21   |    |
| <212> DNA  |    |
| <213> Artificial Sequence                            |    |
| <220>  |    |
| <223> Description of Artificial Sequence: artificial |    |
| <400> 44   |    |
| cccagtgtag ctctgaattg c                              | 21 |
| <210> 45   |    |
| <211> 18   |    |
| <212> DNA  |    |
| <213> Artificial Sequence                            |    |
| <220>  |    |
| <223> Description of Artificial Sequence: artificial |    |
| <400> 45   |    |
| cagagccttc ctacatag                                  | 18 |
| <210> 46   |    |
| <211> 20   |    |
| <212> DNA  |    |
| <213> Artificial Sequence                            |    |
| <220>  |    |
| <223> Description of Artificial Sequence: artificial |    |
| <400> 46   |    |
| cagtatgagt tagtctctgg                                | 20 |
| <210> 47   |    |
| <211> 21   |    |
| <212> DNA  |    |
| <213> Artificial Sequence                            |    |

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 47

cataactgat gaccttcac g

21

<210> 48

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 48

cctgtgtact gctagtagag gg

22

<210> 49

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 49

cacagatggg cctaattg

18

<210> 50

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 50

ggagtgtctc actcactttg atgc

24

<210> 51

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 51

tgatgaagc ccatcttc

18

<210> 52

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 52

tcccagggt tttgt

15

<210> 53

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 53

acaaaagccc tggga

15

<210> 54

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 54  
tcccaggact tttgt 15

<210> 55  
<211> 15  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
<220>  
<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 55  
acaaaagtcc tggga 15

<210> 56  
<211> 14  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
<220>  
<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 56  
tatctttctc tctt 14

<210> 57  
<211> 14  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
<220>  
<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 57  
aagagagaaa gata 14

<210> 58  
<211> 14  
<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 58

tatcttgctc tctt

14

<210> 59

<211> 14

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 59

aagagagcaa gata

14

<210> 60

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 60

attacgatca t

11

<210> 61

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 61

atgatcgtaa t

11

<210> 62

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 62

attacaatca t

11

<210> 63

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 63

atgattgtaa t

11

<210> 64

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 64

agcctgtcac c

11

<210> 65

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 65

ggtgacaggc t

11

<210> 66

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 66

agcctatcac c

11

<210> 67

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 67

ggtgataggc t

11

<210> 68

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 68

tgaaagagta a

11

<210> 69

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 69

ttactctttc a

11

<210> 70

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 70

tgaaacagta a

11

<210> 71

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 71

ttactgtttc a

11

<210> 72

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 72

|  |    |
|--|----|
| gcagccatgg g   | 11 |
| <210> 73   |    |
| <211> 11   |    |
| <212> DNA  |    |
| <213> Artificial Sequence                            |    |
| <220>  |    |
| <223> Description of Artificial Sequence: artificial |    |
| <400> 73   |    |
| cccatggctg c   | 11 |
| <210> 74   |    |
| <211> 11   |    |
| <212> DNA  |    |
| <213> Artificial Sequence                            |    |
| <220>  |    |
| <223> Description of Artificial Sequence: artificial |    |
| <400> 74   |    |
| gcagctatgg g   | 11 |
| <210> 75   |    |
| <211> 11   |    |
| <212> DNA  |    |
| <213> Artificial Sequence                            |    |
| <220>  |    |
| <223> Description of Artificial Sequence: artificial |    |
| <400> 75   |    |
| cccatagctg c   | 11 |
| <210> 76   |    |
| <211> 11   |    |
| <212> DNA  |    |
| <213> Artificial Sequence                            |    |

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 76

atggggttct g

11

<210> 77

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 77

cagaaccca t

11

<210> 78

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 78

atgggttct g

11

<210> 79

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 79

cagaaacca t

11

<210> 80

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 80

ccagctgcct g

11

<210> 81

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 81

caggcagctg g

11

<210> 82

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 82

ccagcggcct g

11

<210> 83

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 83

caggccgctg g

11

<210> 84

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 84

ggatgtaca t

11

<210> 85

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 85

atgtaccatc c

11

<210> 86

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 86

ggatgataca t

11

<210> 87

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 87

atgtatcatc c

11

<210> 88

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 88

tgaaacgctc a

11

<210> 89

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 89

tgagcgtttc a

11

<210> 90

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 90

tgaaatgctc a

11

<210> 91

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 91

tgagcatttc a

11

<210> 92

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 92

gaaacgctca g

11

<210> 93

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 93

ctgagcgttt c

11

<210> 94

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 94

gaaacactca g

11

<210> 95

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 95

ctgagtgttt c

11

<210> 96

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 96

tgagacttga g

11

<210> 97

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 97

ctcaagtctc a

11

<210> 98

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 98

tgagatttga g

11

<210> 99

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 99

ctcaaattctc a

11

<210> 100

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 100

cctccctgaa a

11

<210> 101

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 101

|  |    |
|--|----|
| tttcagggag g   | 11 |
| <210> 102  |    |
| <211> 11   |    |
| <212> DNA  |    |
| <213> Artificial Sequence                            |    |
| <220>  |    |
| <223> Description of Artificial Sequence: artificial |    |
| <400> 102  |    |
| cctccttgaa a   | 11 |
| <210> 103  |    |
| <211> 11   |    |
| <212> DNA  |    |
| <213> Artificial Sequence                            |    |
| <220>  |    |
| <223> Description of Artificial Sequence: artificial |    |
| <400> 103  |    |
| tttcaaggag g   | 11 |
| <210> 104  |    |
| <211> 11   |    |
| <212> DNA  |    |
| <213> Artificial Sequence                            |    |
| <220>  |    |
| <223> Description of Artificial Sequence: artificial |    |
| <400> 104  |    |
| caaggcccct g   | 11 |
| <210> 105  |    |
| <211> 11   |    |
| <212> DNA  |    |
| <213> Artificial Sequence                            |    |

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 105

caggggcctt g

11

<210> 106

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 106

caaggtccct g

11

<210> 107

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 107

cagggacctt g

11

<210> 108

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 108

accaacgtgg a

11

<210> 109

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 109

tccacgttgg t

11

<210> 110

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 110

accaatgtgg a

11

<210> 111

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 111

tccacattgg t

11

<210> 112

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

|  |    |
|--|----|
| <400> 112  |    |
| tgccatgagg t   | 11 |
| <210> 113  |    |
| <211> 11   |    |
| <212> DNA  |    |
| <213> Artificial Sequence                            |    |
| <220>  |    |
| <223> Description of Artificial Sequence: artificial |    |
| <400> 113  |    |
| acctcatgcc a   | 11 |
| <210> 114  |    |
| <211> 11   |    |
| <212> DNA  |    |
| <213> Artificial Sequence                            |    |
| <220>  |    |
| <223> Description of Artificial Sequence: artificial |    |
| <400> 114  |    |
| tgccacgagg t   | 11 |
| <210> 115  |    |
| <211> 11   |    |
| <212> DNA  |    |
| <213> Artificial Sequence                            |    |
| <220>  |    |
| <223> Description of Artificial Sequence: artificial |    |
| <400> 115  |    |
| acctcgtgcc a   | 11 |
| <210> 116  |    |
| <211> 11   |    |
| <212> DNA  |    |

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 116

ggcaccgtaa g

11

<210> 117

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 117

cttacggtgc c

11

<210> 118

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 118

ggcactgtaa g

11

<210> 119

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 119

cttacagtgc c

11

<210> 120

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 120

acttctgctt t

11

<210> 121

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 121

aaagcagaag t

11

<210> 122

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 122

acttcggctt t

11

<210> 123

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 123

aaagccgaag t

11

<210> 124

<211> 13

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 124

tactggacag agc

13

<210> 125

<211> 13

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 125

gctctgtcca gta

13

<210> 126

<211> 13

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 126

tactggagag agc

13

<210> 127

<211> 13

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 127

gctctctcca gta

13

<210> 128

<211> 249

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> intron

<222> (1)..(115)

<220>

<221> exon

<222> (116)..(168)

<220>

<221> intron

<222> (169)..(249)

<220>

<221> CDS

<222> (116)..(166)

<400> 128

cctctaactg ccagcaagtc tgatttcatt ggcttcgact gtttcaycc caattagagg 60

cagggttaag tacattaataa ataataatca aatattattt tgtttctcct cccag grc 118

Xaa

1

ttt tgt atg ttt gac atg gaa tgt cat aaa aag tat gga aaa gtg tgg 166

Phe Cys Met Phe Asp Met Glu Cys His Lys Lys Tyr Gly Lys Val Trp

5

10

15

gggtgagtat tctggaaact tccattggat agacttgttt ctatgatgag ttaccccac 226

tgcacagagg acagtctcag ccc 249

<210> 129

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 129

Xaa Phe Cys Met Phe Asp Met Glu Cys His Lys Lys Tyr Gly Lys Val

1

5

10

15

Trp

<210> 130

<211> 293

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> intron

<222> (1)..(77)

<220>

<221> exon

<222> (78)..(177)

<220>

<221> intron

<222> (178)..(293)

<220>

<221> CDS

<222> (79)..(177)

<400> 130

agtctggcctt cctgggttgg gctccagctg tagaataagg ctgttgatgt ttaatcaact 60  
 ctgttttttt cacacagc ttt tat gat ggt caa cag cct gtg ctg gct atc 111  
                   Phe Tyr Asp Gly Gln Gln Pro Val Leu Ala Ile  
                   1                  5                  10  
 aca gat cct gac atg atc aaa aca gtg cta gtg aaa gaa tgt tat tct 159  
 Thr Asp Pro Asp Met Ile Lys Thr Val Leu Val Lys Glu Cys Tyr Ser  
                   15                  20                  25  
 gtc ttc aca aac cgg agg gtaagcattc atgtgttgaa attaaaatac 207  
 Val Phe Thr Asn Arg Arg  
                   30  
 tgattgatta aatttatatt ttgaaattct tatatattca tagacagttg cctaaaaaat 267  
 gtccaggaag gttccacgtc cacttc 293  
 <210> 131  
 <211> 33  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 131  
 Phe Tyr Asp Gly Gln Gln Pro Val Leu Ala Ile Thr Asp Pro Asp Met  
   1                  5                  10                  15  
 Ile Lys Thr Val Leu Val Lys Glu Cys Tyr Ser Val Phe Thr Asn Arg  
                   20                  25                  30  
 Arg  
  
 <210> 132  
 <211> 236  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <220>  
 <221> intron

<222> (1)..(61)

<220>

<221> exon

<222> (62)..(175)

<220>

<221> intron

<222> (176)..(236)

<220>

<221> CDS

<222> (62)..(175)

<400> 132

ctacaacat ggagacctcc acaactgatg taggacaaaa tgtttctgct ttgaactcta 60

g cct ttt ggt cca gtg gga ttt atg aaa agt gcc atc tct ata gct gag 109

Pro Phe Gly Pro Val Gly Phe Met Lys Ser Ala Ile Ser Ile Ala Glu

1

5

10

15

gat gaa gaa tgg aag aga tta cga tca ttg ctg tct cca acc ttc acc 157

Asp Glu Glu Trp Lys Arg Leu Arg Ser Leu Leu Ser Pro Thr Phe Thr

20

25

30

agt gga aaa ctc aag gag gtatgaaaat aacatgagtt ttaataagaa 205

Ser Gly Lys Leu Lys Glu

35

acttaaagaa tgaatctggt ggggacaggt a 236

<210> 133

<211> 38

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 133

Pro Phe Gly Pro Val Gly Phe Met Lys Ser Ala Ile Ser Ile Ala Glu

1

5

10

15

Asp Glu Glu Trp Lys Arg Leu Arg Ser Leu Leu Ser Pro Thr Phe Thr

20

25

30

Ser Gly Lys Leu Lys Glu

35

<210> 134

<211> 393

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> intron

<222> (1)..(98)

<220>

<221> exon

<222> (99)..(247)

<220>

<221> intron

<222> (248)..(393)

<220>

<221> CDS

<222> (100)..(246)

<400> 134

gtctgtcttg actggacatg tggctttcct gatgcacgca tagaggaagg atggtaaaaa 60

ggtgctgatt ttaattttcc acatctttct ccactcagc gtc ttt ggg gcc tac 114

Val Phe Gly Ala Tyr

1

5

agc atg gat gtg atc act agc aca tca ttt gga gtg aac atc gac tct 162

Ser Met Asp Val Ile Thr Ser Thr Ser Phe Gly Val Asn Ile Asp Ser

10

15

20

ctc aac aat cca caa gac ccc ttt gtg gaa aac acc aag aag ctt tta 210



<221> exon

<222> (83)..(149)

<220>

<221> intron

<222> (150)..(240)

<220>

<221> CDS

<222> (83)..(148)

<400> 136

ggagatcaag gaccacgctt gtgatttact tctgacttca ggagccactt tctgtcagtg 60  
 aaatttctct ttttgcttct ag cac cga gtg gat ttc ctt cag ctg atg att 112  
 His Arg Val Asp Phe Leu Gln Leu Met Ile  
 1 5 10

gac tct cag aat tca aaa gaa act gag tcc cac aaa ggtaaccaga 158  
 Asp Ser Gln Asn Ser Lys Glu Thr Glu Ser His Lys  
 15 20

gtgtttctga gggctacttg tggggcactc agaggaagg ccttgttctg aaaatgtgca 218  
 ggaagtattc caggatgatg ag 240

<210> 137

<211> 22

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 137

His Arg Val Asp Phe Leu Gln Leu Met Ile Asp Ser Gln Asn Ser Lys  
 1 5 10 15  
 Glu Thr Glu Ser His Lys  
 20

<210> 138

<211> 399

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> intron

<222> (1)..(111)

<220>

<221> exon

<222> (112)..(338)

<220>

<221> intron

<222> (339)..(399)

<220>

<221> CDS

<222> (112)..(336)

<400> 138

```

ccagtatgag ttgttctctg gaacttctaa cagttcaaca gtactacatg gactgagtta 60
aaagttaatt caaaaatctc aatttatcca aatctgtttc tttcttttca g gca cca 117
                                     Ala Pro
                                     1
ccc acc tat gat act gtg cta cag atg gag tat ctt gac atg gtg gtg 165
Pro Thr Tyr Asp Thr Val Leu Gln Met Glu Tyr Leu Asp Met Val Val
          5              10              15
aat gaa acg ctc aga tta ttc cca att gct atg aga ctt gag agg gtc 213
Asn Glu Thr Leu Arg Leu Phe Pro Ile Ala Met Arg Leu Glu Arg Val
          20              25              30
tgc aaa aaa gat gtt gag atc aat ggg atg ttc att ccc aaa ggg tgg 261
Cys Lys Lys Asp Val Glu Ile Asn Gly Met Phe Ile Pro Lys Gly Trp
          35              40              45              50
gtg gtg atg att cca agc tat gct ctt cac cgt gac cca aag tac tgg 309

```



<210> 141

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial

<400> 141

aggcagaata tgcttgaacc aggc 24

<210> 142

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: artificial  
sequence

<400> 142

gaagtggacg tggaaccttc ctggac 26

<210> 143

<211> 304

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 143

agtctggcct cctgggttgg gctccagctg tagaataagg ctggtgatgt ttaatcaact 60  
ctgttttttt cacacagctt ttatgatggt caacagcctg tgctggctat cacagatcct 120  
gacatgatca aaacagtgct agtgaaagaa tgttattctg tcttcacaaa ccggagggta 180  
agcattcatg tgttgaaatt aaaactga ttgattaaat ttatattttg aaattcctat 240  
atattcatag acagttgcct aaaaaatgtc caggaagggt ccacgtccac ttcacctgt 300  
cccc 304

<210> 144

<211> 236

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (62)..(175)

<220>

<221> intron

<222> (1)..(61)

<220>

<221> intron

<222> (176)..(236)

<220>

<221> exon

<222> (62)..(175)

<400> 144

```

ctacaacat ggagacctcc acaactgatg taggacaaaa tgtttctgct ttgaactcta 60
g cct ttt ggt cca gtg gga ttt atg aaa agt gcc atc tct ata gct gag 109
  Pro Phe Gly Pro Val Gly Phe Met Lys Ser Ala Ile Ser Ile Ala Glu
    1           5           10           15
gat gaa gaa tgg aag aga tta caa tca ttg ctg tct cca acc ttc acc 157
Asp Glu Glu Trp Lys Arg Leu Gln Ser Leu Leu Ser Pro Thr Phe Thr
          20           25           30
agt gga aaa ctc aag gag gtatgaaaat aacatgagtt ttaataagaa 205
Ser Gly Lys Leu Lys Glu
          35
acttaaagaa tgaatctggt ggggacaggt a 236

```

<210> 145

<211> 38

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 145

Pro Phe Gly Pro Val Gly Phe Met Lys Ser Ala Ile Ser Ile Ala Glu

1 5 10 15

Asp Glu Glu Trp Lys Arg Leu Gln Ser Leu Leu Ser Pro Thr Phe Thr

20 25 30

Ser Gly Lys Leu Lys Glu

35

<210> 146

<211> 379

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (188)..(274)

<400> 146

ccctttccaa ggggtagtcc actgaatttg agctgcctaa aatgggtctt ttatctttat 60

gtacagaaaa cacatcacia aattcattat aaaatgtcac ttactgctcc atgctgggga 120

aagccatgtc cttctgggac tagagtctgc acatttaact atgggtgggtg ttgtgttttg 180

tgcttag atg gtc cct atc att gcc cag tat gga gat gtg ttg gtg aga 229

Met Val Pro Ile Ile Ala Gln Tyr Gly Asp Val Leu Val Arg

1 5 10

aat ctg agg cgg gaa gca gag aca ggc aag cct atc acc ttg aaa 274

Asn Leu Arg Arg Glu Ala Glu Thr Gly Lys Pro Ile Thr Leu Lys

15 20 25

gagtaagtag aagcgcagcc atggggttct gagctgtcat gaaccctcc agctgcctgc 334

catggagctg atattcctgc tgttgggtta ttccagtgc cagac 379

<210> 147

<211> 29

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 147

Met Val Pro Ile Ile Ala Gln Tyr Gly Asp Val Leu Val Arg Asn Leu

1 5 10 15

Arg Arg Glu Ala Glu Thr Gly Lys Pro Ile Thr Leu Lys

20 25

<210> 148

<211> 379

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (188)..(274)

<400> 148

ccctttccaa ggggtagtcc actgaatttg agctgcctaa aatgggtctt ttatctttat 60

gtacagaaaa cacatcacia aattcattat aaaatgtcac ttactgctcc atgctgggga 120

aagccatgtc cttctgggac tagagtctgc acatttaact atgggtgggtg ttgtgttttg 180

tgcttag atg gtc cct atc att gcc cag tat gga gat gtg ttg gtg aga 229

Met Val Pro Ile Ile Ala Gln Tyr Gly Asp Val Leu Val Arg

1 5 10

aat ctg agg cgg gaa gca gag aca ggc aag cct gtc acc ttg aaa 274

Asn Leu Arg Arg Glu Ala Glu Thr Gly Lys Pro Val Thr Leu Lys

15 20 25

cagtaagtag aagcgcagcc atggggttct gagctgtcat gaaccctcc agctgcctgc 334

catggagctg atattcctgc tgttgggtta ttccagtgac cagac 379

<210> 149

<211> 29

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 149

Met Val Pro Ile Ile Ala Gln Tyr Gly Asp Val Leu Val Arg Asn Leu

1

5

10

15

Arg Arg Glu Ala Glu Thr Gly Lys Pro Val Thr Leu Lys

20

25

<210> 150

<211> 379

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 150

ccctttccaa ggggtagtcc actgaatttg agctgcctaa aatggtcctt ttatctttat 60  
gtacagaaaa cacatcacia aattcattat aaaatgtcac ttactgctcc atgctgggga 120  
aagccatgtc cttctgggac tagagtctgc acatttaact atgggtgggtg ttgtgttttg 180  
tgcttagatg gtccctatca ttgccagta tggagatgtg ttggtgagaa atctgaggcg 240  
ggaagcagag acaggcaagc ctgtcacctt gaaagagtaa gtagaagcgc agctatgggg 300  
ttctgagctg tcatgaacct ctccagctgc ctgcatgga gctgatattc ctgctgttgg 360  
gttattccag tgaccagac 379

<210> 151

<211> 379

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 151

ccctttccaa ggggtagtcc actgaatttg agctgcctaa aatggtcctt ttatctttat 60  
gtacagaaaa cacatcacia aattcattat aaaatgtcac ttactgctcc atgctgggga 120  
aagccatgtc cttctgggac tagagtctgc acatttaact atgggtgggtg ttgtgttttg 180  
tgcttagatg gtccctatca ttgccagta tggagatgtg ttggtgagaa atctgaggcg 240  
ggaagcagag acaggcaagc ctgtcacctt gaaagagtaa gtagaagcgc agccatgggt 300

ttctgagctg tcatgaacct ctccagctgc ctgccatgga gctgatattc ctgctgttgg 360  
gttattccag tgaccagac 379

<210> 152

<211> 379

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 152

ccctttccaa ggggtagtcc actgaatttg agctgcctaa aatggtctt ttatctttat 60  
gtacagaaaa cacatcacia aattcattat aaaatgtcac ttactgctcc atgctgggga 120  
aagccatgtc cttctgggac tagagtctgc acatttaact atgggtggtg ttgtgttttg 180  
tgcttagatg gtccctatca ttgccagta tggagatgtg ttggtgagaa atctgaggcg 240  
ggaagcagag acaggcaagc ctgtcacctt gaaagagtaa gtagaagcgc agccatgggg 300  
ttctgagctg tcatgaacct ctccagcggc ctgccatgga gctgatattc ctgctgttgg 360  
gttattccag tgaccagac 379

<210> 153

<211> 431

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 153

cccagtgtac ctctgaattg cttttctatt cttttccctt agggatttga gggcttcact 60  
tagatttctc ttcattctaa ctgtgatgcc ctacattgat ctgatttacc taaaatgtct 120  
ttcctctcct ttcagctctg tccgatctgg agctcgtggc ccaatcaatt atctttatit 180  
ttgctggcta tgaaccacg agcagtgttc tctccttcat tatgtatgaa ctggccactc 240  
accctgatgt ccagcagaaa ctgcaggagg aaattgatgc agttttacc aataagggtga 300  
gtggatgata catggagaag gagggaggag gtgaaacctt agcaaaaatg cctcctcacc 360  
acttcccagg agaatitita taaaagcat aatcactgat tctttcactg actctatgta 420  
ggaaggctct g 431

<210> 154

<211> 574

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (110)..(334)

&lt;400&gt; 154

```

cagtatgagt tagtctctgg agctcctaatacttcattag tactgcatgg actgagttaa 60
aagttaattc aaaatctcaa tttatccaaa tctgtttcgt tctttccag gca cca ccc 118
                                                                 Ala Pro Pro
                                                                 1
acc tat gat act gtg cta cag atg gag tat ctt gac atg gtg gtg aat 166
Thr Tyr Asp Thr Val Leu Gln Met Glu Tyr Leu Asp Met Val Val Asn
      5              10              15
gaa atg ctc aga tta ttc cca att gct atg aga ctt gag agg gtc tgc 214
Glu Met Leu Arg Leu Phe Pro Ile Ala Met Arg Leu Glu Arg Val Cys
      20              25              30              35
aaa aaa gat gtt gag atc aat ggg atg ttc att ccc aaa ggg gtg gtg 262
Lys Lys Asp Val Glu Ile Asn Gly Met Phe Ile Pro Lys Gly Val Val
              40              45              50
gtg atg att cca agc tat gct ctt cac cgt gac cca aag tac tgg aca 310
Val Met Ile Pro Ser Tyr Ala Leu His Arg Asp Pro Lys Tyr Trp Thr
              55              60              65
gag cct gag aag ttc ctc cct gaa aggtacaagg ccctgggaa gggagccctc 364
Glu Pro Glu Lys Phe Leu Pro Glu
              70              75
cctgaaccag cctggttcaa gcatattctg cctctcttaa tctacaggac agtcatgtgg 424
ttgtataatt atttgcttgt atttttatat ttagagattt ttttaatcat caaattgatt 484
attgtcacac tttacaaacc atagactaga aaaagaaaa ctacagtcat ccacaattcc 544
aacaacttac gatgaaggtc atcagttatg                                     574

```

<210> 155

<211> 75

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 155

Ala Pro Pro Thr Tyr Asp Thr Val Leu Gln Met Glu Tyr Leu Asp Met  
 1                    5                    10                    15  
 Val Val Asn Glu Met Leu Arg Leu Phe Pro Ile Ala Met Arg Leu Glu  
                   20                    25                    30  
 Arg Val Cys Lys Lys Asp Val Glu Ile Asn Gly Met Phe Ile Pro Lys  
                   35                    40                    45  
 Gly Val Val Val Met Ile Pro Ser Tyr Ala Leu His Arg Asp Pro Lys  
                   50                    55                    60  
 Tyr Trp Thr Glu Pro Glu Lys Phe Leu Pro Glu  
                   65                    70                    75

<210> 156

<211> 574

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 156

cagtatgagt tagtctctgg agctcctaact acttcattag tactgcatgg actgagttaa 60  
 aagttaattc aaaatctcaa tttatccaaa tctgtttcgt tctttccagg caccaccac 120  
 ctatgatact gtgctacaga tggagtatct tgacatggtg gtgaatgaaa cactcagatt 180  
 attccaatt gctatgagac ttgagagggt ctgcaaaaaa gatgttgaga tcaatgggat 240  
 gttcattccc aaaggggtgg tggatgatgat tccaagctat gctcttcacc gtgacccaaa 300  
 gtactggaca gagcctgaga agttcctccc tgaaggtac aaggcccctg ggaagggagc 360  
 cctccctgaa ccagcctggt tcaagcatat tctgcctctc ttaatctaca ggacagtcac 420  
 gtggttgtat aattatttgc ttgtatTTTT atatttagag atTTTTTaa tcatcaaatt 480  
 gattattgtc acactttaca aaccatagac tagaaaaag aaaactacag tcatccacaa 540

ttccaacaac ttacgatgaa ggtcatcagt tatg 574

<210> 157

<211> 574

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (110)..(334)

<400> 157

cagtatgagt tagtctctgg agctcctaactttcattag tactgcatgg actgagttaa 60  
aagttaattc aaaatctcaa tttatccaaa tctgtttcgt tctttccag gca cca ccc 118

Ala Pro Pro

1

acc tat gat act gtg cta cag atg gag tat ctt gac atg gtg gtg aat 166  
Thr Tyr Asp Thr Val Leu Gln Met Glu Tyr Leu Asp Met Val Val Asn

5

10

15

gaa acg ctc aga tta ttc cca att gct atg aga ttt gag agg gtc tgc 214  
Glu Thr Leu Arg Leu Phe Pro Ile Ala Met Arg Phe Glu Arg Val Cys

20

25

30

35

aaa aaa gat gtt gag atc aat ggg atg ttc att ccc aaa ggg gtg gtg 262  
Lys Lys Asp Val Glu Ile Asn Gly Met Phe Ile Pro Lys Gly Val Val

40

45

50

gtg atg att cca agc tat gct ctt cac cgt gac cca aag tac tgg aca 310  
Val Met Ile Pro Ser Tyr Ala Leu His Arg Asp Pro Lys Tyr Trp Thr

55

60

65

gag cct gag aag ttc ctc cct gaa aggtacaagg ccctgggaa gggagccctc 364  
Glu Pro Glu Lys Phe Leu Pro Glu

70

75

cctgaaccag cctggttcaa gcatattctg cctctcttaa tctacaggac agtcatgtgg 424

ttgtataatt atttgcttgt atttttatat ttagagattt ttttaatcat caaattgatt 484  
 attgtcacac tttacaaacc atagactaga aaaaagaaaa ctacagtcat ccacaattcc 544  
 aacaacttac gatgaaggtc atcagttatg 574

<210> 158

<211> 75

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 158

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Pro | Pro | Thr | Tyr | Asp | Thr | Val | Leu | Gln | Met | Glu | Tyr | Leu | Asp | Met |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Val | Val | Asn | Glu | Thr | Leu | Arg | Leu | Phe | Pro | Ile | Ala | Met | Arg | Phe | Glu |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     |     | 30  |     |
| Arg | Val | Cys | Lys | Lys | Asp | Val | Glu | Ile | Asn | Gly | Met | Phe | Ile | Pro | Lys |
|     |     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     |     | 45  |     |
| Gly | Val | Val | Val | Met | Ile | Pro | Ser | Tyr | Ala | Leu | His | Arg | Asp | Pro | Lys |
|     |     |     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     |     | 60  |     |
| Tyr | Trp | Thr | Glu | Pro | Glu | Lys | Phe | Leu | Pro | Glu |     |     |     |     |     |
|     |     |     | 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     |     | 75  |     |

<210> 159

<211> 574

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (110)..(334)

<400> 159

cagtatgagt tagtctctgg agctcctaactttcattag tactgcatgg actgagttaa 60  
 aagttaattc aaaatctcaa tttatccaaa tctgtttcgt tctttccag gca cca ccc 118

Ala Pro Pro

1

acc tat gat act gtg cta cag atg gag tat ctt gac atg gtg gtg aat 166

Thr Tyr Asp Thr Val Leu Gln Met Glu Tyr Leu Asp Met Val Val Asn

5

10

15

gaa acg ctc aga tta ttc cca att gct atg aga ctt gag agg gtc tgc 214

Glu Thr Leu Arg Leu Phe Pro Ile Ala Met Arg Leu Glu Arg Val Cys

20

25

30

35

aaa aaa gat gtt gag atc aat ggg atg ttc att ccc aaa ggg gtg gtg 262

Lys Lys Asp Val Glu Ile Asn Gly Met Phe Ile Pro Lys Gly Val Val

40

45

50

gtg atg att cca agc tat gct ctt cac cgt gac cca aag tac tgg aca 310

Val Met Ile Pro Ser Tyr Ala Leu His Arg Asp Pro Lys Tyr Trp Thr

55

60

65

gag cct gag aag ttc ctc ctt gaa aggtacaagg ccctgggaa gggagccctc 364

Glu Pro Glu Lys Phe Leu Leu Glu

70

75

cctgaaccag cctggttcaa gcatattctg cctctcttaa tctacaggac agtcatgtgg 424

ttgtataatt atttgcttgt atttttatat ttagagattt ttttaatcat caaattgatt 484

attgtcacac tttacaaacc atagactaga aaaagaaaa ctacagtcat ccacaattcc 544

aacaacttac gatgaaggtc atcagttatg 574

&lt;210&gt; 160

&lt;211&gt; 75

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 160

Ala Pro Pro Thr Tyr Asp Thr Val Leu Gln Met Glu Tyr Leu Asp Met

1

5

10

15

Val Val Asn Glu Thr Leu Arg Leu Phe Pro Ile Ala Met Arg Leu Glu

20

25

30

Arg Val Cys Lys Lys Asp Val Glu Ile Asn Gly Met Phe Ile Pro Lys

35

40

45

Gly Val Val Val Met Ile Pro Ser Tyr Ala Leu His Arg Asp Pro Lys

50

55

60

Tyr Trp Thr Glu Pro Glu Lys Phe Leu Leu Glu

65

70

75

&lt;210&gt; 161

&lt;211&gt; 574

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 161

cagtatgagt tagtctctgg agctcctaact acttcattag tactgcatgg actgagttaa 60  
 aagttaattc aaaatctcaa tttatccaaa tctgtttcgt tctttccagg caccacccac 120  
 ctatgatact gtgctacaga tggagtatct tgacatgggt gtgaatgaaa cgctcagatt 180  
 attccaatt gctatgagac ttgagagggt ctgcaaaaaa gatgttgaga tcaatgggat 240  
 gttcattccc aaaggggtgg tggatgatgat tccaagctat gctcttcacc gtgacccaaa 300  
 gtactggaca gagcctgaga agttcctccc tgaaggtac aaggtccctg ggaagggagc 360  
 cctccctgaa ccagcctggt tcaagcatat tctgcctctc ttaatctaca ggacagtcac 420  
 gtggttgtat aattatttgc ttgtatTTTT atatttagag atTTTTTaa tcatcaaatt 480  
 gattattgtc acactttaca aaccatagac tagaaaaag aaaactacag tcatccacaa 540  
 ttccaacaac ttacgatgaa ggtcatcagt tatg 574

&lt;210&gt; 162

&lt;211&gt; 411

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 162

cctgtgtact actagttgag ggggtggcccc taagtaagaa accctaacat gtaactctta 60  
 ggggtattat gtcattaact ttttaaaaat ctaccaatgt ggaaccagat tcagcaagaa 120  
 gaacaaggac aacatagatc cttacatata cacacccttt ggaagtggac ccagaaactg 180

cattggcatg aggtttgctc tcatgaacat gaaacttgct ctaatcagag tccttcagaa 240  
 cttctccttc aaaccttgta aagaaacaca ggtagtcaa tttctataa aaataatggt 300  
 gtattaataa ttcttttaac tgagtggctt gtatTTTTTA aaaagaatat gcttgtttaa 360  
 tcttttacta atttgttctc tgggccaaag aatcaattag gcccatctgt g 411

<210> 163

<211> 288

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 163

ggagtgtctc actcactttg atgctatact ttctactttt gttatttaa tgcttctcaa 60  
 tatgcttggt taactgttgc agatccccct gaaattaagc ttaggaggac ttcttcaacc 120  
 agaaaaacc gttgttctaa aggttgagtc aagggatggc actgtaagtg gagcctgaat 180  
 tttcctaagg acttctgctt tgctcttcaa gaaatctgtg cctgagaaca ccagagacct 240  
 caaattactt tgtgaataga actctgaaat gaagatgggc ttcattca 288

<210> 164

<211> 288

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 164

ggagtgtctc actcactttg atgctatact ttctactttt gttatttaa tgcttctcaa 60  
 tatgcttggt taactgttgc agatccccct gaaattaagc ttaggaggac ttcttcaacc 120  
 agaaaaacc gttgttctaa aggttgagtc aagggatggc accgtaagtg gagcctgaat 180  
 tttcctaagg acttcggctt tgctcttcaa gaaatctgtg cctgagaaca ccagagacct 240  
 caaattactt tgtgaataga actctgaaat gaagatgggc ttcattca 288

<210> 165

<211> 236

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> r=g or a

<400> 165

ctacaacat ggagacctcc acaactgatg taggacaaaa tgtttctgct ttgaactcta 60  
 gccttttggg ccagtgggat ttatgaaaag tgccatctct atagctgagg atgaagaatg 120  
 gaagagatta cratcattgc tgtctccaac cttcaccagt ggaaaactca aggaggatg 180  
 aaaataacat gaggtttaaat aagaaactta aagaatgaat ctggtgggga caggta 236

<210> 166

<211> 379

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> r=g or a, y=t or c, s=g or c, k=g or t

<400> 166

ccctttccaa ggggtagtcc actgaatttg agctgcctaa aatgggtctt ttatctttat 60  
 gtacagaaaa cacatcacia aattcattat aaaatgtcac ttactgctcc atgctgggga 120  
 aagccatgtc cttctgggac tagagtctgc acatttaact atgggtgggtg ttgtgttttg 180  
 tgcttagatg gtccctatca ttgccagta tggagatgtg ttggtgagaa atctgaggcg 240  
 ggaagcagag acaggcaagc ctrtcacctt gaaasagtaa gtagaagcgc agcyatgggk 300  
 ttctgagctg tcatgaacct ctccagckgc ctgcatgga gctgatattc ctgctgtttg 360  
 gttattccag tgaccagac 379

<210> 167

<211> 431

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> r=g or a

<400> 167

cccagtgtac ctctgaattg cttttctatt cttttccctt agggatttga gggcttcact 60  
 tagatttctc ttcattctaa ctgtgatgcc ctacattgat ctgatttacc taaaatgtct 120

ttctctcct ttcagctctg tccgatctgg agctcgtggc ccaatcaatt atctttatit 180  
 ttgctggcta tgaaccacg agcagtgttc tctccttcat tatgtatgaa ctggccactc 240  
 acctgatgt ccagcagaaa ctgcaggagg aaattgatgc agttttacc aataaggatga 300  
 gtggatgrta catggagaag gagggaggag gtgaaacctt agcaaaaatg cctcctcacc 360  
 acttcccagg agaattttta taaaagcat aatcactgat tctttcactg actctatgta 420  
 ggaaggctct g 431

<210> 168

<211> 574

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> y=t or c, r=g or a

<400> 168

cagtatgagt tagtctctgg agctcctaact acttcattag tactgcatgg actgagttaa 60  
 aagttaatc aaaatctcaa tttatccaaa tctgtttcgt tctttccagg caccacccac 120  
 ctatgatact gtgctacaga tggagtatct tgacatgggt gtgaatgaaa yrctcagatt 180  
 attcccaatt gctatgagay ttgagagggt ctgcaaaaaa gatgttgaga tcaatgggat 240  
 gttcattccc aaaggggtgg tggatgatgat tccaagctat gctcttcacc gtgacccaaa 300  
 gtactggaca gagcctgaga agttcctccy tgaaggtac aaggyccctg ggaagggagc 360  
 cctccctgaa ccagcctggt tcaagcatat tctgcctctc ttaatctaca ggacagtcac 420  
 gtggttgtat aattatttgc ttgtatitit atatttagag atitititaa tcatcaaat 480  
 gattattgtc acactttaca aacctagac tagaaaaag aaaactacag tcatccacaa 540  
 ttccaacaac ttacgatgaa ggtcatcagt tatg 574

<210> 169

<211> 411

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> y=t or c

<400> 169

cctgtgtact actagttgag ggggtggcccc taagtaagaa accctaacat gtaactctta 60  
 ggggtattat gtcattaact ttttaaaaat ctaccaaygt ggaaccagat tcagcaagaa 120  
 gaacaaggac aacatagatc cttacatata cacacccttt ggaagtggac ccagaaactg 180  
 cattggcatg aggtttgctc tcatgaacat gaaacttgct ctaatcagag tccttcagaa 240  
 cttctccttc aaaccttgta aagaaacaca ggtagtcaa ttttctataa aaataatggt 300  
 gtattaataa ttcttttaac tgagtggctt gtatTTTTT aaaagaatat gcttgtttaa 360  
 tcttttacta atttgttctc tgggccaaag aatcaattag gcccatctgt g 411

<210> 170

<211> 288

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> y=t or c, k=g or t

<400> 170

ggagtgtctc actcactttg atgctatact ttctactttt gttatttaa tgcttctcaa 60  
 tatgcttggt taactgttgc agatccccct gaaattaagc ttaggaggac ttcttcaacc 120  
 agaaaaaccg gttgttctaa aggttgagtc aagggatggc acygtaatg gagcctgaat 180  
 tttcctaagg acttckgctt tgctcttcaa gaaatctgtg cctgagaaca ccagagacct 240  
 caaattactt tgtgaataga actctgaaat gaagatgggc ttcacca 288

<210> 171

<211> 30

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(30)

<400> 171

cct gtc acc ttg aaa cac gtc ttt ggg gcc

Pro Val Thr Leu Lys His Val Phe Gly Ala

1 5 10

<210> 172

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 172

Pro Val Thr Leu Lys His Val Phe Gly Ala

1 5 10

**【手続補正2】**

**【補正対象書類名】** 明細書

**【補正対象項目名】** 特許請求の範囲

**【補正方法】** 変更

**【補正の内容】**

**【特許請求の範囲】**

**【請求項1】** 以下からなる群より選択されるポリヌクレオチド：

(a)配列番号：

54, 55, 58, 59, 62, 63, 66, 67, 70, 71, 74, 75, 78, 79, 82, 83, 86, 87,  
90, 91, 94, 95, 98, 99, 102, 103, 106, 107, 110, 111, 118, 119, 122,  
123, 126, 127, 128, 134, 138, 144, 146, 148, 150, 151, 152, 153,  
154, 156, 157, 159, 161, 162, 163, 164または、171

に記載の核酸配列をもつポリヌクレオチド；

(b)配列番号：129、135、139、145、147、155、158、160または172の任意の一つ

のアミノ酸配列をもつポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；

(c)CYP3A4遺伝子（アクセッション番号：AF280107、CYP3A4タンパク質をコードする最初のATGにおけるヌクレオチドAを1位とする）の6004位、13908位、14292位、14304位、14323位、14329位、14357位、15753位、20230位、21867位、21868位、21896位、22026位、22041位、23081位、23172位、25925位または25958位のいずれか一つに対応する位置、またはCYP3A7遺伝子（アクセッション番号：gi45

03232) の1229位に対応する位置で、ヌクレオチド置換、ヌクレオチド欠失、付加的なヌクレオチドまたは、付加的なヌクレオチドおよびヌクレオチド置換をもつポリペプチドであって、23172位に対応する位置におけるヌクレオチド欠失がMからTへのアミノ酸置換を生じないように、またはTからCへのヌクレオチド置換でないような、CYP3A4ポリペプチドまたはCYP3A7ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；

(d)CYP3A4遺伝子(アクセッション番号: AF280107、CYP3A4タンパク質をコードする最初のATGにおけるヌクレオチドAを1位とする)の6004位、13908位、14292位、20230位、または21868位のいずれか一つに対応する位置に一つのAをもつ、CYP3A4遺伝子(アクセッション番号: AF280107、CYP3A4タンパク質をコードする最初のATGにおけるヌクレオチドAを1位とする)の14323位、14329位、21867位、21896位、22026位、22041位、23081位または25925位のいずれか一つに対応する位置に一つのTをもつ、CYP3A4遺伝子(アクセッション番号: AF280107、CYP3A4タンパク質をコードする最初のATGにおけるヌクレオチドAを1位とする)の14357位、15753位、または25958位のいずれか一つに対応する位置に一つのGをもつ、CYP3A4遺伝子(アクセッション番号: AF280107、CYP3A4タンパク質をコードする最初のATGにおけるヌクレオチドAを1位とする)の14304位のいずれか一つに対応する位置に一つのCをもつ、またはCYP3A7遺伝子(アクセッション番号: gi4503232)の1229位に対応する位置に一つのGをもつ、CYP3A4ポリペプチドまたはCYP3A7ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；

(e)CYP3A4ポリペプチド(アクセッション番号: AF280107)の56位、130位、170位、174位、363位、373位、416位または445位のいずれか一つにおけるアミノ酸置換を含み、445位に対応する位置における置換がMからTのものではないCYP3A4ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；および

(f)CYP3A4ポリペプチド(アクセッション番号: AF280107)の56位におけるGからDへの、130位におけるRからQへの、170位におけるVからIへの、174位におけるDからHへの、363位におけるTからMへの、373位におけるLからFへの、もしくは416位におけるPからLへのアミノ酸置換、またはCYP3A7ポリペプチド(アクセッション番号: gi4503232)の409位におけるTからRへの、アミノ酸置換を含む、CYP3A4

ポリペプチドまたはCYP3A7ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド。

【請求項2】 ポリヌクレオチドが変異型CYP3A4タンパク質もしくは変異型CYP3A7タンパク質またはその断片をコードする、請求項1記載のポリヌクレオチド。

【請求項3】 ヌクレオチドの欠失、付加および/または置換により、対応する野生型遺伝子と比較して、変異型CYP3A4遺伝子または変異型CYP3A7遺伝子の発現が変化する、請求項1または2記載のポリヌクレオチド。

【請求項4】 請求項1から3のいずれか一項記載のポリヌクレオチドを含むベクター。

【請求項5】 ポリヌクレオチドが、原核細胞または真核細胞で発現を誘導する発現制御配列に機能的に連結される、請求項4記載のベクター。

【請求項6】 請求項1から3のいずれか一項記載のポリヌクレオチド、または請求項4もしくは5記載のベクターを用いて、遺伝子操作された宿主細胞。

【請求項7】 以下の段階を含む、分子変異型CYP3A4タンパク質もしくは分子変異型CYP3A7タンパク質、またはその断片を生産する方法：

- (a) 請求項6記載の宿主細胞を培養する段階；および
- (b) 該タンパク質または断片を培養物から回収する段階。

【請求項8】 請求項1から3のいずれか一項記載のポリヌクレオチド、または請求項4もしくは5記載のベクターを用いて細胞を遺伝子操作する段階を含む、分子変異型CYP3A4遺伝子または分子変異型CYP3A7遺伝子を発現することが可能な細胞を生産する方法。

【請求項9】 請求項1から3のいずれか一項記載のポリヌクレオチドにコードされる、または請求項7記載の方法により得られる、または請求項8記載の方法により生産される細胞から得られる、CYP3A4タンパク質もしくはCYP3A7タンパク質、またはその断片。

【請求項10】 請求項9記載のタンパク質に特異的に結合する抗体。

【請求項11】 請求項1から3のいずれか1項において定義されるような、一つまたはそれ以上のアミノ酸置換を含むエピトープを特異的に認識する、請求項10記載の抗体。

【請求項12】 請求項1から3のいずれか一つのポリヌクレオチドに相補的な核酸分子。

【請求項13】 請求項12記載の核酸分子を含むベクター。

【請求項14】 請求項1から3のいずれか一項記載の少なくとも一つのポリヌクレオチド、または請求項4もしくは5記載のベクターを含む、トランスジェニック非ヒト動物。

【請求項15】 少なくとも一つの、CYP3A4遺伝子またはCYP3A7遺伝子の不活性化された野生型対立遺伝子をさらに含む、請求項14記載のトランスジェニック非ヒト動物。

【請求項16】 マウスまたはラットである、請求項14もしくは15記載のトランスジェニック非ヒト動物。

【請求項17】 以下の段階を含む、CYP3A4遺伝子もしくはCYP3A7遺伝子またはその遺伝子産物の分子変異の活性を調節することが可能な、CYP3A4阻害剤またはCYP3A7阻害剤を同定および獲得する方法：

(a) 請求項9記載のタンパク質、または請求項1から3のいずれか一項記載のポリヌクレオチドを含む分子変異型CYP3A4遺伝子もしくは分子変異型CYP3A7遺伝子を発現する細胞を、薬物代謝に応答して検出可能なシグナルを提供することが可能な成分の存在下において、CYP3A4またはCYP3A7を介する薬物代謝をさせるような条件下で、スクリーニングされる化合物と接触させる段階、および

(b) 推定上の阻害剤を示唆する、シグナルの存在もしくは不在、または薬物代謝によって生じるシグナルの増加を検出する段階。

【請求項18】 細胞が、請求項8記載の方法によって得られる、または請求項14から16のいずれか一項記載のトランスジェニック非ヒト動物に含まれる、請求項6記載の細胞である、請求項17記載の方法。

【請求項19】 以下の段階を含む、CYP3A4遺伝子もしくはCYP3A7遺伝子またはその遺伝子産物の分子変異の活性を調節することが可能な、CYP3A4阻害剤またはCYP3A7阻害剤を同定および獲得する方法：

(a) CYP3A4タンパク質またはCYP3A7タンパク質と結合し、該タンパク質と第一分子の第一の複合体が形成されることが知られている第一の分子と、請求項9記載

のタンパク質とを接触させる段階；

(b)該第一の複合体とスクリーニングされる化合物とを接触させる段階；および

(c)該化合物が、該第一の分子を該第一の複合体から置換するかどうかを測定する段階。

【請求項20】 測定段階が、タンパク質および化合物の第二の複合体の形成を測定する段階を含む、請求項19記載の方法。

【請求項21】 測定段階が、タンパク質に結合しない第一の分子の量を測定する段階を含む、請求項19または20記載の方法。

【請求項22】 第一の分子がニフェジピン、リファンピシン、またはコルチコステロンである、請求項19から21のいずれか一項記載の方法。

【請求項23】 第一の分子が標識される、請求項19から22のいずれか一項記載の方法。

【請求項24】 以下の段階を含む、CYP3A4遺伝子もしくはCYP3A7遺伝子の分子変異の存在に関連する障害、またはそのような障害への感受性を診断する方法：

(a)被験者からの試料における請求項1から3のいずれか一項記載のポリヌクレオチドの存在を決定する段階；および/または

(b)請求項9記載のタンパク質の存在を決定する段階。

【請求項25】 障害が癌である、請求項24記載の方法。

【請求項26】 PCR法、リガーゼ連鎖反応法、制限酵素切断法、直接配列決定法、核酸増幅技術、ハイブリダイゼーション技術または免疫学的検定法を含む、請求項24または25記載の方法。

【請求項27】 障害をなくすまたは軽減するため、被験者に薬物を投与する段階をさらに含む、請求項24から26のいずれか一項記載の方法。

【請求項28】 (i)機能的および発現可能な野生型CYP3A4遺伝子もしくは野生型CYP3A7遺伝子、または

(ii)請求項12記載の核酸分子、または請求項14記載のベクターを細胞に導入する段階をさらに含む、請求項24から27のいずれか一項記載の方法。

【請求項29】 請求項17から23のいずれか一項記載の方法の段階および以

下の段階を含む薬学的組成物を生産する方法：

(c)段階(b)において同定および獲得される化合物もしくはその誘導体を、薬学的に許容される形態に合成および/または製剤化する段階。

【請求項30】 化合物またはその誘導体が、治療的適用に適した形態で、かつ請求項24または25記載の方法において診断された被験者の障害を予防または改善する薬物またはプロドラッグである、請求項29記載の方法。

【請求項31】 化合物の薬物またはプロドラッグが、請求項28において定義されるような薬物の誘導体である、請求項29または30記載の方法。

【請求項32】 請求項17から23のいずれか一項記載の方法により同定される、または獲得が可能な阻害剤。

【請求項33】 請求項9記載のタンパク質に特異的に結合する請求項32記載の阻害剤。

【請求項34】 請求項1から3のいずれか一項記載のポリヌクレオチドの検出のための、および/または、個々のCYP3A4対立遺伝子またはCYP3A7対立遺伝子の遺伝子型決定のための、オリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドの使用。

【請求項35】 ポリヌクレオチドが請求項1から3のいずれか一項記載のポリヌクレオチド、または請求項12記載の核酸分子である、請求項34記載の使用。

【請求項36】 オリゴヌクレオチドが約15～50ヌクレオチド長であり、配列番号：1～127、140もしくは141のいずれか一つのヌクレオチド配列、または相補的配列を含む、請求項34記載の使用。

【請求項37】 請求項36において定義されるようなオリゴヌクレオチドを含むプライマーまたはプローブ。

【請求項38】 請求項9記載のタンパク質、請求項1から3のいずれか一項記載のポリヌクレオチドを含む分子変異型CYP3A4遺伝子または分子変異型CYP3A7遺伝子の発現を検出するための、および/または、請求項1から3のいずれか一項記載のポリヌクレオチドを含むCYP3A4対立遺伝子を識別するための、CYP3A4遺伝子またはCYP3A7遺伝子の遺伝子産物に特異的に結合することが可能な抗体または物質の使用。

【請求項39】 請求項1から3のいずれか一項記載のポリヌクレオチド、請

求項4もしくは5記載のベクター、請求項6記載の宿主細胞もしくは請求項8記載の方法により得られる宿主細胞、請求項9記載のタンパク質、請求項10または11記載の抗体、請求項12記載の核酸分子、請求項13記載のベクター、請求項32記載の阻害剤、または請求項37記載のプライマーもしくはプローブを含む組成物。

【請求項40】 診断用組成物または薬学的組成物である、請求項39記載の組成物。



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

|   |
|---|
| International Application No<br>PCT/EP 00/08570 |
|---|

| C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT |  |  |
|--|--|--|
| Category   | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages   | Relevant to claim No.                          |
| X  | HASHIMOTO H. ET AL.,: "Gene structure of CYP3A4 an adult-specific form of cytochrome P450 in human livers and its transcriptional control"<br>EUR. J. BIOCHEM.,<br>vol. 218, 1993, page 585-595 XP000910643<br>cited in the application<br>the whole document  | 1-3  |
| X  | BEAUNE P.H. ET AL.,: "Isolation and sequence determination of a cDNA clone related to human cytochrom P-450 nifedipine oxidase"<br>PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, USA,<br>vol. 83, 1986, pages 8064-8068,<br>XP000907192<br>cited in the application<br>the whole document                     | 1-3  |
| A  | WO 91 10745 A (IMP CANCER RES TECH)<br>25 July 1991 (1991-07-25)<br><br>the whole document   | 1-3,<br>12-14,<br>25,27,<br>35,36,<br>38,40,41 |
| A  | EP 0 759 476 A (OTSUKA PHARMA CO LTD)<br>26 February 1997 (1997-02-26)<br><br>the whole document   | 1-3,<br>12-14,<br>25,27,<br>35,36,<br>38,40,41 |
| P,X  | WO 00 24926 A (LABUDA DAMIAN ;SINNETT DANIEL (CA); HOPITAL SAINTE JUSTINE (CA))<br>4 May 2000 (2000-05-04)<br><br>page 3, line 1 -page 4, line 34<br>page 5, line 21-32; claims 8-13; example 3  | 1-3,13,<br>14,19,<br>26-33,<br>36-39           |
| T  | SATA F ET AL.,: "CYP3A4 allelic variants with amino acid substitutions in exons 7 and 12: Evidence for an allelic variant with altered catalytic activity"<br>CLINICAL PHARMACOLOGY & THERAPEUTICS,<br>vol. 67, January 2000 (2000-01), page 48-56 XP000910497<br>cited in the application<br>the whole document | 1-3,13,<br>14,19,<br>26-33,<br>36-39           |
|  | -/--   |  |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/EP 00/08570

| C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT |   |                       |
|--|---|-----------------------|
| Category *   | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages  | Relevant to claim No. |
| T  | NCBI protein and nucleotide databases.<br>15-11-2000<br>AC= AAG32290. CYTOCHROME P450 POLYPEPTIDE<br>4; CYP3A4. Homo sapiens (Human).<br>Gellner et al., "Genomic organization of<br>the human CYP3A locus: identification of a<br>new, inducible CYP3A gene expressed in the<br>liver, testes and prostate." (unpublished)<br>XP002158367<br>abstract<br><br>----- | 1-43                  |

2

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/EP 00/08570**Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 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.  Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
Although claim 28 is directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2.  Claims Nos.: 1,33,34,37  
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 FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210
3.  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 2 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3.  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.  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.:  
1-43 all partially

**Remark on Protest**

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

## FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box I.2

Claims Nos.: 1,33,34,37

Present claims 1 and 37 relate to an extremely large number of polynucleotide sequence of which only a small fraction could be unambiguously allocated to the CYP3A4 or CYP3A7 variants. In fact, a lack of clarity (and/or conciseness) within the meaning of Article 6 PCT arises to such an extent as to render a meaningful search of the claims impossible. Consequently, the search has been carried out for those sequences successfully allocated with the help of tables 1-4.

Claims 33 and 34 refer to an inhibitor identified or obtainable by screening compounds able to displace the protein of claim 9 when is bound to a CYP3A4 (or CYP3A7); or contacting such protein with compounds capable of providing a detectable signal in response to drug metabolism. No such compounds are defined in the application. In consequence the scope of said claim is ambiguous and vague, and its subject-matter is not sufficiently disclosed and supported (Art. 83 and 84 EPC).

Therefore, no search can be carried out for such speculative claims whose wording is, in fact, a mere recitation of the result to be achieved.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims, or parts of claims, relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure.

## FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

## 1. Claims: 1-43 all partially

A molecular variant of the cytochrome CYP3A4, the so-called M1 (having a nucleotide substitution at position 6004) and a molecular variant of the cytochrome CYP3A7 (having a nucleotide substitution at position 1229), its corresponding nucleotide and protein sequences; vectors; host cells; antibodies; transgenic non-human animals; pharmaceutical compositions; probes or oligonucleotides thereof as well as methods of diagnostic or identification of inhibitors capable of modulating the activity of a molecular variant of CYP3A4 or CYP3A7.

## 2. Claims: 1-43 all partially

A molecular variant of the cytochrome CYP3A4, the so-called M2 (having a nucleotide substitution at position 13908), its corresponding nucleotide and protein sequences; vectors; host cells; antibodies; transgenic non-human animals; pharmaceutical compositions; probes or oligonucleotides thereof as well as methods of diagnostic or identification of inhibitors capable of modulating the activity of a molecular variant of CYP3A4.

## 3. Claims: 1-43 all partially

A molecular variant of the cytochrome CYP3A4, the so-called M3 (having a nucleotide substitution at position 14292), its corresponding nucleotide and protein sequences; vectors; host cells; antibodies; transgenic non-human animals; pharmaceutical compositions; probes or oligonucleotides thereof as well as methods of diagnostic or identification of inhibitors capable of modulating the activity of a molecular variant of CYP3A4.

## 4. Claims: 1-43 all partially

A molecular variant of the cytochrome CYP3A4, the so-called M4 (having a nucleotide substitution at position 14304), its corresponding nucleotide and protein sequences; vectors; host cells; antibodies; transgenic non-human animals; pharmaceutical compositions; probes or oligonucleotides thereof as well as methods of diagnostic or identification of inhibitors capable of modulating the activity of a molecular variant of CYP3A4.

## 5. Claims: 1-43 all partially

A molecular variant of the cytochrome CYP3A4, the so-called M5 (having a nucleotide substitution at position 21867), its corresponding nucleotide and protein sequences; vectors;

## FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

host cells; antibodies; transgenic non-human animals; pharmaceutical compositions; probes or oligonucleotides thereof as well as methods of diagnostic or identification of inhibitors capable of modulating the activity of a molecular variant of CYP3A4.

## 6. Claims: 1-43 all partially

A molecular variant of the cytochrome CYP3A4, the so-called M6 (having a nucleotide substitution at position 21896), its corresponding nucleotide and protein sequences; vectors; host cells; antibodies; transgenic non-human animals; pharmaceutical compositions; probes or oligonucleotides thereof as well as methods of diagnostic or identification of inhibitors capable of modulating the activity of a molecular variant of CYP3A4.

## 7. Claims: 1-43 all partially

A molecular variant of the cytochrome CYP3A4, the so-called M7 (having a nucleotide substitution at position 22026), its corresponding nucleotide and protein sequences; vectors; host cells; antibodies; transgenic non-human animals; pharmaceutical compositions; probes or oligonucleotides thereof as well as methods of diagnostic or identification of inhibitors capable of modulating the activity of a molecular variant of CYP3A4.

## 8. Claims: 1-43 all partially

A molecular variant of the cytochrome CYP3A4, the so-called M8 (having a nucleotide substitution at position 23172), its corresponding nucleotide and protein sequences; vectors; host cells; antibodies; transgenic non-human animals; pharmaceutical compositions; probes or oligonucleotides thereof as well as methods of diagnostic or identification of inhibitors capable of modulating the activity of a molecular variant of CYP3A4.

## 9. Claims: 1-43 all partially

A molecular variant of the cytochrome CYP3A4, the so-called M10 (having a nucleotide substitution at position 14323), its corresponding nucleotide and protein sequences; vectors; host cells; antibodies; transgenic non-human animals; pharmaceutical compositions; probes or oligonucleotides thereof as well as methods of diagnostic or identification of inhibitors capable of modulating the activity of a molecular variant of CYP3A4.

## FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

## 10. Claims: 1-43 all partially

A molecular variant of the cytochrome CYP3A4, the so-called M11 (having a nucleotide substitution at position 14329), its corresponding nucleotide and protein sequences; vectors; host cells; antibodies; transgenic non-human animals; pharmaceutical compositions; probes or oligonucleotides thereof as well as methods of diagnostic or identification of inhibitors capable of modulating the activity of a molecular variant of CYP3A4.

## 11. Claims: 1-43 all partially

A molecular variant of the cytochrome CYP3A4, the so-called M12 (having a nucleotide substitution at position 14357), its corresponding nucleotide and protein sequences; vectors; host cells; antibodies; transgenic non-human animals; pharmaceutical compositions; probes or oligonucleotides thereof as well as methods of diagnostic or identification of inhibitors capable of modulating the activity of a molecular variant of CYP3A4.

## 12. Claims: 1-43 all partially

A molecular variant of the cytochrome CYP3A4, the so-called M13 (having a nucleotide substitution at position 15753), its corresponding nucleotide and protein sequences; vectors; host cells; antibodies; transgenic non-human animals; pharmaceutical compositions; probes or oligonucleotides thereof as well as methods of diagnostic or identification of inhibitors capable of modulating the activity of a molecular variant of CYP3A4.

## 13. Claims: 1-43 all partially

A molecular variant of the cytochrome CYP3A4, the so-called M14 (having a nucleotide substitution at position 20230), its corresponding nucleotide and protein sequences; vectors; host cells; antibodies; transgenic non-human animals; pharmaceutical compositions; probes or oligonucleotides thereof as well as methods of diagnostic or identification of inhibitors capable of modulating the activity of a molecular variant of CYP3A4.

## 14. Claims: 1-43 all partially

A molecular variant of the cytochrome CYP3A4, the so-called M15 (having a nucleotide substitution at position 21868), its corresponding nucleotide and protein sequences; vectors; host cells; antibodies; transgenic non-human animals; pharmaceutical compositions; probes or oligonucleotides

## FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

thereof as well as methods of diagnostic or identification of inhibitors capable of modulating the activity of a molecular variant of CYP3A4.

## 15. Claims: 1-43 all partially

A molecular variant of the cytochrome CYP3A4, the so-called M16 (having a nucleotide substitution at position 22041), its corresponding nucleotide and protein sequences; vectors; host cells; antibodies; transgenic non-human animals; pharmaceutical compositions; probes or oligonucleotides thereof as well as methods of diagnostic or identification of inhibitors capable of modulating the activity of a molecular variant of CYP3A4.

## 16. Claims: 1-43 all partially

A molecular variant of the cytochrome CYP3A4, the so-called M17 (having a nucleotide substitution at position 23081), its corresponding nucleotide and protein sequences; vectors; host cells; antibodies; transgenic non-human animals; pharmaceutical compositions; probes or oligonucleotides thereof as well as methods of diagnostic or identification of inhibitors capable of modulating the activity of a molecular variant of CYP3A4.

## 17. Claims: 1-43 all partially

A molecular variant of the cytochrome CYP3A4, the so-called M18 (having a nucleotide substitution at position 25925), its corresponding nucleotide and protein sequences; vectors; host cells; antibodies; transgenic non-human animals; pharmaceutical compositions; probes or oligonucleotides thereof as well as methods of diagnostic or identification of inhibitors capable of modulating the activity of a molecular variant of CYP3A4.

## 18. Claims: 1-43 all partially

A molecular variant of the cytochrome CYP3A4, the so-called M19 (having a nucleotide substitution at position 25958), its corresponding nucleotide and protein sequences; vectors; host cells; antibodies; transgenic non-human animals; pharmaceutical compositions; probes or oligonucleotides thereof as well as methods of diagnostic or identification of inhibitors capable of modulating the activity of a molecular variant of CYP3A4.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No  
PCT/EP 00/08570

| Patent document<br>cited in search report | Publication<br>date | Patent family<br>member(s)   | Publication<br>date  |
|---|---------------------|--|--|
| WO 9913106 A                              | 18-03-1999          | AU 9128798 A<br>EP 1012340 A   | 29-03-1999<br>28-06-2000   |
| WO 9110745 A                              | 25-07-1991          | AT 140488 T<br>AU 642705 B<br>AU 7179191 A<br>CA 2071636 A<br>DE 69120936 D<br>DE 69120936 T<br>EP 0511262 A<br>GB 2256271 A,B<br>JP 5503845 T<br>US 5981174 A | 15-08-1996<br>28-10-1993<br>05-08-1991<br>19-07-1991<br>22-08-1996<br>20-02-1997<br>04-11-1992<br>02-12-1992<br>24-06-1993<br>09-11-1999 |
| EP 0759476 A                              | 26-02-1997          | JP 7298900 A<br>CA 2189638 A<br>CN 1151763 A<br>WO 9530772 A   | 14-11-1995<br>16-11-1995<br>11-06-1997<br>16-11-1995   |
| WO 0024926 A                              | 04-05-2000          | US 6183963 B<br>AU 6322299 A   | 06-02-2001<br>15-05-2000   |

## フロントページの続き

| (51)Int.Cl. <sup>7</sup> | 識別記号  | F I           | テ-マコ-ト' (参考)    |
|--------------------------|-------|---------------|-----------------|
| A 6 1 K 48/00            |       | A 6 1 P 35/00 | 4 C 0 8 4       |
| A 6 1 P 35/00            |       | 43/00         | 1 1 1 4 C 0 8 6 |
| 43/00                    | 1 1 1 | C 0 7 K 16/40 | 4 C 0 8 7       |
| C 0 7 K 16/40            |       | C 1 2 N 1/15  | 4 H 0 4 5       |
| C 1 2 N 1/15             |       | 1/19          |                 |
| 1/19                     |       | 1/21          |                 |
| 1/21                     |       | 9/02          |                 |
| 5/10                     |       | C 1 2 Q 1/68  | A               |
| 9/02                     |       | G 0 1 N 33/15 | Z               |
| C 1 2 Q 1/68             |       | 33/50         | Z               |
| G 0 1 N 33/15            |       | 33/53         | D               |
| 33/50                    |       |               | M               |
| 33/53                    |       | 33/566        |                 |
|                          |       | 33/574        | A               |
| 33/566                   |       | C 1 2 N 15/00 | Z N A A         |
| 33/574                   |       | 5/00          | A               |

(81)指定国 E P ( A T , B E , C H , C Y ,  
 D E , D K , E S , F I , F R , G B , G R , I E , I  
 T , L U , M C , N L , P T , S E ) , O A ( B F , B J  
 , C F , C G , C I , C M , G A , G N , G W , M L ,  
 M R , N E , S N , T D , T G ) , A P ( G H , G M , K  
 E , L S , M W , M Z , S D , S L , S Z , T Z , U G  
 , Z W ) , E A ( A M , A Z , B Y , K G , K Z , M D ,  
 R U , T J , T M ) , A E , A G , A L , A M , A T ,  
 A U , A Z , B A , B B , B G , B R , B Y , B Z , C  
 A , C H , C N , C R , C U , C Z , D E , D K , D M  
 , D Z , E E , E S , F I , G B , G D , G E , G H ,  
 G M , H R , H U , I D , I L , I N , I S , J P , K  
 E , K G , K P , K R , K Z , L C , L K , L R , L S  
 , L T , L U , L V , M A , M D , M G , M K , M N ,  
 M W , M X , M Z , N O , N Z , P L , P T , R O , R  
 U , S D , S E , S G , S I , S K , S L , T J , T M  
 , T R , T T , T Z , U A , U G , U S , U Z , V N ,  
 Y U , Z A , Z W

Fターム(参考) 2G045 AA25 AA40 BA11 BB50 CB01  
DA12 DA13 DA14 DA36 FB02  
FB03

4B024 AA01 AA11 AA12 BA08 CA04  
CA06 CA09 DA02 DA05 DA06  
DA11 DA12 EA04 GA11 HA12  
HA15 HA17

4B050 CC03 CC04 DD07 LL01 LL03

4B063 QA17 QA19 QA20 QQ08 QQ44  
QR08 QR32 QR42 QR56 QS25  
QS34 QX02

4B065 AA01X AA57X AA72X AA90X  
AA93Y AB01 BA02 CA28  
CA44 CA46

4C084 AA02 AA03 AA07 AA13 AA17  
BA44 CA62 MA13 MA17 MA21  
MA34 MA52 MA59 MA63 MA66  
NA14 ZB262 ZC412

4C086 AA01 AA02 AA03 EA16 MA01  
MA04 MA13 MA17 MA22 MA23  
MA28 MA34 MA52 MA59 MA63  
MA66 NA14 ZB26 ZC41

4C087 AA01 AA02 BC83 CA09 CA12  
CA20 MA13 MA17 MA22 MA23  
MA28 MA34 MA52 MA59 MA63  
MA66 NA14 ZB26 ZC41

4H045 AA11 CA40 CA42 DA75 EA28  
EA51 FA72

|                |  |         |            |
|----------------|--|---------|------------|
| 专利名称(译)        | 人CYP3A4基因和人CYP3A7基因的多态性及其在诊断和治疗应用中的应用  |         |            |
| 公开(公告)号        | <a href="#">JP2003509063A</a>  | 公开(公告)日 | 2003-03-11 |
| 申请号            | JP2001523796   | 申请日     | 2000-09-01 |
| [标]申请(专利权)人(译) | 外延道洛生物科技股份有限公司   |         |            |
| 申请(专利权)人(译)    | 埃皮达鲁斯生物科技股份有限公司  |         |            |
| [标]发明人         | ウォナウスキレシエク<br>アイセルトレジーナ  |         |            |
| 发明人            | ウォナウスキ レシエク<br>アイセルト レジーナ  |         |            |
| IPC分类号         | A01K67/027 A61K31/7088 A61K35/56 A61K35/76 A61K38/00 A61K38/17 A61K39/395 A61K45/00<br>A61K48/00 A61P35/00 A61P43/00 C07K14/705 C07K16/18 C07K16/28 C07K16/40 C12N1/15 C12N1<br>/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N9/02 C12N15/09 C12N15/53 C12P19/34 C12P21/02 C12Q1/68 C12Q1<br>/6883 G01N33/15 G01N33/50 G01N33/53 G01N33/566 G01N33/574   |         |            |
| CPC分类号         | C07K14/70567 A01K2217/05 C12N9/0077 C12Q1/6883 C12Q2600/156 C12Q2600/158   |         |            |
| FI分类号          | A01K67/027 A61K31/7088 A61K35/76 A61K45/00 A61K48/00 A61P35/00 A61P43/00.111 C07K16/40<br>C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N9/02 C12Q1/68.A G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.D<br>G01N33/53.M G01N33/566 G01N33/574.A C12N15/00.ZNA.A C12N5/00.A   |         |            |
| F-TERM分类号      | 2G045/AA25 2G045/AA40 2G045/BA11 2G045/BB50 2G045/CB01 2G045/DA12 2G045/DA13 2G045<br>/DA14 2G045/DA36 2G045/FB02 2G045/FB03 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/AA12 4B024/BA08<br>4B024/CA04 4B024/CA06 4B024/CA09 4B024/DA02 4B024/DA05 4B024/DA06 4B024/DA11 4B024<br>/DA12 4B024/EA04 4B024/GA11 4B024/HA12 4B024/HA15 4B024/HA17 4B050/CC03 4B050/CC04<br>4B050/DD07 4B050/LL01 4B050/LL03 4B063/QA17 4B063/QA19 4B063/QA20 4B063/QQ08 4B063<br>/QQ44 4B063/QR08 4B063/QR32 4B063/QR42 4B063/QR56 4B063/QS25 4B063/QS34 4B063/QX02<br>4B065/AA01X 4B065/AA57X 4B065/AA72X 4B065/AA90X 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065/BA02<br>4B065/CA28 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA02 4C084/AA03 4C084/AA07 4C084/AA13 4C084<br>/AA17 4C084/BA44 4C084/CA62 4C084/MA13 4C084/MA17 4C084/MA21 4C084/MA34 4C084/MA52<br>4C084/MA59 4C084/MA63 4C084/MA66 4C084/NA14 4C084/ZB262 4C084/ZC412 4C086/AA01 4C086<br>/AA02 4C086/AA03 4C086/EA16 4C086/MA01 4C086/MA04 4C086/MA13 4C086/MA17 4C086/MA22<br>4C086/MA23 4C086/MA28 4C086/MA34 4C086/MA52 4C086/MA59 4C086/MA63 4C086/MA66 4C086<br>/NA14 4C086/ZB26 4C086/ZC41 4C087/AA01 4C087/AA02 4C087/BC83 4C087/CA09 4C087/CA12<br>4C087/CA20 4C087/MA13 4C087/MA17 4C087/MA22 4C087/MA23 4C087/MA28 4C087/MA34 4C087<br>/MA52 4C087/MA59 4C087/MA63 4C087/MA66 4C087/NA14 4C087/ZB26 4C087/ZC41 4H045/AA11<br>4H045/CA40 4H045/CA42 4H045/DA75 4H045/EA28 4H045/EA51 4H045/FA72 |         |            |
| 优先权            | 1999118120 1999-09-10 EP   |         |            |
| 外部链接           | <a href="#">Espacenet</a>  |         |            |

#### 摘要(译)

描述了用于诊断和治疗表型光谱和具有多种形式的CYP3A4和CYP3A7基因的遗传异常表达和/或功能的临床特征重叠的一般方法和方法。特别地，提供了分子突变体CYP3A4基因和分子突变体CYP3A7基因的多核苷酸，其与例如药物的新陈代谢和/或敏感性不足有关，以及包含这种多核苷酸的载体。进一步描述了含有此类多核苷酸或载体的宿主细胞及其在制备突变CYP3A4和突变CYP3A7蛋白中的用途。另外，提供了突变的非人类动物个体，其包含突变的CYP3A4蛋白和突变的CYP3A7蛋白，以及特异性识别这种蛋白的抗体，以及上述多核苷酸或载体。还描述了鉴定和获得用于治疗与CYP3A4和CYP3A7基因多功能相关的病症的抑制剂的方

法，以及诊断此类病症的方法。提供了包含上述多核苷酸，载体，蛋白质，抗体和根据上述方法的抑制剂的药物和诊断组合物。该组合物对于使用是CYP3A4基因产物的底物或CYP3A7基因产物的底物，抑制剂或调节剂的药物来诊断和治疗各种疾病特别有用。

|          |          |                          |
|----------|----------|--------------------------|
| T7       | BAC CS   | TAATACGACTCACTATAGGG     |
| 3A43F    | エキソン 2   | GAACCCATTACATGGAC        |
| 3A46R    | エキソン 4   | TGATCATGTCAGGATCTG       |
| 3A47F    | エキソン 4   | GGTCAACAGCCTGTGCTG       |
| 3A48R    | エキソン 5   | TCCACTGGTGAAGTTGG        |
| 3A49F    | エキソン 5   | GTGCCATCTCTATAGCTG       |
| 3A410R   | エキソン 6   | CTTCCCGCCTCAGATTTTC      |
| 3A411F   | エキソン 6   | GAAATCTGAGGCGGGAAG       |
| 3A412R   | エキソン 7   | GGGTCTTGTGGATTGTTG       |
| 3A413F   | エキソン 7   | CAACAATCCACAAGACCC       |
| 3A414R   | エキソン 8   | GTGTATCTTCGAGGCGAC       |
| 3A415F   | エキソン 8   | CTTTCATTCCCTCATCCC       |
| 3A416R   | エキソン 9   | CCTTTGTGGGACTCAGTTTC     |
| 3A419F   | エキソン 10  | GCCACTCACCCCTGATGTC      |
| 3A720R   | エキソン 11  | ATCACCCACCACCGTTTG       |
| 3A721F   | エキソン 11  | CAAAGGGTGGGTGGTGAT       |
| 3A422R   | エキソン 12  | GAGAGCAAACCTCATGCC       |
| 3A423F   | エキソン 12  | GGCATGAGGTTTGCTCTC       |
| 3A424R   | エキソン 13  | GGTGCCATCCCTTGACTC       |
| 3A426R   | エキソン 2   | GCAGAGGTGTGGGCCCTG       |
| 3A4436F  | イントロン 8  | GGAGATCAAGGACCACGCTTGTG  |
| 3A441R   | イントロン 10 | CTTACGCTTCTGCCAGTAGCAACC |
| CYP3A4PF | プロモーター   | AACAGGCGTGGAAACACAAT     |
| CYP3A4PR | プロモーター   | CTTTCCTGCCCTGCACAG       |