

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4274796号
(P4274796)

(45) 発行日 平成21年6月10日(2009.6.10)

(24) 登録日 平成21年3月13日(2009.3.13)

(51) Int.Cl.		F I	
C 1 2 Q	1/68 (2006.01)	C 1 2 Q	1/68 A
C 1 2 N	15/09 (2006.01)	C 1 2 N	15/00 Z N A A
G O 1 N	27/447 (2006.01)	G O 1 N	27/26 3 1 5 Z
G O 1 N	33/566 (2006.01)	G O 1 N	33/566
G O 1 N	33/58 (2006.01)	G O 1 N	33/58 A

請求項の数 20 (全 51 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2002-555273 (P2002-555273)	(73) 特許権者	503244871 メディツイーニッシュ・ホーホシューレ・ ハノーバー ドイツ連邦共和国、デー-30625 ハ ノーバー、カール-ノイベルグ-シュトラ ーセ 1
(86) (22) 出願日	平成14年1月3日(2002.1.3)	(74) 代理人	100058479 弁理士 鈴江 武彦
(65) 公表番号	特表2004-533808 (P2004-533808A)	(74) 代理人	100091351 弁理士 河野 哲
(43) 公表日	平成16年11月11日(2004.11.11)	(74) 代理人	100088683 弁理士 中村 誠
(86) 国際出願番号	PCT/DE2002/000003	(74) 代理人	100108855 弁理士 蔵田 昌俊
(87) 国際公開番号	W02002/053770		
(87) 国際公開日	平成14年7月11日(2002.7.11)		
審査請求日	平成16年12月7日(2004.12.7)		
(31) 優先権主張番号	101 00 238.6		
(32) 優先日	平成13年1月5日(2001.1.5)		
(33) 優先権主張国	ドイツ(DE)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 癌疾患及び炎症性腸疾患の潜在的危険性を予測する方法及びその方法による試験

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

検査すべき人物のDNA試料を、コドン11、129、131及び/又は208に突然変異を有する多型のUGT1A7対立遺伝子の存在に関して試験することを特徴とする、大腸癌及び/又は炎症性腸疾患の発達を遺伝的素因によって診断し、該疾患の潜在的危険性を予測する方法。

【請求項 2】

コドン11及び208の突然変異が陽性であることを、大腸癌の感受性が陽性である指標とすることを特徴とする、請求項1記載の方法。

【請求項 3】

前記癌が大腸癌である、請求項1又は2に記載の方法。

【請求項 4】

陽性と評価された突然変異が、W208Rの置換、及びコドン11のCCCからCCAへのサイレント突然変異であることを検査することを特徴とする、請求項3記載の方法。

【請求項 5】

コドン11、129、131及び208の突然変異が陽性であることを、炎症性腸疾患及び大腸癌の感受性の指標とすることを特徴とする、請求項1記載の方法。

【請求項 6】

陽性と評価された突然変異がN129K、R131K及びW208R、並びにコドン11のCCCからCCAへのサイレント突然変異であることを検査することを特徴とする、

請求項 5 記載の方法。

【請求項 7】

ゲノム DNA を試料として使用することを特徴とする、請求項 1 から 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 8】

血液試料からゲノムデオキシリボ核酸を、カラムクロマトグラフィー法及び化学的分離法を用いて単離することを特徴とする、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

DNA 試料を用いて UGT1A7 (855 塩基対) のエキソン 1 を PCR によって増幅し、続いて配列分析を行い、決定された配列を UGT1A7 の野生型対立遺伝子及び多型対立遺伝子と比較することを特徴とする、請求項 1 から 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

10

【請求項 10】

DNA 試料に対して、コドン 11、129 / 131 又は 208 の周囲の該突然変異した DNA 領域の上流に 1 つ及び下流に 1 つが結合する特異的なプライマーペアを用いて、ポリメラーゼ連鎖反応で、野生型対立遺伝子又は多型対立遺伝子の相当するフラグメントと同等の cDNA フラグメントを作成し、コドン 11、129、131 及び / 又は 208 における突然変異の存在を、配列決定技術及び / 又はハイブリダイゼーション技術によって検出することを特徴とする、請求項 1 から 8 までのいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 11】

前記プライマーペアは、コドン 11、コドン 129 / 131 並びにコドン 208 の上流及び下流のそれぞれ 50 個の塩基対と結合し、それにより 100 ~ 150 個の塩基対のサイズの cDNA フラグメントが形成されることを特徴とする、請求項 10 記載の方法。

20

【請求項 12】

請求項 9 ~ 11 の何れか 1 項に記載の方法であって、該コドンにおける突然変異の存在が、a) 野生型対立遺伝子にそれぞれ相応する cDNA フラグメントを用いた一本鎖コンフォメーション多型性分析 (SSCP) により検出され、野生型対立遺伝子と多型対立遺伝子とが、ゲル電気泳動又は温度勾配ゲル電気泳動 (TGGE) により識別されるか、b) 突然変異の存在又は非存在が、自動化蛍光色素配列決定法によって該 cDNA の配列を決定することによって検査されるか、或いは、c) 多型の存在が、該多型の塩基置換の 3 末端と結合するプライマー配列を用いたポリメラーゼ連鎖反応によって検出される、ことを特徴とする方法。

30

【請求項 13】

野生型配列又は多型配列と相補的なオリゴヌクレオチド、及び対応する対応プライマー (アンチセンスプライマー) を用いて PCR 技術によって突然変異の存在を検出することを特徴とする、請求項 12 記載の方法。

【請求項 14】

蛍光色素又は酵素マーカーを用いて PCR 接合体を検出することを特徴とする、請求項 13 記載の方法。

【請求項 15】

大腸癌又は炎症性腸疾患を遺伝的素因によって診断し、該疾患の潜在的危険性を予測するための遺伝子検出試薬としてのプライマー又は cDNA の使用であって、該遺伝子検出試薬は、検査すべき個体をコドン 11、129、131 及び / 又は 208 の突然変異を有する多型 UGT1A7 対立遺伝子の存在について試験することを可能にすることを特徴とする使用。

40

【請求項 16】

試験装置における遺伝子検出試薬としての請求項 15 記載のプライマー又は cDNA の使用であって、遺伝子検出試薬が、結果を読み取るために準備された配置又は順序で固定キャリア上に置かれることを特徴とする使用。

【請求項 17】

請求項 9 から 11 のいずれか 1 項に従って準備され且つ付加的に標識化された、検査す

50

べき個体のDNA試料を、前記検出試薬の1つと結合させ、又は、前記試験装置と接触させて、その位置についてマーカーを用いて検出することを特徴とする請求項16記載の使用。

【請求項18】

蛍光色素又は放射性同位体によって標識化することを特徴とする、請求項17記載の使用。

【請求項19】

UGT1A7多型のコンビネーション分析のための複数の検出試薬と一緒に試験装置に固定されていることを特徴とする、請求項16から18のいずれか1項に記載の使用。

【請求項20】

潜在的な変異原物質又は発癌物質の毒性又は発癌能力について予測する目的でこれらの物質の代謝の特性決定するための、組換えUGT1A7*2、UGT1A7*3、及びUGT1A7*4タンパク質の使用。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、癌疾患及び炎症性腸疾患の潜在的危険性を予測する方法及びその疾患を診断する方法に関する。第一に、本発明は結腸直腸癌の潜在的危険性を評価するための方法に関する。さらに、本発明は検査すべき個体のDNA試料を診断するための試験、並びに、薬剤、特に腫瘍治療剤の代謝特性を決定するためのUGT1A7遺伝子の新規の多型の使用に関する。

【0002】

【従来の技術】

現在、癌に対する危険性は遺伝的素因及び発癌性物質にさらされることを含む環境の影響により決定されると考えられている。

【0003】

従って、発癌性物質代謝酵素の遺伝的多型性と発癌との間に関係があることがすでに予想されていた。しかしながら、代謝は解毒作用とは同一視されないために、統計的に確認された具体的な関係を見出すことは困難である。従って、癌の危険性を予測するためには、一般に、遺伝的変異を確認することでは不十分であり、この変異が代謝に明らかに不利な結果を引き起こすことを確認する必要がある。

【0004】

このような関係を探し出す際の他の問題は、ヒトの代謝が極めて複雑であり、莫大な量の物質、中でも代謝産物、タンパク質及びさらには酵素が癌の危険性に対するマーカーとして挙げられることにある。これは、主要国で最も頻発する癌腫である結腸又は結腸直腸癌(CRC)にも当てはまる。ヒトの腸は大きな器官であり、これは多様な身体プロセスによって、また栄養によって影響を受ける。従って、一般に遺伝的素因による明瞭な危険性評価が可能であるかどうかは明確ではない。

【0005】

腸内での代謝には多種の酵素が関与しており、この中には外来物質を代謝する酵素がある。

ヒトのウリジン二リン酸(UDP)-5-グルクロノシルトランスフェラーゼ(UGT)は、多様な物質のグルクロニド化を行う大きな酵素クラスである。このスーパーファミリーの中で、特別な課題を有する3つのファミリーのUGT1、UGT2及びUGT8が同定されている。UGT1ファミリーの酵素の中だけでも、多様なイソ型が識別されている。肝臓中では、最近の10年間に5つのファミリー、1AUGTイソ型(UGT1A1、1A3、1A4、1A6及び1A9)が発見されてクローニングされ、その中のビルルピン-UGTイソ型がUGT1A1である。胆管(UGT1A10)、胃(UGT1A7)及び結腸(UGT1A8)から、3種の肝臓外UGT1A遺伝子産物を単離することができた。

10

20

30

40

50

【0006】

ヒトUGT1A7遺伝子によりコードされるタンパク質は、グルクロニド化により人体の多数の内因性及び外因性化合物（生体異物、即ち、工業的起源の難分解性化合物）の解毒に用いられる。これは、ヒトのいわゆるフェーズ2 - 代謝、たとえばアセチル化、硫酸化及びグルクロニド化におけるタンパク質である。1996年に初めて、転写物として記載されたUGT1A7が、発癌物質と見なされている多環式炭化水素及び複素環式アミンを解毒することが証明された。

【0007】

WO 00/06776では、UGT2B活性を変更するヒトのUGTB4遺伝子、UGT2B7遺伝子及びUGT2B15遺伝子の遺伝的多型の同定を開示している。UGT2酵素は、特にステロイド代謝に関与している。多型UGT2配列を含む核酸を用いて、患者のUGT2B基質に対する代謝、考えられる作用物質と作用物質の相互作用、及び不利な作用物質/副作用の変化、並びに環境的被毒又は職業的被毒に起因する疾患が試験された。この核酸を用いて、作用物質代謝に関する動物モデル、細胞モデル及びインビトロモデルが確立された。

10

【0008】

WO 99/57322では、ヒトのUGT1遺伝子における遺伝的多型が同定された。この多型は、UGT1依存性の作用物質代謝を変化させる。この場合も、多型配列はUGT1B基質に対する代謝、考えられる作用物質と作用物質の相互作用、及び不利な作用物質/副作用の変化、並びに環境的被毒又は職業的被毒に起因する疾患が試験された。この核酸を用いて、同様に作用物質代謝に関する動物モデル、細胞モデル及びインビトロモデルが確立された。

20

【0009】

さらに、ヒトのUGT1A7遺伝子の遺伝的変異と機能的変異の因果関係は、C. Guillemette, J. K. Ritter, D. J. Auyeung, F. K. Kessler, D. E. Housman著、"Structural heterogeneity at the UDP-glucuronosyltransferase 1 locus: functional consequences of three novel missense mutations in the human UGT1A7 gene", *Pharmacogenetics*, 2000, 10: 629-644に既に記載されている。この場合に、肺における発癌性生成物の解毒及び排泄の際にUGT1A7の考えられ得る役割も議論されている。UGT1A7は肺において試験されているが、ヒトの大腸においては試験されていない。

30

【0010】

【発明の実施の形態】

本発明の課題は、発癌の危険性、特に結腸癌（結腸直腸癌、CRC）の危険性と遺伝的素因との間の具体的な関係を見出し、且つこの素因の検出のための試験を提供することである。

【0011】

これは、UGT1A7*2、UGT1A7*3、及びUGT1A7*4と表され、結腸直腸癌（CRC）の発生、さらには特定の炎症性腸疾患（IBD、inflammatory bowel disease；クローン病）の発生と統計的に驚くべき関連性を有し、また、膵臓癌、肝臓癌、胃癌及び食道癌と関連している可能性がある、新規の多型UGT1A7対立遺伝子を見出すことにより達成される。この結果は、UGT1A7が大腸中で、つまり疾患領域内では発現されない点で意外である。遺伝的素因が該当器官内での発現に依存するのではなく、空間的に離れても可能であることは、今までの試験では発見されていないことであり、驚くべきことであった。このことから、遺伝的変異が広範囲な効果を有し、器官に特異的な効果だけを有するのではないことが判明した。これは本願明細書において初めて指摘されるものである。

40

50

【 0 0 1 2 】

遺伝的多型とは、生殖系列における突然変異であり、腫瘍の体細胞における突然変異ではない。基本的な分析は、腫瘍（CRC）、炎症性腸疾患（IBD）を有する患者とこれらの疾患のない対照者のリンパ球からゲノムDNAを採取して行う。全部で111人の個体の分析により、個々のコドンに関する多型が相互に独立して生じるのではなく、組合わさって遺伝的に伝達されるという結果が得られた。

【 0 0 1 3 】

UGT1A7*2は、ポジション3でCがAに置換されている（CCCがCCAになっている）コドン11のサイレント突然変異を特徴とする。この突然変異は小胞体のシグナルペプチドドメイン内に含まれる。これと関連しているのは、コドン208の第2の突然変異、即ち、W208RのTからCへの置換であり、この突然変異は、芳香族トリプトファンの正に帯電したアルギニン基への非保存的置換を引き起こす。コドン208のこの多型は、UGT1A7-10の第1のエキソン中だけでなく、UGT1A7ファミリーのすべてのメンバーにおいて保存されている配列範囲に含まれる。アミノ酸206と209との間にRV-N-配列モチーフが存在することは、全てのUGT1A-タンパク質と共通である。UGT1A7におけるこのW208Rの置換は、UGT1A8及びUGT1A9の野生型配列を表す。本出願人の調査は、コドン11及びコドン208での多型が個別に生じるのではないことを示した（111人の個体に関する試験において）。ヘテロ接合した個体の2つのポジションでの特性決定から、及び、コドン11又はコドン208が個々にホモ接合した形が見られないという事実から、UGT1A7*2における2つの交換が存在することが容易に推測できる。

【 0 0 1 4 】

UGT1A7*3は2つの突然変異を含む。第1の突然変異はコドン129におけるTからGへの置換であり、これはアスパラギンからリシンへの保存的なコドン置換である（N129K）。第2の突然変異は、コドン131におけるポジション1のCからAへの置換、及びポジション2のGからAへの置換の2箇所であり、これはアルギニンからリシンへの置換が生じる（R131K）。この多型は、同様にUGTタンパク質の著しく保存性の高い配列に影響を及ぼす。全てのUGT1A7タンパク質中に存在するロイシン-127に後続して、UGT1A1、UGT1A3、UGT1A4及びUGT1A5中のLHN-L-モチーフ（アミノ酸128～133）が保存されている。アミノ酸ポジション128～134で、UGT1A7、UGT1A8、UGT1A9及びUGT1A10中のF-D-KLV-アミノ酸モチーフが保存されている。N129K多型及びR131K多型の分析は、これらの置換が相互に無関係に起こってはいないことを示した。ホモ接合したUGT1A7*3-対立遺伝子を同定することができ、これはN129K/R131K-突然変異が個々の対立遺伝子上で同定することができ、UGT1A7*2とは無関係に生じることが示された。UGT1A7のN129/R131K-多型は、UGT1A9のこのコドンの野生型配列に一致し、このことからさらに、3塩基対-突然変異がハプロタイプとして遺伝的に伝えられていることが容易に推測される。

【 0 0 1 5 】

第3の対立遺伝子のUGT1A7*4は、UGT1A7*2及びUGT1A7*3において観察された全ての変異型と結びつく。コドン11、129、131及び208のホモ接合した突然変異を有する個体が確認され、これは全ての4種の多型が唯一の対立遺伝子上に存在することを示している。コドン11、129、131又は208での多型は個別にヘテロ接合又はホモ接合を生じることは注目すべきである。この観察は、上記したように、コドン11及び208の多型及びコドン129の多型がコドン131と共にハプロタイプとして遺伝的に伝えられるという想定を支持している。

【 0 0 1 6 】

この結果に基づいて、前記の課題は本発明において、検査すべき人物のDNA試料を、コドン11、129、131及び/又は208に突然変異を有する多型のUGT1A/-対立遺伝子が存在するかどうかによって試験する、癌疾患又は炎症性腸疾患の潜在的危険性

10

20

30

40

50

を予測する方法及び/又は癌疾患又は炎症性腸疾患を診断する方法により解決される。

【0017】

この場合に、特にコドン11及びコドン208の突然変異が陽性であることを、癌疾患、特に結腸直腸癌又は結腸癌(CRC)に対する感受性が陽性である指標として評価する。このための試験方法を次に記載する。本発明の実施態様の場合には、さらに、陽性と評価された突然変異が、W208Rの置換、及びコドン11のCCCからCCAへのサイレント突然変異であることを検査する。

【0018】

さらに、本発明において、4つのコドン11、129/131及び208の全ての突然変異が陽性であることを、炎症性腸疾患、つまり特に“inflammatory bowel disease”(IBD)及び潰瘍性大腸炎の概念に含まれる疾患、及び癌疾患、特にCRCに対する感受性の指標として評価する。これに基づく試験で、陽性として評価された突然変異がN129K、R131K及びW208R並びにコドン11のCCCからCCAへのサイレント突然変異であることを検査することもできる。

【0019】

UGT1A7多型と、結腸直腸癌および結腸発癌物質の危険因子を形成する炎症性腸疾患との関連性が確認されたことから、腫瘍疾患に対する潜在的危険性を同定するために前記マーカーを使用することが可能である。この場合に、多型を検出することができる解毒酵素はヒトの器官内で広範囲な機能を担っているため、ここに示された結腸直腸癌の他に、胃腸管、呼吸器系、造血及び生殖器及び生殖腺の癌疾患にもおそらく関連がある。

【0020】

本発明の利点は、患者を早期に、相応するハイリスクグループに分類して予防治療を実施することができ、これが早期発見の改善につながる点にある。

【0021】

本発明の他の利点はこの方法が診断のためにも適用できることである。診断を改善することによって、患者の状態に関してより迅速且つ明確な診断を得ることができ、目標を定めて治療することができる。早期発見及び早期治療は、癌疾患の場合に特に重要となる。CRCは早期に発見された場合には、たいていが回避可能であるか、治癒可能である。

【0022】

検査には、リンパ球のゲノムDNAを使用するのが好ましい。このゲノムDNAは発端者の血液試料からカラムクロマトグラフィー法及び化学的処理により単離することができる。検査すべき人物の遺伝的素因を表現するこのゲノムDNAは、他の全ての遺伝子試験ストラテジーの基礎をなしている。

【0023】

一般的には、得られた患者のDNAを最初にポリメラーゼ連鎖反応で増幅する。本発明の第1の実施態様の場合には、UGT1A7遺伝子(約855塩基対)の全体のエキソン1をPCRによって増幅することができ、これに続いて配列分析を行う。決定された配列を適切な方法で評価する。即ち、野生型配列及びこの方法にとって適切なUGT1A7対立遺伝子のUGT1A7*2、UGT1A7*3及びUGT1A7*4の配列と比較することができる。

【0024】

他の実施態様の場合には、検査する突然変異に関する情報を提供するcDNAフラグメントだけを増幅する。従って、DNA試料を、コドン11、129/131又は208の周囲の該当する突然変異したDNA領域の上流の1つ及び下流の1つとそれぞれ結合する特異的なプライマーペアで処理し、ポリメラーゼ連鎖反応で、野生型対立遺伝子又は多型対立遺伝子の相当するフラグメントと同等のcDNAフラグメントを作成し、コドン11、129、131及び/又は208の突然変異の存在を配列決定技術及び/又はハイブリダイゼーション技術で検出するのが好適である。

【0025】

コドン11、コドン129/131並びにコドン208の上流及び下流のそれぞれ約50

10

20

30

40

50

塩基対と結合するプライマーペアを使用するのが好ましく、それにより、約100～150塩基対のサイズのcDNA断片が得られる。

【0026】

多型の検出は、配列決定法及び/又はハイブリダイゼーション法を用いて多様な方法で行うことができる。この場合に、当業者が公知の方法の中から適切に選択することは基本的に自由である。

【0027】

特に、検査する多型は、先行するPCRで得られた患者のcDNAフラグメントと野生型対立遺伝子の、それぞれ相応するcDNAフラグメントとから二本鎖を得る完全な再結合を検出することによる一本鎖コンフォメーション多型分析(SSCP)により検査することができる。この基本原理は、変異したDNA配列は野生型配列と完全に一致する二本鎖を形成することができないという事実に基づいている。これは、スクリーニング検査においてゲル電気泳動によって判明し、突然変異の存在を示す。この方法を改良し、多型のcDNAフラグメントの検出を温度勾配ゲル電気泳動(TGGE)によって行うことができる。

【0028】

また、突然変異の存在又は不在は、自動化蛍光色素配列決定法によって該当するcDNAの配列を決定することにより検査することが好ましい。

【0029】

他の検出方法は、純粋なPCRをベースとするストラテジー(amplification refractory mutation System、増幅耐性突然変異システム)において、多型の塩基置換の3'末端で結合する特異的なプライマー配列によって多型の存在を検出する方法である。同時に、この方法はヘテロ接合及びホモ接合したキャリアを区別するように変更することができる。自動化可能な試験キットシステムとしてのこの方法の実施例は、後に実施例として記載する。プライマーとして、一方は野生型配列、他方は多型配列と結合するオリゴヌクレオチド、並びに対応する対応プライマー(アンチセンスプライマー)を使用する。これにより、プライマーにコードされた野生型又は多型の対立遺伝子が存在する場合にのみ、PCR産物が生じる。対照として、所定の多型を有する所定のcDNAを使用する。この方法は、たとえば定量的Taqman-PCRの使用下で自動化することが可能である。

【0030】

このPCR接合体は通常のように蛍光色素又は酵素マーカーで検出することができる。当業者は適当な方法を選択することができ、これについては特に記載する必要はない。

【0031】

本発明はさらに、本発明による方法を実施するための試験キットもしくは試験装置も提供するものである。

【0032】

本発明の試験装置は、基本的に、少なくともこの方法に必要な遺伝子検出試薬、即ち、必要なプライマー又はcDNAを、固定キャリア上で、この結果を読みとるために準備された配置又は順序で並んで有しており、この場合に、検査すべき個体の、準備され且つ付加的に標識されたDNA試料をテスト装置と接触させて検出試薬の1つと結合させ、この位置についてマーカーを検出するようになされている。この場合に、発端者DNAの標識は蛍光色素又は放射性同位体で行うことができる。

【0033】

数種のUGT1A7多型を組み合わせる分析(この分析はいずれにせよ有利である)するために、このために必要な検出試薬、即ち、たとえば異なるコドン11、129/131及び208に対するプライマー又は野生型対立遺伝子及びUGT1A7*2/3/4-対立遺伝子のDNAフラグメントを、選択されたストラテジーに応じて、試験装置上に、たとえば遺伝子チップ上に一緒に固定することができる。

【0034】

10

20

30

40

50

この結果の読みとりを容易にするために、固定キャリア上に、検出試薬の分類のための表示又は印字が設けられているのが好ましい。

【0035】

全てのUGT1A7多型を組み合わせた分析は、遺伝子チップ技術を利用して行うことができる。この場合、例えば固定相中に多型および野生型のオリゴヌクレオチド配列を固定することができる。発端者DNAから対応するオリゴヌクレオチドをPCRにより増幅し、蛍光色素、放射性同位体又は他の接合体により標識する。続いてハイブリダイゼーション反応により、遺伝子アレイ上で対応するオリゴヌクレオチドを同定し、多型の存在を決定する。アレイをベースとする試験ストラテジーは、多様な実施が可能であり、当業者はこの方法に適合させることができる。

10

【0036】

本発明の他の態様の場合には、多型のUGT1A7*2遺伝子、UGT1A7*3遺伝子及びUGT1A7*4遺伝子をそれらが属するUGTイソ型の製造のために使用することができる。この同定された多型は組み換えタンパク質として発現し、たとえば腫瘍の治療の代謝による特性決定のために使用でき、この物質の代謝の予想を可能にする。同様に、UGT1A7の全ての多型は、潜在的な変異原物質又は発癌物質の毒性又は発癌能力に関する予想を行う目的で、これらの物質の代謝を調査するために用いることができる。このために、異種発現系中で、バクテリア中で、真核細胞培地中で及び多型の対立遺伝子の発現及び引き続くその使用が、接触分析用の酵素調製物として用いられる。一連の異なる多型タンパク質を含んだ試験キットは、この場合に簡単なインビトロ分析を可能にする。

20

【0037】

結腸癌及び炎症性腸疾患のための感受性マーカーの同定を、原則として遺伝子治療ストラテジーのために使用することも可能である。基本的な遺伝子治療による使用の可能性は、今日では当業者に既に公知であるため、多様な変法が開示されている。腫瘍治療においてUGT1A7単独での使用又はこの酵素ファミリーの他の同種のメンバーと組み合わせた使用は、特定の遺伝子会合の使用である。

【0038】

従って、本発明は、タイプUGT1A7*2、UGT1A7*3及びUGT1A7*4のUGT1A7多型の場合に治療を行うための遺伝子治療薬を製造するための、UGT1A7遺伝子又はUGT1A7遺伝子フラグメントの使用でもある。

30

【0039】

従って、本発明の実施態様の場合には、腫瘍治療において又は潜在的危険性のある場合での腫瘍予防において、UGT1Aファミリーの遺伝子の組み換えタンパク質の経口又は腸管外使用が考えられる。UGT1A7 cDNA又は同族のUGT1A7 cDNAをヒト細胞及び腫瘍細胞に送達するために、ベクターを使用することができ、このベクターは当業者にとって基本的に公知であり、このベクターはその専門知識を用いて選択することができる。これは胚組織又は胎児組織を含めた目的組織内でタンパク質を発現させ、この組織で前駆細胞を変更するための遺伝子治療によるUGT1A7医薬を使用することができる。

40

【0040】

UGT1A-cDNAの送達は、たとえば器官特異性のプロモータを備えた腸管外ベクターにより、UGT1A cDNAの筋肉内注射により、又はリポソームでパッケージングしたcDNAを消化管を介して行うことができる。当業者は、専門知識の範囲内で適当なデリバリーシステムを選択することができる。

【0041】

次に、実施例及び図面を用いて本発明を詳細に説明する。

【0042】

【実施例】

実施例1 試験例

一方が野生型配列、他方が多型配列と結合するオリゴヌクレオチド(プライマー)、並び

50

に対応する対応プライマー（アンチセンスプライマー）を使用する。これにより、プライマーにコードされた野生型又は多型の対立遺伝子が存在する場合にのみ、PCR産物が生じる。この原理を図1に示す。対照として、所定の多型を有する所定のcDNAを使用する。

【0043】

使用したプライマーを表1に示す。

【0044】

【表1】

表 1

多型	プライマー種	配列	産物サイズ
コドン11	A	gggtggactggcctcctcca	269 bp
	B	gggtggactggcctcctccc	
	リバーズ	ggcaaaaaccatgaactcccg	
コドン129	A	tttttcaaattgcaggagttgttaag	264 bp
	B	tttttcaaattgcaggagttgttaat	
コドン131	A	aaattgcaggagttgttaaggacaa	271 bp
	B	aaattgcaggagttgttaatgaccg	
	リバーズ	ttctaagacattttgaaaaaatagg	
コドン208	A	gacgccatgactttcaaggagagagtac	252 bp
	B	gacgccatgactttcaaggagagagtat	
	リバーズ	tgctttccctgatgacagttgatacc	

このプライマーを自動化された定量的PCRで使用する場合に、蛍光色素、酵素マーカ―又はDNA用の他の標識システムとの接合体を製造し、この診断のために利用する。この標識手段は一般に公知であり、ここでは特に記載しない。

【0045】

この試験システムを用いて、ホモ接合およびヘテロ接合の突然変異の存在を特異的に検出した結果が得られた。この結果を表2に示した。

【0046】

【表2】

10

20

30

表 2

コドン	プライマー	対 照		結 果				
		UGT1A7*1	UGT1A7*4	UGT1A7*2	UGT1A7*3	UGT1A7*2/ UGT1A7*1	UGT1A7*2/ UGT1A7*3	UGT1A7*3/ UGT1A7*4
11	A	-	+	+	-	+	+	+
	B	+	-	-	+	+	+	+
129	A	-	+	-	+	-	+	+
	B	+	-	+	-	+	+	-
131	A	-	+	-	+	-	+	+
	B	+	-	+	-	+	+	-
208	A	-	+	+	-	+	+	+
	B	+	-	-	+	+	+	+

10

20

30

UGT1A7*2対立遺伝子(コドン11及び208)並びにUGT1A7*4対立遺伝子(コドン11、129、131、208)の存在は結腸直腸癌と関連しており、UGT1A7*4対立遺伝子の存在は炎症性腸疾患と関連しているため、3つの全ての多型遺伝子の位置11、129/131及び208について、この分析を使用することは、極めて重要である。従って、この遺伝子分析は、試験キットを用いて同定された位置に関する分析と組み合わせられることが好ましい。

40

【0047】

111人の発端者に関する一連の試験：

1999年にハノーバー医科大学の胃腸学及び肝臓学の機関において111人の患者から試料を集めた。

【0048】

調査したグループは次のとおりである。

50

【0049】

a) 対照グループ (n = 54、44.32 ± 15.65才、男性31人/女性23人)を、腹部超音波及び内視鏡(上部又は下部)により除外して前記の癌疾患に関する所見を有していない患者として定義した。

【0050】

b) 結腸直腸癌患者 (n = 26、62.15 ± 11.65才、男性15人/女性11人)は、アムステルダムII - 基準に従って除外することにより確認された結腸直腸癌を患っている。

【0051】

c) 炎症性腸疾患 (IBD) (n = 31、36.74 ± 11.79才、男性14人/女性16人)の例は、潰瘍性大腸炎 (n = 14、35.07 ± 13.86才、男性9人/女性5人)及びクローン病 (n = 17、38.12 ± 10.00才、男性5人/女性12人)を有する。潰瘍性大腸炎及びクローン病の診断は上部及び下部の内視鏡の診断に基づき、かつ腸管バイオプシーにより組織学的に確認した。

【0052】

ゲノムDNA:

ゲノムDNAは製造元の推奨法によりQuiaAmp (R)システムを用いて完全血試料から調製した(QuiaGen, Hilden, Deutschland)。濃度データをスペクトル分析により260及び280nmで測定し、この試料をTris/EDTA緩衝液(pH8.0)10mM中、4℃で次の試験まで貯蔵した。

【0053】

UGT1A7エキソン1配列の分析:

UGT1A7エキソン1の配列をポリメラーゼ連鎖反応で増幅した。フォワードプライマーは、UGT1A7(5'-g c g g c t c g a g c c a c t t a c t a t a t t a t a g g a g c t - 3') (GenBank受入番号U39570)のATG開始コドンの上流の塩基対61~38を用いた。対応するプライマーは、UGT1A7エキソン1の配列(5'-g c g g a t a t c c a t a g g c a c t g g c t t t c c c t g a t g a c a - 3') (GenBank受入番号U89507)の塩基対855から829を用いた。UGT1A7-10エキソン1の配列は93%の相同性を示していたため、増幅の特異性を達成するためにはオープンリーディングフレーム外に上流プライマーを局在させることが必要であった。916塩基対のサイズの産物を、KCl 10mM、Tris-HCl (pH8.8)20mM、硫酸アンモニウム 10mM、硫酸マグネシウム 2mM、1% Triton X 100、各0.2mMのdNTP、ゲノムDNA 20ng、プライマー 2µM、及びVENT(exo)DNA-ポリメラーゼ 5ユニットを含む100µlの溶液中で増幅した。Perkin Elmer GeneAmp PCR 2400システムを用い、開始時に94℃で3分間、次いで94℃で3秒間、57℃で30秒間、そして72℃で30秒間を30サイクルに渡って運転した。2%アガロースゲルを用いた電気泳動でこの産物を可視化し、QuiaQuick(R)カラムを用いて製造元(QuiaGen, Hilden, Deutschland)の指示に従って精製した。PCR産物の配列を自動化蛍光色素配列決定法により2つの鎖に関して決定した((MWG-Biotech, Ebersbach, Deutschland)。この配列データを、PC-Gene-software-package(Oxford Molecular, Campbell, CA, U.S.A.)で分析した。クラスカル-ワリス試験(Kruskal-Wallis-Test)に従って統計学的分析を行った。

【0054】

GenBank(ジーンバンク) 受入番号: UGT1A7*1 : U89507
; UGT1A7*2 : AF2969226 ; UGT1A7*3 : AF292627,
UGT1A7*4 AF292627

次に、図面を用いて本発明を詳細に説明する。それぞれの図は次のものを示す。

【 0 0 5 5 】

図 1 は U G T 1 A 7 多型診断を表す。同定された多型の周囲の領域をポリメラーゼ連鎖反応 (P C R) により増幅した。この際、特異的なプライマーペアを使用した。このプライマーペアは、コドン 1 1、コドン 1 2 9 / 1 3 1 並びにコドン 2 0 8 の上流及び下流の約 5 0 塩基対と結合する。この P C R によって、1 0 0 ~ 1 5 0 b p のサイズの相補的デオキシリボ核酸フラグメント (c D N A) が作成され、これは野生型対立遺伝子に一致するか、又は同定された多型を有している。

【 0 0 5 6 】

図 2 は図 3 に定義されたような多型 U G T 1 A 7 対立遺伝子の罹患率の分析を示す。定義された多型 U G T 1 A 7 対立遺伝子をベースとするこの分析は、U G T 1 A 7 * 4 及び U G T 1 A 7 * 2 と結腸直腸癌 (C R C) との明らかな関係を示し、対照グループ (N C) の場合ではこの対立遺伝子のわずかな存在を示す。これとは反対に、炎症性腸疾患 (I B D) は U G T 1 A 7 * 4 の存在だけが関連している。C R C でも I B D でも、U G T 1 A 7 * 3 対立遺伝子との明らかな関係は見られなかった。しかしながら U G T 1 A 7 * 3 / U G T 1 A 7 * 4 ヘテロ接合個体と、C R C 及び I B D との関連は明らかであった。統計的に明らかな比較を * で表した。U G T 1 A 7 * 2 はコドン 1 1 の C C A と W 2 0 8 R 突然変異との組み合わせとして定義される。これは、2 つの突然変異が常に組み合わさっており、コドン 1 1 又はコドン 2 0 8 のヘテロ接合又はホモ接合が個別に同定できないという観察に基づいている。U G T 1 A 7 * 2 はホモ接合対立遺伝子として検出されなかった。U G T 1 A 7 * 3 は、N 1 2 9 K 及び R 1 3 1 K の組み合わせによってだけ定義された。これらの患者は N 1 2 9 K 並びに R 1 3 1 に対してもホモ接合又はヘテロ接合であった。ヘテロ接合 U G T 1 A 7 * 4 は、ヘテロ接合 U G T 1 A 7 * 2 / U G T 1 A 7 * 3 の結合を表すこともできる。

【 0 0 5 7 】

図 3 に、ヒト U G T 1 A 7 エキソン 1 配列中に同定された 3 つの多型サイトを図式的に示した。コドン 1 1 の突然変異 C C C / A はサイレントである。コドン 1 2 9、1 3 1 及び 2 0 8 の突然変異はアミノ酸の置換を生じる。この配列分析は、U G T 1 A 7 * 2、U G T 1 A 7 * 3 及び U G T 1 A 7 * 4 に帰属する 3 つの異なる多型の存在を示した。コドン 1 1 及び 2 0 8 (U G T 1 A 7 * 2) の置換、並びにコドン 1 2 0 及び 1 3 1 (U G T 1 A 7 * 3) の多型は、独立して存在しない。

【 0 0 5 8 】

図 4 は、コドン 1 1 の周辺領域と比較して、ポジション 1 2 9 / 1 3 1 及びポジション 2 0 8 の同定された多型が、保存性が高い配列領域内にあることを示す。N 1 2 9 K / R 1 3 1 K 多型はこのポジションでの U G T 1 A 9 の野生型配列を表す。W 2 0 8 R はこのポジションでの U G T 1 A 8 及び U G T 1 A 9 の野生型配列を表す。

【 0 0 5 9 】

図 5 は、W 2 0 8 R 突然変異と結腸直腸癌疾患並びに炎症性腸疾患との関係が統計的に極めて明白であることを示す。コドン 2 0 8 の突然変異 (W 2 0 8 R) は、標準対照が 2 2 % しか出現していないのに対して、結腸直腸癌の患者では 7 3 %、炎症性腸疾患の患者では 6 1 % 出現していた。U G T 1 A 7 * 2 対立遺伝子については、結腸直腸癌 (7 % に対して 1 9 %) との明らかな関係を示したが、炎症性腸疾患とは明らかな関係を示さなかった。U G T 1 A 7 * 4 対立遺伝子は、結腸直腸癌に対しても、炎症性腸疾患に対しても明らかな関係を示したが、U G T 1 A 7 * 3 に対しては明らかな関係を示さなかった (低い有意水準)。C R C 患者 (7 3 %) の場合に、標準対照 (2 2 %) と比較した W 2 0 8 R 突然変異の存在の統計的有意性は極めて高かった ($p < 0 . 0 0 0 1$)。この場合にヘテロ接合 (1 5 % に対して 5 0 %、 $p < 0 . 0 0 1$) 及びホモ接合 (7 % に対して 2 3 %、 $p < 0 . 0 2$) の W 2 0 8 R 突然変異が考慮された。この関係は、6 1 % の W 2 0 8 R 突然変異 ($p < 0 . 0 0 0 1$) を示した I B D 患者に対しては同様に明らかであるが、3 5 % のヘテロ接合及び 2 6 % のホモ接合の個体においては低い。標準対照の場合に 2 2 % までの W 2 0 8 R 突然変異の出現率の場合には、さらに血液試料採取時点での腫瘍のない状

10

20

30

40

50

態が後のCRCの発生を排除しないことに考慮すべきである。

【0060】

*の符号は、標準対照に対する有意水準を示す(Kruskal Wallis Test)。次に省略記号を説明する：n.s.は明らかでないことを示す。NCは標準対照を示す。CRCは結腸直腸癌(colorectal carcinoma)を示す。IBDは炎症性腸疾患(inflammatory bowel disease)を示す。

【0061】

【配列表】

<110> Medizinische Hochschule Hannover

10

<120> Verfahren zur Vorhersage des Gefardungspotentials f・Karzinomerk
rankungen und entz・dliche Darmerkrankungen und zugehörige Tests

<130> 3096-001 PCT-1

20

<140> WO 02/053770

<141> 2002-01-03

<160> 21

30

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 33

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 1

gcggctcgag ccacttacta tattatagga gct

33

10

<210> 2

<211> 35

<212> DNA

<213> Homo sapiens

20

<400> 2

gcggatatcc ataggcatgg ctttccctga tgaca

35

<210> 3

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 3

gggtggactg gcctccttcc a

21

10

<210> 4

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

20

<400> 4

gggtggactg gcctccttcc c

21

<210> 5

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 5

ggcaaaaacc atgaactccc g

21

10

<210> 6

<211> 30

<212> DNA

<213> Homo sapiens

20

<400> 6

ttttttcaa atgcaggag ttgtttaag

30

<210> 7

<211> 30

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 7

ttttttcaa attgcaggag ttgtttaat

30

10

<210> 8

<211> 27

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 8

aaattgcagg agttigttaa aggacaa

27

20

<210> 9

<211> 27

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 9

aaattgcagg agtttgitta atgaccg

27

<210> 10

10

<211> 27

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 10

ttctaagaca ttttgaaaa aataggg

27

20

<210> 11

<211> 28

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 11

gacgcatga ctttcaagga gagagtac

28

<210> 12

10

<211> 28

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 12

gacgcatga ctttcaagga gagagtat

28

20

<210> 13

<211> 27

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 13

tggttttccc tgatgacagt tgatacc

27

<210> 14

<211> 530

10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 14

Met	Ala	Arg	Ala	Gly	Trp	Thr	Gly	Leu	Leu	Pro	Leu	Tyr	Val	Cys	Leu
1			5					10					15		

20

Leu	Leu	Thr	Cys	Gly	Phe	Ala	Lys	Ala	Gly	Lys	Leu	Leu	Val	Val	Pro
			20				25						30		

Met	Asp	Gly	Ser	His	Trp	Phe	Thr	Met	Gln	Ser	Val	Val	Glu	Lys	Leu
		35					40					45			

Ile Leu Arg Gly His Glu Val Val Val Val Met Pro Glu Val Ser Trp
 50 55 60

Gln Leu Gly Arg Ser Leu Asn Cys Thr Val Lys Thr Tyr Ser Thr Ser
 65 70 75 80

Tyr Thr Leu Glu Asp Gln Asp Arg Glu Phe Met Val Phe Ala Asp Ala
 85 90 95

10

Arg Trp Thr Ala Pro Leu Arg Ser Ala Phe Ser Leu Leu Thr Ser Ser
 100 105 110

Ser Asn Gly Ile Phe Asp Leu Phe Phe Ser Asn Cys Arg Ser Leu Phe
 115 120 125

20

Asn Asp Arg Lys Leu Val Glu Tyr Leu Lys Glu Ser Cys Phe Asp Ala
 130 135 140

Val Phe Leu Asp Pro Phe Asp Ala Cys Gly Leu Ile Val Ala Lys Tyr
 145 150 155 160

Phe Ser Leu Pro Ser Val Val Phe Ala Arg Gly Ile Phe Cys His Tyr
 165 170 175

Leu Glu Glu Gly Ala Gln Cys Pro Ala Pro Leu Ser Tyr Val Pro Arg
 180 185 190

Leu Leu Leu Gly Phe Ser Asp Ala Met Thr Phe Lys Glu Arg Val Trp
 195 200 205

10

Asn His Ile Met His Leu Glu Glu His Leu Phe Cys Pro Tyr Phe Phe
 210 215 220

Lys Asn Val Leu Glu Ile Ala Ser Glu Ile Leu Gln Thr Pro Val Thr
 225 230 235 240

20

Ala Tyr Asp Leu Tyr Ser His Thr Ser Ile Trp Leu Leu Arg Thr Asp
 245 250 255

Phe Val Leu Glu Tyr Pro Lys Pro Val Met Pro Asn Met Ile Phe Ile
 260 265 270

Gly Gly Ile Asn Cys His Gln Gly Lys Pro Val Pro Met Glu Phe Glu
 275 280 285

Ala Tyr Ile Asn Ala Ser Gly Glu His Gly Ile Val Val Phe Ser Leu
 290 295 300

Gly Ser Met Val Ser Glu Ile Pro Glu Lys Lys Ala Met Ala Ile Ala
 305 310 315 320

10

Asp Ala Leu Gly Lys Ile Pro Gln Thr Val Leu Trp Arg Tyr Thr Gly
 325 330 335

Thr Arg Pro Ser Asn Leu Ala Asn Asn Thr Ile Leu Val Lys Trp Leu
 340 345 350

Pro Gln Asn Asp Leu Leu Gly His Pro Met Thr Arg Ala Phe Ile Thr
 355 360 365

20

His Ala Gly Ser His Gly Val Tyr Glu Ser Ile Cys Asn Gly Val Pro
 370 375 380

Met Val Met Met Pro Leu Phe Gly Asp Gln Met Asp Asn Ala Lys Arg

Met Asp Gly Ser His Trp Phe Thr Met Gln Ser Val Val Glu Lys Leu
 35 40 45

Ile Leu Arg Gly His Glu Val Val Val Val Met Pro Glu Val Ser Trp
 50 55 60

Gln Leu Gly Arg Ser Leu Asn Cys Thr Val Lys Thr Tyr Ser Thr Ser
 65 70 75 80

10

Tyr Thr Leu Glu Asp Gln Asp Arg Glu Phe Met Val Phe Ala Asp Ala
 85 90 95

Arg Trp Thr Ala Pro Leu Arg Ser Ala Phe Ser Leu Leu Thr Ser Ser
 100 105 110

20

Ser Asn Gly Ile Phe Asp Leu Phe Phe Ser Asn Cys Arg Ser Leu Phe
 115 120 125

Asn Asp Arg Lys Leu Val Glu Tyr Leu Lys Glu Ser Cys Phe Asp Ala
 130 135 140

Val Phe Leu Asp Pro Phe Asp Ala Cys Gly Leu Ile Val Ala Lys Tyr
 145 150 155 160

Phe Ser Leu Pro Ser Val Val Phe Ala Arg Gly Ile Phe Cys His Tyr
 165 170 175

Leu Glu Glu Gly Ala Gln Cys Pro Ala Pro Leu Ser Tyr Val Pro Arg
 180 185 190

10

Leu Leu Leu Gly Phe Ser Asp Ala Met Thr Phe Lys Glu Arg Val Arg
 195 200 205

Asn His Ile Met His Leu Glu Glu His Leu Phe Cys Pro Tyr Phe Phe
 210 215 220

Lys Asn Val Leu Glu Ile Ala Ser Glu Ile Leu Gln Thr Pro Val Thr
 225 230 235 240

20

Ala Tyr Asp Leu Tyr Ser His Thr Ser Ile Trp Leu Leu Arg Thr Asp
 245 250 255

Phe Val Leu Glu Tyr Pro Lys Pro Val Met Pro Asn Met Ile Phe Ile

260 265 270

Gly Gly Ile Asn Cys His Gln Gly Lys Pro Val Pro Met Glu Phe Glu
275 280 285

Ala Tyr Ile Asn Ala Ser Gly Glu His Gly Ile Val Val Phe Ser Leu
290 295 300

10

Gly Ser Met Val Ser Glu Ile Pro Glu Lys Lys Ala Met Ala Ile Ala
305 310 315 320

Asp Ala Leu Gly Lys Ile Pro Gln Thr Val Leu Trp Arg Tyr Thr Gly
325 330 335

Thr Arg Pro Ser Asn Leu Ala Asn Asn Thr Ile Leu Val Lys Trp Leu
340 345 350

20

Pro Gln Asn Asp Leu Leu Gly His Pro Met Thr Arg Ala Phe Ile Thr
355 360 365

His Ala Gly Ser His Gly Val Tyr Glu Ser Ile Cys Asn Gly Val Pro
370 375 380

Met Val Met Met Pro Leu Phe Gly Asp Gln Met Asp Asn Ala Lys Arg
 385 390 395 400

Met Glu Thr Lys Gly Ala Gly Val Thr Leu Asn Ala Leu Glu Met Thr
 405 410 415

Ser Glu Asp Leu Glu Asn Ala Leu Lys Ala Val Ile Asn Asp Lys Ser
 420 425 430

10

Phe Lys Glu Asn Ile Met Arg Leu Ser Ser Leu His Lys Asp Arg Pro
 435 440 445

Val Glu Pro Leu Asp Leu Ala Val Phe Trp Val Glu Phe Val Met Arg
 450 455 460

20

His Lys Gly Ala Pro His Leu Arg Pro Ala Ala His Asp Leu Thr Trp
 465 470 475 480

Tyr Gln Tyr His Ser Leu Asp Val Ile Gly Phe Leu Leu Ala Val Val
 485 490 495

Leu Thr Val Ala Phe Ile Thr Phe Lys Cys Cys Ala Tyr Gly Tyr Arg
 500 505 510

Lys Cys Leu Gly Lys Lys Gly Arg Val Lys Lys Ala His Lys Ser Lys
 515 520 525

Thr His
 530

10

<210> 16

<211> 530

<212> PRT

<213> Homo sapiens

20

<400> 16

Met Ala Arg Ala Gly Trp Thr Gly Leu Leu Pro Leu Tyr Val Cys Leu
 1 5 10 15

Leu Leu Thr Cys Gly Phe Ala Lys Ala Gly Lys Leu Leu Val Val Pro
20 25 30

Met Asp Gly Ser His Trp Phe Thr Met Gln Ser Val Val Glu Lys Leu
35 40 45

Ile Leu Arg Gly His Glu Val Val Val Val Met Pro Glu Val Ser Trp
50 55 60

10

Gln Leu Gly Arg Ser Leu Asn Cys Thr Val Lys Thr Tyr Ser Thr Ser
65 70 75 80

Tyr Thr Leu Glu Asp Gln Asp Arg Glu Phe Met Val Phe Ala Asp Ala
85 90 95

Arg Trp Thr Ala Pro Leu Arg Ser Ala Phe Ser Leu Leu Thr Ser Ser
100 105 110

20

Ser Asn Gly Ile Phe Asp Leu Phe Phe Ser Asn Cys Arg Ser Leu Phe
115 120 125

Lys Asp Lys Lys Leu Val Glu Tyr Leu Lys Glu Ser Cys Phe Asp Ala

130 135 140

Val Phe Leu Asp Pro Phe Asp Ala Cys Gly Leu Ile Val Ala Lys Tyr
145 150 155 160

Phe Ser Leu Pro Ser Val Val Phe Ala Arg Gly Ile Phe Cys His Tyr
165 170 175

10

Leu Glu Glu Gly Ala Gln Cys Pro Ala Pro Leu Ser Tyr Val Pro Arg
180 185 190

Leu Leu Leu Gly Phe Ser Asp Ala Met Thr Phe Lys Glu Arg Val Trp
195 200 205

Asn His Ile Met His Leu Glu Glu His Leu Phe Cys Pro Tyr Phe Phe
210 215 220

20

Lys Asn Val Leu Glu Ile Ala Ser Glu Ile Leu Gln Thr Pro Val Thr
225 230 235 240

Ala Tyr Asp Leu Tyr Ser His Thr Ser Ile Trp Leu Leu Arg Thr Asp
245 250 255

Phe Val Leu Glu Tyr Pro Lys Pro Val Met Pro Asn Met Ile Phe Ile
260 265 270

Gly Gly Ile Asn Cys His Gln Gly Lys Pro Val Pro Met Glu Phe Glu
275 280 285

Ala Tyr Ile Asn Ala Ser Gly Glu His Gly Ile Val Val Phe Ser Leu
290 295 300

Gly Ser Met Val Ser Glu Ile Pro Glu Lys Lys Ala Met Ala Ile Ala
305 310 315 320

Asp Ala Leu Gly Lys Ile Pro Gln Thr Val Leu Trp Arg Tyr Thr Gly
325 330 335

Thr Arg Pro Ser Asn Leu Ala Asn Asn Thr Ile Leu Val Lys Trp Leu
340 345 350

Pro Gln Asn Asp Leu Leu Gly His Pro Met Thr Arg Ala Phe Ile Thr
355 360 365

10

20

His Ala Gly Ser His Gly Val Tyr Glu Ser Ile Cys Asn Gly Val Pro
 370 375 380

Met Val Met Met Pro Leu Phe Gly Asp Gln Met Asp Asn Ala Lys Arg
 385 390 395 400

Met Glu Thr Lys Gly Ala Gly Val Thr Leu Asn Ala Leu Glu Met Thr
 405 410 415

10

Ser Glu Asp Leu Glu Asn Ala Leu Lys Ala Val Ile Asn Asp Lys Ser
 420 425 430

Phe Lys Glu Asn Ile Met Arg Leu Ser Ser Leu His Lys Asp Arg Pro
 435 440 445

20

Val Glu Pro Leu Asp Leu Ala Val Phe Trp Val Glu Phe Val Met Arg
 450 455 460

His Lys Gly Ala Pro His Leu Arg Pro Ala Ala His Asp Leu Thr Trp
 465 470 475 480

Tyr Gln Tyr His Ser Leu Asp Val Ile Gly Phe Leu Leu Ala Val Val
 485 490 495

Leu Thr Val Ala Phe Ile Thr Phe Lys Cys Cys Ala Tyr Gly Tyr Arg
 500 505 510

Lys Cys Leu Gly Lys Lys Gly Arg Val Lys Lys Ala His Lys Ser Lys
 515 520 525

10

Thr His
 530

<210> 17

<211> 530

<212> PRT

20

<213> Homo sapiens

<400> 17

Met Ala Arg Ala Gly Trp Thr Gly Leu Leu Pro Leu Tyr Val Cys Leu

1 5 10 15

 Leu Leu Thr Cys Gly Phe Ala Lys Ala Gly Lys Leu Leu Val Val Pro
 20 25 30

 Met Asp Gly Ser His Trp Phe Thr Met Gln Ser Val Val Glu Lys Leu
 35 40 45

 Ile Leu Arg Gly His Glu Val Val Val Val Met Pro Glu Val Ser Trp
 50 55 60

 Gln Leu Gly Arg Ser Leu Asn Cys Thr Val Lys Thr Tyr Ser Thr Ser
 65 70 75 80

 Tyr Thr Leu Glu Asp Gln Asp Arg Glu Phe Met Val Phe Ala Asp Ala
 85 90 95

 Arg Trp Thr Ala Pro Leu Arg Ser Ala Phe Ser Leu Leu Thr Ser Ser
 100 105 110

 Ser Asn Gly Ile Phe Asp Leu Phe Phe Ser Asn Cys Arg Ser Leu Phe
 115 120 125

10

20

Lys Asp Lys Lys Leu Val Glu Tyr Leu Lys Glu Ser Cys Phe Asp Ala
 130 135 140

Val Phe Leu Asp Pro Phe Asp Ala Cys Gly Leu Ile Val Ala Lys Tyr
 145 150 155 160

Phe Ser Leu Pro Ser Val Val Phe Ala Arg Gly Ile Phe Cys His Tyr
 165 170 175

10

Leu Glu Glu Gly Ala Gln Cys Pro Ala Pro Leu Ser Tyr Val Pro Arg
 180 185 190

Leu Leu Leu Gly Phe Ser Asp Ala Met Thr Phe Lys Glu Arg Val Arg
 195 200 205

20

Asn His Ile Met His Leu Glu Glu His Leu Phe Cys Pro Tyr Phe Phe
 210 215 220

Lys Asn Val Leu Glu Ile Ala Ser Glu Ile Leu Gln Thr Pro Val Thr
 225 230 235 240

Ala Tyr Asp Leu Tyr Ser His Thr Ser Ile Trp Leu Leu Arg Thr Asp
 245 250 255

Phe Val Leu Glu Tyr Pro Lys Pro Val Met Pro Asn Met Ile Phe Ile
 260 265 270

Gly Gly Ile Asn Cys His Gln Gly Lys Pro Val Pro Met Glu Phe Glu
 275 280 285

10

Ala Tyr Ile Asn Ala Ser Gly Glu His Gly Ile Val Val Phe Ser Leu
 290 295 300

Gly Ser Met Val Ser Glu Ile Pro Glu Lys Lys Ala Met Ala Ile Ala
 305 310 315 320

20

Asp Ala Leu Gly Lys Ile Pro Gln Thr Val Leu Trp Arg Tyr Thr Gly
 325 330 335

Thr Arg Pro Ser Asn Leu Ala Asn Asn Thr Ile Leu Val Lys Trp Leu
 340 345 350

Pro Gln Asn Asp Leu Leu Gly His Pro Met Thr Arg Ala Phe Ile Thr
 355 360 365

His Ala Gly Ser His Gly Val Tyr Glu Ser Ile Cys Asn Gly Val Pro
 370 375 380

Met Val Met Met Pro Leu Phe Gly Asp Gln Met Asp Asn Ala Lys Arg
 385 390 395 400

10

Met Glu Thr Lys Gly Ala Gly Val Thr Leu Asn Ala Leu Glu Met Thr
 405 410 415

Ser Glu Asp Leu Glu Asn Ala Leu Lys Ala Val Ile Asn Asp Lys Ser
 420 425 430

Phe Lys Glu Asn Ile Met Arg Leu Ser Ser Leu His Lys Asp Arg Pro
 435 440 445

20

Val Glu Pro Leu Asp Leu Ala Val Phe Trp Val Glu Phe Val Met Arg
 450 455 460

His Lys Gly Ala Pro His Leu Arg Pro Ala Ala His Asp Leu Thr Trp

<400> 18

atggctcgig cagggiggac tggcctcctt ccctataig tigtctact gctgacctgt 60
 ggctttgcc aaggcagggaa gctgctggta gtcceatgg atgggagcca ctggttcacc 120
 atgcagtcgg tggggagaa actcatctc agggggcatg aggtggtcgt agtcatgcca 180
 gaggtgagtt ggcaactggg aagatcacig aattgcacag tgaagactta ctcaacctca 240
 tacactctgg aggatcagga cggggagtic atggttttg ccatgctcg ctggacggca 300
 ccattgcgaa gtcattttc tctattaaca agttcatcca atggtatttt tgacttattt 360
 ttttcaaatt gcaggagttt gtttaatgac cgaaaattag tagaatactt aaaggagagt 420
 tgttttgatg cagtgtttct ccatctttt gatgcctgtg gcttaattgt tgccaaatat 480
 ttctccctcc cctcgtggtt ctccgccagg ggaatatttt gccactatct tgaagaaggt 540
 gcacagtgcc ctgctcctct ttctatgic cccagacttc tcttagggtt ctgagacgcc 600
 atgactttca aggagagagt atggaaccac atcatgcact tggaggaaca ttatttttgc 660
 ccctattttt tcaaaaatgt cttagaata gccctcigaaa ttctccaaac cctgttcacg 720
 gcataatgac tctacagcca cacatcaatt tggttgttgc gaactgactt tgtttggag 780
 tatcccaaac cgtgatgcc caataatgac ttcatgggtg giatcaactg tcatcagga 840

10

20

aagccagtgc ctatggaatt tgaagcctac attaatgctt ctggagaaca tggaaatgtg 900
gttttcctt tgggatcaat ggtctcagaa atccagaga agaaagctat ggcaatgct 960
gatgcittgg gcaaaatccc tcagacagtc ctgtggcggc acatgggaac ccgaccatcg 1020
aatcttgcga acaacacgat acttgtaag tggctacccc aaaacgatct gcttggtcac 1080
ccgatgacc gigccttat cacccatgct ggttcccatg gigtatatga aagcatatgc 1140
aatggcgttc ccatggtgat gatgccctig ttgggatc agatggaca tgcaaagcgc 1200
atggagacta agggagctgg agtgaccctg aatgctctgg aatgacttc tgaagattta 1260
gaaaatgctc taaaagcagt catcaatgac aaaagtcca aggagaacat catgcgctc 1320
tccagccttc acaaggaccg cccggiggag ccgctggacc tggccgtgtt ctgggiggag 1380
tttggatga ggcacaaggc cgcgccacac ctgcgccccg cagcccacga cctcacctgg 1440
taccagtacc atcccttggc cgatggtgtt ttctcttgg ccgtcgtgtc gacagtggcc 1500
ttcatcacct ttaaagtgtg tgcttatggc taccggaat gcttggggaa aaaaggcga 1560
gtaagaaag cccacaaac caagacccat tga 1593

10

20

<211> 1593

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 19

aiggtcgtg caggtggac tggctcctt ccactatag tgtgtctact gctgacctgt	60	10
ggctttgccaggcagggaa gctgctggta gtcctatgg atgggagcca ctggttcacc	120	
aigcagtcgg tggaggagaa actcactctc agggggcag aggtggctgt agtcaigcca	180	
gaggtagit ggcaactggg aagatcactg aattgcacag tgaagactta ccaacctca	240	
tacactctgg aggatcagga cgggagttc atggtttttg ccatgctctg ctggacggca	300	
ccattgcgaa gtcattttc tctattaaca agttcatcca atggtatttt tgacttattt	360	20
ttttcaaatt gcaggagttt gtttaatgac cgaaaattag tagaatactt aaaggagagt	420	
tgttttgaig cagtgtttct ccatcctttt gatgctgtg gcttaattgt tgccaaatat	480	
ttctcctcc cctctgtgtt ctccgccagg ggaatatttt gccactatct tgaagaaggt	540	
gcacagtgcc ctgctcctct ttccatgct cccagacttc tcttagggtt ctgagacgcc	600	

atgactttca aggagagagt acggaaccac atcatgcact tggaggaaca ttatatttgc 660
 ccctatitit tcaaaaatgt citagaata gcctcigaaa tctccaac ccctgtcacg 720
 gcataigatc tctacagcca cacatcaatt tggttgttgc gaactgactt tgtttggag 780
 tatcccaaac cgtgatgcc caatgatc ttcattggtg giatcaactg tcatcagga 840
 aagccagtgc ctatggaat tgaagcctac attaatgctt ciggagaaca tggaatgtg 900
 gttttctctt tgggatcaat ggtctcagaa atccagaga agaaagctat ggcaatgct 960
 gatgctttgg gcaaaatccc tcagacagtc ctgtggcgtt acactggaac cggaccatcg 1020
 aatcttgcga acaacacgat acttgtaag tggctacccc aaaacgatct gcttggtcac 1080
 ccgatgacc gtcctttat cacccatgct ggttcccatg gigtttatga aagcatatgc 1140
 aatggcgttc ccatggtgat gatgcccttg ttgggtgatc agatggacaa tgcaaagcgc 1200
 atggagacta agggagctgg agtgaccctg aatgctctgg aatgacttc tgaagattta 1260
 gaaaatgctc taaaagcagt catcaatgac aaaagtcca aggagaacat catgcgctc 1320
 tccagccttc acaaggaccg cccggiggag ccgctggacc tggccgtgtt ctgggtggag 1380
 ttgtgatga ggcacaaggg cgcgccacac ctgcgccccg cagcccacga cctcacctgg 1440
 taccagtacc atctctgga cgtgatgtt ttcctcttgg ccgtcgtgct gacagtgccc 1500

10

20

ttcatcacct ttaaagtig tgcttatggc taccggaat gcttgggaa aaaaggcga 1560

gtaagaaag cccacaaac caagacccat tga 1593

<210> 20

<211> 1593

<212> DNA

<213> Homo sapiens

10

<400> 20

aiggctcgtg cagggtggac tggccctctt ccctatatg tigtcttact gcigacctgt 60

ggcttggcca aggcaggaa gctgcggta gggccatgg aiggagcca cgggtcacc 120

aigcagtcgg tggggagaa actcatcctc aggggcatg aggtgtcgt agcatgcca 180

gaggtagiti ggcaactggg aagatcactg aatgcacag tgaagactta ctcaacctca 240

tacactctgg aggatcagga ccgggagtic aiggtttttg ccgatgctcg cggacggca 300

ccattggaa gtcattttc tctattaaca agttcatcca aiggtatttt tgacttattt 360

20

ttttcaaat gcaggagttt gtttaaggac aaaaaattag tagaatactt aaaggagagt 420
tgtttgaig cagtgtttct cgatcctttt gatgcctgtg gcttaattgt tgccaatat 480
ttctccctcc cctcigtgtt ctctgccagg ggaatatttt gccactatct tgaagaaggt 540
gcacagtgcc ctgctcctct ttcciatgtc cccagacttc tcttagggtt ctacagagcc 600
atgacittca aggagagagt atggaaccac atcatgcact tggaggaaca tttattttgc 660
ccctattttt tcaaaaatgt cttagaaata gcctcigaaa ttctccaaac cctgtcagc 720
gcataigatc tctacagcca cacatcaatt tggttgttc gaactgactt tgtttggag 780
tatccaaac ccgtgatgcc caataigatc ttcatgggtg gtatcaactg tcatcagga 840
aagccagtgc ctatggaatt tgaagcctac attaatgctt ciggagaaca tggaaatgtg 900
gttttctctt tgggatcaat ggtctcagaa atccagaga agaaagctat ggcaattgct 960
gatgcittgg gcaaaaatccc tcagacagtc ctgtggcgtt acactggaac ccgaccatcg 1020
aatcttgcga acaacacgat acttgtaag tggctacccc aaaacgatct gcttggtcac 1080
ccgatgacc gtgcctttat cacccatgct ggttcccatg gtgtttatga aagcatatgc 1140
aatggcgttc ccatggatgat gatgcccttg ttgggtgatc agatggacaa tgcaaagcgc 1200
atggagacta agggagctgg agtgaccctg aatgctctgg aatgacttc tgaagattta 1260

10

20

gaaaatgctc taaaagcagt catcaatgac aaaagtcca aggagaacat catgcgctc 1320
 tccagccttc acaaggaccg cccggiggag cgcctggacc tggccgtgtt ctgggiggag 1380
 ttigtgatga ggcacaaggc cgcgccacac ctgcgccccg cagcccacga cctcacctgg 1440
 taccagtacc attccttggc cgtgatggc ttccctctgg ccgtcgtgct gacagtggcc 1500
 ttcatcacct ttaaagtgtg tgcttatggc taccggaat gcttggggaa aaaaggcga 1560
 gtaagaaag cccacaatc caagacccat tga 1593

10

<210> 21

<211> 1593

<212> DNA

<213> Homo sapiens

20

<400> 21

atggctcgig caggiggac tggcctcctt ccaactataig tigtctact gctgacctgt 60
 ggctttgcca aggcaggaa gctgctggia gtgccatgg atggagcca ctggttcacc 120

atgcagtcgg tggiggagaa acfcaicctc agggggcatg aggtggctgt agtcaigcca 180
gaggigagtt ggcaactggg aagatcacig aattgcacag tgaagactta cicaacctca 240
tacacictgg aggatcagga cggggagtic aiggttttig ccgatgctcg ciggacggca 300
ccattgcgaa gfgcatttc tctattaaca agttcatcca atggtatfff tgacttattt 360
ttttcaaat gcaggagttt gtttaaggac aaaaaattag tagaatactt aaaggagagt 420
tgttttgag cagtgtttct cgatcctttt gatgctgtg gcttaattgt tgccaataat 480
ttctccctcc cctctgtgtt cttcgccagg ggaatatttt gccactatct tgaagaaggt 540
gcacagtgcc ctgctcctct ttctatgtc cccagacttc tcttagggtt ctacagaccc 600
atgactttca agggagagat acggaaccac atcatgcact tggaggaaca ttatatttgc 660
ccctattttt tcaaaaatgt cttagaataa gcctctgaaa ttctccaaac ccctgtcacg 720
gcataigatc tctacagcca cacatcaatt tggttgttgc gaactgactt tgttttgag 780
tatcccaaac ccgtgatgcc caataigatc ttcatiggtg giatcaactg tcatcagga 840
aagccagtgc ctatggaatt tgaagcctac ataatgctt ciggagaaca tggaaattgtg 900
gttttctctt tgggatcaat ggtctcagaa atccagaga agaaagctat ggcaattgct 960
gatgcittgg gcaaaatccc tcagacagtc cigtggcgtt acactggaac ccgaccatcg 1020
aatcttgcca acaacacgat acttgitaag tggctacccc aaaacgatct gcttggtcac 1080
ccgatgacct gfgcctttat cacccatgct ggttccaatg gfgtttatga aagcatatgc 1140
aatggcgttc ccattggtgat gatgcccttg ttgggtgatc agatggacaa tgcaaagcgc 1200
atggagacta agggagctgg agtgacctg aatgctctgg aatgacttc tgaagattta 1260
gaaaatgctc taaaagcagt catcaatgac aaaagttca aggagaacat catgccttc 1320
tccagccttc acaaggaccg cccggiggag ccgctggacc tggccgtgtt cigggtggag 1380
tttgtatga ggcacaaggg cgcgccacac ctgcgccccg cagcccacga cctcacctgg 1440
taccagtacc atctcttga cgtgatgtgt ttctcttgg ccgtctgtct gacagtggcc 1500
ttcatcacct taaaigtig tcttatggc taccggaat gcttgggaa aaaagggcga 1560
gtaagaaaag cccacaaatc caagacccat tga 1593

10

20

30

40

50

【図面の簡単な説明】

【図1】 図1はUGT1A7多型診断を図式的に示す図。

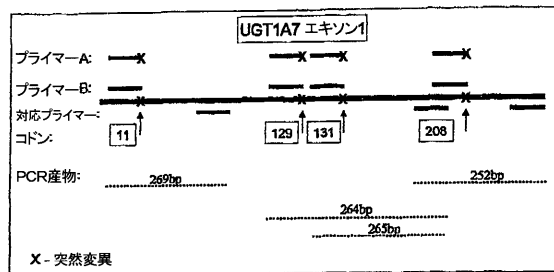
【図2】 図2はUGT1A7*2及びUGT1A7*4とNC、CRC及びIBDとの関連を示す。

【図3】 図3はヒトUGT1A7エキソン1配列の多型位置(サイト)を示す。

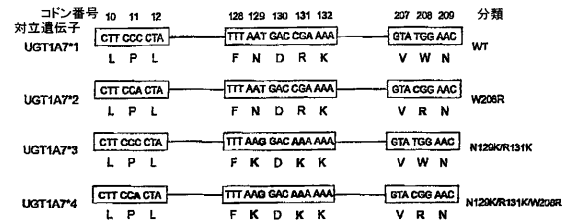
【図4】 図4はコドン11、129、131及び208の周辺領域の比較を示す。

【図5】 図5はW208R突然変異と結腸直腸癌及び炎症性腸疾患との関連を示す。

【図1】



【図3】



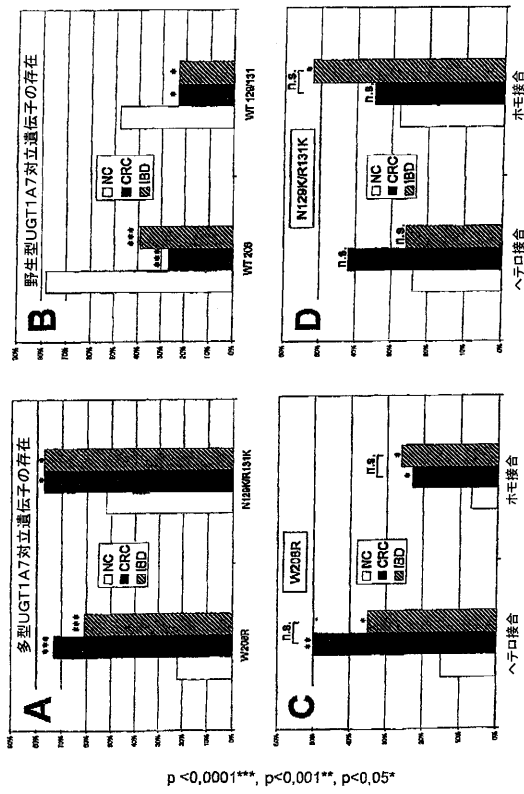
【図2】

対立遺伝子		NC	CRC	IBD
UGT1A7*1	野生型	48%	4%	6%
UGT1A7*2	+/+	0%	0%	0%
UGT1A7*2	+/-	5%	19%*	3%
UGT1A7*3	+/+	16%	0%	10%
UGT1A7*3	+/-	18%	23%	10%
UGT1A7*4	+/+	7%	23%*	26%*
UGT1A7*4	+/-	3%	19%*	16%*
UGT1A7*3/UGT1A7*4	複合ヘテロ接合	3%	12%	16%*
UGT1A7*4 (+/+) and UGT1A7*3/UGT1A7*4		10%	35%*	50%*

【図4】

アミノ酸番号	aa 7 - 15	aa 127 - 134	aa 205 - 213
UGT1A1	GGRP-LVVG---	LLHNKELM---	QRVKNMLIA-
UGT1A3	VPLPWLATG---	LLHNEALI---	QRVKNMLYP-
UGT1A4	VPLPQLATG---	LLHNEALI---	QRVKNMLYP-
UGT1A5	VPLPRLATG---	LLHNEALI---	QRVKNMLYP-
UGT1A6	RSFORISAG---	LLQDRDTL---	QRVANFLVN-
UGT1A7	TGLLPLVVC---	LFNDRKLV---	ERVWNHIMH-
UGT1A8	TSPLEPCVS---	LFNDRKLV---	ERVRNHIMH-
UGT1A9	TSPLEPCVC---	LFKDKKLV---	ERVRNHIMH-
UGT1A10	DQPRSFMCV---	LFNDRKLV---	ERVWNHIVH-
UGT1A7 多型		N129K/R131K	W208R

【 図 5 】



フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
G 0 1 N 33/60 (2006.01) G 0 1 N 33/60 Z

(74)代理人 100075672

弁理士 峰 隆司

(74)代理人 100109830

弁理士 福原 淑弘

(74)代理人 100084618

弁理士 村松 貞男

(74)代理人 100092196

弁理士 橋本 良郎

(72)発明者 マンス、ミヒャエル

ドイツ連邦共和国、デー - 3 0 9 1 6 イサーンハーゲン、ゾンネンアレー 2 3

(72)発明者 ストラスブルグ、クリスチャン

ドイツ連邦共和国、デー - 3 0 6 2 7 ハノーバー、ドラチェンフェルト 7 9

審査官 石丸 聡

(56)参考文献 Pharmacogenetics, vol. 10, pp. 629-644 (2000)

Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol., vol. 40, pp. 581-616 (2000)

Cancer Res., vol. 60, pp. 6921-6926 (2000)

Biochem. Biophys. Res. Commun., vol. 260, pp. 199-202 (1999)

Gastroenterology, vol. 124, pages 1802-1808 (2003)

Gastroenterology, vol. 121, pp. 1136-1144 (Nov. 2001)

Z. Gastroenterol., vol. 40, pp. 497-502 (2002)

Gut, vol. 50, pp. 851-856 (2002)

Jpn. J. Cancer Res., vol. 93, pp. 591-597 (2002)

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

C12Q 1/68

C12N 15/09

BIOSIS/MEDLINE/WPIDS/CAplus(STN)

GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq

UniProt/GeneSeq

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII)

专利名称(译)	预测癌症疾病和炎症性肠病的潜在风险的方法和通过该方法测试		
公开(公告)号	JP4274796B2	公开(公告)日	2009-06-10
申请号	JP2002555273	申请日	2002-01-03
[标]申请(专利权)人(译)	MEDI梓丹麦嗜嗜学派汉诺威		
[标]发明人	マンスミヒヤエル ストラスブルグクリスチャン		
发明人	マンス、ミヒヤエル ストラスブルグ、クリスチャン		
IPC分类号	C12Q1/68 C12N15/09 G01N27/447 G01N33/566 G01N33/58 G01N33/60 G01N33/53 A61K38/45 A61K48/00 A61P3/04 A61P35/00 A61P39/02 A61P43/00 C07K14/47 C12M1/00 C12M1/34 C12N9/10 C12Q1/48 C12Q1/6886		
CPC分类号	A61P3/04 A61P35/00 A61P39/02 A61P43/00 C07K14/47 C12Q1/6886 C12Q2600/156 C12Q2600/172		
FI分类号	C12Q1/68.A C12N15/00.ZNA.A G01N27/26.315.Z G01N33/566 G01N33/58.A G01N33/60.Z		
代理人(译)	河野 哲 中村 诚		
审查员(译)	石丸 聡		
优先权	10100238 2001-01-05 DE		
其他公开文献	JP2004533808A		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

要解决的问题：提供预测癌症和炎症性肠病的潜在风险的方法和使用该方法进行测试。在预测癌症疾病和炎症性肠病的潜在风险的方法和/或诊断它的方法中，测试DNA样品中多态性UGT1A7等位基因的存在。阳性突变被认为是癌症疾病的阳性敏感性的指标。类似地，可以预测对炎症性肠病的易感性。在该方法中，用DNA样品PCR扩增外显子1，然后进行序列分析，并将测定的序列与野生型序列和多态性等位基因的序列进行比较。通过使用自动荧光染色测序对相关cDNA进行测序来检查突变的存在或不存在。重组UGT1A7酶也用于治疗目的。点域1

多型	プライマー種	配列	産物サイズ
コドン11	A	gggtgactggcctcctcca	269 bp
	B	gggtgactggcctcctc	
	リバー	ggcaaaaaccatgaactcgg	
コドン129	A	tttttcaaatgcaggagttgittaag	264 bp
	B	tttttcaaatgcaggagttgittaaf	
	リバー	ttctaagacatttgaaaaatagg	
コドン131	A	aaattgcaggagttgittaaggacaa	271 bp
	B	aaattgcaggagttgittaagaccg	
	リバー	ttctaagacatttgaaaaatagg	
コドン208	A	gacgccatgacttcaaggagagagtac	252 bp
	B	gacgccatgacttcaaggagagagtat	
	リバー	tggtttccctgatgacagttgatacc	