

(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 - 506074

(P2003 - 506074A)

(43)公表日 平成15年2月18日 (2003.2.18)

(51) Int.Cl ⁷	識別記号	F I	テ-マコード* (参考)
C 1 2 N 15/09		A 0 1 K 67/027	2 G 0 4 5
A 0 1 K 67/027		C 0 7 K 14/705	4 B 0 2 4
C 0 7 K 14/705		16/28	4 B 0 6 3
16/28		C 1 2 Q 1/68	A 4 H 0 4 5
C 1 2 N 15/01		G 0 1 N 33/15	Z

審査請求 未請求 予備審査請求 (全142数) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2001 - 515799(P2001 - 515799)

(86)(22)出願日 平成12年8月2日(2000.8.2)

(85)翻訳文提出日 平成14年2月12日(2002.2.12)

(86)国際出願番号 PCT/US00/21097

(87)国際公開番号 W001/0111010

(87)国際公開日 平成13年2月15日(2001.2.15)

(31)優先権主張番号 60/147,860

(32)優先日 平成11年8月9日(1999.8.9)

(33)優先権主張国 米国(US)

(71)出願人 ジェネッサンス ファーマシューティカルズ, インコーポレイティド

アメリカ合衆国,コネチカット 06511, ニューヘブン, ファイブ サイエンス パーク

(72)発明者 チュー, アン

アメリカ合衆国,コネチカット 06511, ニューヘブン, オレンジ ストリート 837, アパートメント 2

(72)発明者 デントン, アール. レックス

アメリカ合衆国,コネチカット 06443, マディソン, ハンターズ トレイル 129

(74)代理人 弁理士 石田 敬 (外4名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 薬剤標的的同質遺伝子：免疫グロブリンE受容体 I A L P H A サブユニット遺伝子における多型

(57)【要約】

ヒトの免疫グロブリンE受容体 I A l p h a サブユニット (I G E R A) 遺伝子における、22の新規単一ヌクレオチド多型の内の一つまたはそれ以上から成る、ポリヌクレオチドが説明されている。これらの多型の内の一つまたはそれ以上を検出する構成体及び方法もまた、開示されている。更に、その個体群に存在する I G E R A 遺伝子に対する多様な遺伝子型及びハプロタイプが、説明されている。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 以下の群から選択された一つのヌクレオチド塩基配列を含む単離されたポリヌクレオチド：

(a) 免疫グロブリンE受容体 I Alpha サブユニット (IGERA) 遺伝子またはその断片についての参照塩基配列の多型変異体である第一のヌクレオチド配列、ここで、前記参照塩基配列は配列番号：1を含んで成り、前記多型変異体が少なくとも以下から成る群から選択される一つの多型を含む：PS1におけるグアニン、PS2におけるシトシン、PS3におけるシトシン、PS4におけるチミン、PS5におけるアデニン、PS6におけるシトシン、PS7におけるアデニン、PS8におけるチミン、PS9におけるグアニン、PS10におけるグアニン、PS11におけるアデニン、PS12におけるシトシン、PS13におけるアデニン、PS14におけるアデニン、PS15におけるアデニン、PS16におけるチミン、PS17におけるチミン、PS18におけるシトシン、PS19におけるアデニン、PS20におけるシトシン、PS21におけるグアニン、PS22におけるアデニン；並びに

(b) 第一のヌクレオチド塩基配列に相補的である第二のヌクレオチド塩基配列。

【請求項2】 IGERA 同質遺伝子 (isogene) から成る請求項1に記載の単離されたポリヌクレオチド。

【請求項3】 DNA 分子であり、そして第一のヌクレオチド塩基配列及び第二のヌクレオチド塩基配列の双方を含んで成り、更に第一のヌクレオチド塩基配列に使用可能に連結された発現制御要素を含んで成る請求項1に記載の単離ポリヌクレオチド。

【請求項4】 請求項1に記載の単離されたポリヌクレオチドにより形質転換または形質移入されており、そして第一のヌクレオチド塩基配列によりコードされたIGERA 蛋白質を発現する生物体。

【請求項5】 ヒト以外のトランスジェニック動物である請求項4に記載の組換え生物体。

【請求項6】 請求項1に記載の単離されたポリヌクレオチドで、第一のヌクレオチド塩基配列がIGERA 遺伝子の断片の多型変異体で、その断片が以下から

成る群から選択された一つまたはそれ以上の多型から成るもの：PS1 におけるグアニン、PS2 におけるシトシン、PS3 におけるシトシン、PS4 におけるチミン、PS5 におけるアデニン、PS6 におけるシトシン、PS7 におけるアデニン、PS8 におけるチミン、PS9 におけるグアニン、PS10におけるグアニン、PS11におけるアデニン、PS12におけるシトシン、PS13におけるアデニン、PS14におけるアデニン、PS15におけるアデニン、PS16におけるチミン、PS17におけるチミン、PS18におけるシトシン、PS19におけるアデニン、PS20におけるシトシン、PS21におけるグアニン、PS22におけるアデニン。

【請求項7】 IGERA cDNAあるいはその断片についての参照塩基配列の多型変異体であるヌクレオチド塩基配列を含んで成る単離されたポリヌクレオチドで、その参照塩基配列が配列番号：2を含んで成りその多型変異体が以下から成る群から選択された少なくとも一つの多型を含んで成るもの：ヌクレオチド251 に対応する位置におけるグアニン、ヌクレオチド302 に対応する位置におけるアデニン、ヌクレオチド530 に対応する位置におけるチミン、及びヌクレオチド471 に対応する位置におけるアデニン。

【請求項8】 請求項7に記載の単離されたポリヌクレオチドにより形質転換または形質移入された組換え生物体で、その生物体が多型変異体塩基配列によりコードされた免疫グロブリンE受容体I Alpha サブユニット(IGERA)蛋白質を発現するもの。

【請求項9】 ヒト以外の遺伝子導入動物である請求項8に記載の組換え生物体。

【請求項10】 IGERA 蛋白質あるいはその断片についての参照アミノ酸配列の多型変異体であるアミノ酸配列を含んで成る単離されたポリペプチドで、その参照アミノ酸配列が配列番号：3を含んで成り、その多型変異体が、アミノ酸84位に対応する位置におけるアルギニン、アミノ酸101位に対応する位置におけるアスパラギン、アミノ酸177位に対応する位置におけるメチオニン、アミノ酸247位に対応する位置におけるリジンから成る群から選択された少なくとも一つのアミノ酸を有するもの。

【請求項11】 請求項10に記載の単離されたポリペプチドに対して特異的

に反応し、其れに対して免疫反応性を持つ単離された抗体。

【請求項12】 IGERA 多型変異体を候補薬剤に接触させ結合活性度を測定する、請求項10に記載の単離されたポリペプチドを標的とした薬剤のスクリーニング方法。

【請求項13】 PS1~22 から選択された多型部位に存在する免疫グロブリンE受容体 I Alpha サブユニット (IGERA) 遺伝子における多型を検出する、少なくとも一つの遺伝子型化ヌクレオチドを含んで成る組成物。

【請求項14】 請求項13に記載の組成物で、遺伝子型決定ヌクレオチドが、その多型部位を含む領域において IGERA 遺伝子の対立遺伝子に対して特異的にハイブリダイゼーションする対立遺伝子特異的オリゴヌクレオチドであるもの。

【請求項15】 請求項14に記載の組成物で、対立遺伝子特異的オリゴヌクレオチドが、配列番号：4~47、配列番号：4~47の相補配列、及び配列番号：48~135 から成る群から選択されたヌクレオチド塩基配列から成るもの。

【請求項16】 請求項13に記載の組成物で、遺伝子型決定ヌクレオチドが、プライマー伸張オリゴヌクレオチドであるもの。

【請求項17】 個体に存在する IGERA 遺伝子の二つのコピーについて、PS1~22 から選択された一つまたはそれ以上の多型部位 (PS) におけるヌクレオチドペアを決定することを含んで成る、個体の免疫グロブリンE受容体 I Alpha サブユニット (IGERA) の遺伝子型を決定する方法。

【請求項18】 請求項17に記載の方法で、決定ステップが以下の項目を含んでなるもの：

(a) 個体から、その個体に存在する IGERA 遺伝子あるいはその断片の二つのコピーを含んで成る核酸混合物を単離するステップ；

(b) その核酸混合物から、少なくとも一つの多型部位を含む標的領域を増幅するステップ；

(c) プライマー伸張オリゴヌクレオチドをその増幅標的領域の一つの対立遺伝子に対してハイブリダイゼーションさせるステップ；

(d) 核酸テンプレート依存性プライマー伸張反応を、ハイブリダイゼーションされた遺伝子型決定オリゴヌクレオチド上で、少なくとも二つの異なった反応

ターミネーターが存在する状態で行うステップで、前記ターミネーターが、その多型部位に存在する択一的ヌクレオチドに対して相補的であるもの；及び

(e) 伸張遺伝子型化オリゴヌクレオチド内のターミネーターの存在とその同定をするステップ。

【請求項19】 ある個体に存在する IGERA 遺伝子の一つのコピーについて、PS 1 ~ 22から選択された一つあるいはそれ以上の多型部位 (PS) におけるヌクレオチドを決定することを含んで成る、個体の免疫グロブリン E 受容体 I Alpha サブユニット (IGERA) 遺伝子をハプロタイプ化する方法。

【請求項20】 請求項19に記載の方法で、決定ステップが以下の項目を含むもの：

(a) 個体から、その個体に存在する IGERA 遺伝子あるいはその断片の二つのコピーの一つのみから成る核酸分子を単離するステップ；

(b) その核酸分子から、少なくとも一つの多型部位を含む標的領域を増幅するステップ；

(c) プライマー伸張オリゴヌクレオチドをその増幅標的領域の一つの対立遺伝子に対してハイブリダイゼーションさせるステップ；

(d) 核酸テンプレート依存性プライマー伸張反応を、ハイブリダイゼーションされた遺伝子型決定オリゴヌクレオチド上で、少なくとも二つの異なった反応ターミネーターが存在する状態で行うステップで、前記ターミネーターが、その多型部位に存在する択一的ヌクレオチドに対して相補的であるもの；及び

(e) 伸張遺伝子型化オリゴヌクレオチド内のターミネーターの存在とその同定をするステップ。

【請求項21】 ある個体の免疫グロブリン E 受容体 I Alpha サブユニット (IGERA) 遺伝子に対するハプロタイプペアを予測する方法で、以下のステップを含んでなるもの：

(a) PS1 ~ 22 から選択された二つあるいはそれ以上の多型部位における、その個体に対する IGERA 遺伝子型を同定するステップ；

(b) その遺伝子型と矛盾しない全ての可能なハプロタイプペアを列記するステップ；

(c) 参照個体群において決定されたIGERA ハプロタイプペアを含むデータにアクセスするステップ; 及び

(d) その個体に対して、データと矛盾しないハプロタイプペアを割り当てるステップ。

【請求項22】 ある形質と免疫グロブリンE受容体IAlphaサブユニット(IGERA)遺伝子の少なくともひとつの遺伝子型あるいはハプロタイプ間の関連性を同定する方法で、その形質を呈しているある個体群の遺伝子型あるいはハプロタイプの頻度を参照個体群の遺伝子型あるいはハプロタイプの頻度と比較することを含んで成り、遺伝子型あるいはハプロタイプはPS1~22から選択された一つまたはそれ以上の多型部位に位置するヌクレオチドペアあるいはヌクレオチドを含んで成り、参照個体群に比べて形質個体群における遺伝子型あるいはハプロタイプの頻度がより高い場合に、その形質が遺伝子型あるいはハプロタイプに関連性があることになるもの。

【請求項23】 請求項22に記載の方法で、ハプロタイプが表5に表示されているハプロタイプ番号1~20から選択されているもの。

【請求項24】 請求項23に記載の方法で、形質が、IGERAを標的とした薬剤に対する臨床応答であるもの。

【請求項25】 免疫グロブリンE受容体IAlphaサブユニット遺伝子に対する多型データを保存または分析するコンピュータシステムで、以下の項目を含んでなるもの:

- (a) 中央処理装置(CPU);
- (b) コミュニケーションインターフェース;
- (c) 表示装置;
- (d) 入力装置; 及び
- (e) 多型データを含むデータベース;

更に、多型データが、表4に表示されている遺伝子型及びハプロタイプ、及び表5に表示されているハプロタイプから成るもの。

【請求項26】 表5に表示されているハプロタイプ1~20によって定義されるIGERA同質遺伝子から成る、免疫グロブリンE受容体IAlphaサブユニット

遺伝子に対するゲノム集。

【発明の詳細な説明】**【0001】**

発明の産業分野

本発明は、薬学的に重要な蛋白質をコードする遺伝子における変異に関する。特に、本発明は、ヒトの免疫グロブリンE受容体IAlphaサブユニット(IGERA)遺伝子の変異体を提供し、又これらの遺伝子のどの変異体が個体によって所有されているかを同定する方法を提供する。

【0002】

発明の背景

疾病治療のための薬剤を同定する現行の方法は、その疾病に関連する重要な標的蛋白質の同定、クローニング、発現により始まることが多い。その後、疾病を有する患者の利益となる効果を発するためには作用物質(アゴニスト)が必要なのかあるいは拮抗物質(アンタゴニスト)が必要なのかが決定される。更に、新しい有望な薬剤の発見を目的として、非常に多くの化合物が標的蛋白質に対して検査される。この過程の成果として望まれているのは、標的に対して特異的で、意図しない標的における化合物の活性によって引き起こされる望ましくない副作用の出現率を減少させる薬剤である。

【0003】

しかしながら、このアプローチで考慮されていないのは、特定の蛋白質に関して、いかなる個体群にも自然の変異性が存在するということである。現在薬剤検査に一般的に使用されている標的蛋白質は、任意に選択された個体群に基づいてクローンされた遺伝子により発現されている。しかしながら、ある特定の遺伝子のヌクレオチド塩基配列は、個体間で著しく異なることがある。標的蛋白質をコードする遺伝子の主たるヌクレオチド塩基配列における微妙な変化は、その蛋白質の発現において、さらに構造及び/または機能において重要な変異として表われることになる。

【0004】

それによって、単一の代表標的に基づいてデザインされた薬剤で個体を治療する際に生ずる比較的高度の不確実性を説明できる。例えば、ある種の薬剤はある

個体に対してその他の個体に比してその効果が低いことがよくあることが良く知られている。したがって、そのような個体及びその医師は、副作用によるリスクと、多量の服容量による益とを比較検討しなければならない。更に、ある蛋白質の生物学的機能あるいは効果に関する様々な情報が混在しているのは、別々の科学者がその蛋白質をコードする遺伝子の異なるアイソフォーム(isoform)をそれと知らずに研究しているからである。従って、薬学的に重要な蛋白質に対して存在するゲノム変異の型及び頻度に関する情報は、有用である。

【0005】

ある遺伝子の主たる塩基配列における単一ヌクレオチドの変異体(一塩基多型)を遺伝形質の単位となる限られた数の組み合わせに整理されたものを、ハプロタイプと呼ぶ。従って、それぞれのハプロタイプは、個々の整理されていない多型より、非常に多くの情報を含んでいる。ハプロタイプにより、ある個体の二つの染色体におけるゲノム変異を正確に表すことができる。

【0006】

多くの疾病が遺伝子塩基配列における特定の変異に関連していることは、周知である。しかしながら、個々の多型が特定の表現型に対する遺伝的マーカーとして作用する例がある一方で、個々の多型が多様なゲノム背景に見出されることがある。従って、多型と表現型の原因となる部位の間に確定的な関係は無い(Clark AG et al. 1998 Am J Hum Genet 63 : 595-612 ; Ulbrecht M et al. 2000 Am J Respir Crit Care Med 161 : 469-74)。更に、マーカーはある個体群では予測的であるが、他の個体群ではそうではない(Clark AG et al. 1998 supra)。これらの事例において、ハプロタイプは、表現型に対する優れた遺伝子マーカーを提供する(Clark AG et al. 1998 supra ; Ulbrecht M et al. 2000 supra ; Ruano G & Stephens JC Gen Eng News 19 (21), December 1999)。

【0007】

各々の観察されるハプロタイプと特定の表現型間の関係を分析すると、各々のハプロタイプを表現型に対する統計学的予測により、階級付けることができる。表現型と強力に関連しているとされるハプロタイプについて、虚偽の正の相関を最小限に抑えるため、他の方法でその正の相関を確認する。ある特定の表現型と

の関連があると思われる遺伝子について、その遺伝子に対する観察されるハプロタイプが対象表現型との関連性を示していなければ、その遺伝子における変異にはその表現型との関連性がほとんど無いと推測される (Ruano & Stephens 1999, supra)。従って、様々な個体群において観察されるハプロタイプとその頻度に関する情報は、種々の研究及び臨床応用において有用である。

【0008】

免疫応答に関与している薬剤標的のひとつは、免疫グロブリンE受容体 I Alpha サブユニット (IGERA) 遺伝子あるいはそれによってコードされた物質である。

高親和性IgE受容体 (IgERI) は抗体Fc受容体のファミリーに属す。このファミリーは分泌抗体の特異性を多種の免疫システムの細胞に関連付けることにより免疫反応において重要な役割を果たす。Fc受容体は、正常免疫、アレルギー、抗体に仲介される腫瘍の認識、関節炎のような自己免疫疾患において、免疫システム反応を始動させる。高親和性IgE受容体 (IgERI) は、IgE依存性末梢性及び全身性アナフィラキシーを仲介し、IgE代謝を司り、免疫システムの多種の細胞の成長と分化においてある役割を果たす。

【0009】

IgERI は、マスト細胞及び好塩基球より即時型過敏症反応を始動させ、証拠の示すところによると、この受容体は血小板及び好酸球からの抗奇性反応、及びT細胞を活性化するMHCクラスIIの提示経路において、樹状細胞への抗原提示に関与している。更に、IgERI は、マスト細胞及びBリンパ球の分化と成長のみならず、IgEの生成に対しても制御効果を及ぼす。IgERIの賦活は、多くの細胞性の事象に帰着する様々な連続的な事象が開始する。マスト細胞は、ヒスタミンのような炎症伝達物質を放出する。

【0010】

サイトカイン特にインターロイキン4 (IL-4) も放出される。インターロイキン4 (IL-4) はIgERI合成の上向きフィードバック調整においてのみならず、B細胞のスイッチ及びIgE合成経路においても非常に重要である。IgE代謝、及び免疫細胞の成長及び分化に関与しているCD40のようなその他のマスト細胞表面受

容体の発現および機能が、誘発される。発現及び/または分泌がIgERIにより制御されるその他の因子には、インターロイキン6 (IL-6)、組織壊死因子アルファ (TNFa)、RANTES、及びセロトニン等が含まれる。

【0011】

IgERIは、アルファ、ベータ及びジスルフィドで結合された二つのガンマ・ポリペプチドから成っている四量体膜貫通蛋白質である。アルファ・サブユニットであるIGERAは、IgEと高親和性 ($K_d \sim 10^9 \sim 10^{10}$ M) を持って結合し、溶解性のIgE結合断片として分泌されることができる。ガンマ・サブユニットであるIgERIgは、受容体アセンブリ及びシグナル変換を媒介し、また、高親和性/低親和性のIgG受容体及びTCR/CD3 T細胞受容体複合体などを含むFc受容体の共通構成要素である。ベータ・サブユニットであるIgERIBの役割は、前出同様に情報伝達及び受容体の自己リン酸化に関与していることは判明しているが、謎である。IgERIBは、アレルギー反応を起こすためのマスト細胞の完全活性化に不可欠であり、また、ガンマ・サブユニットからの信号を増幅する。

【0012】

IGERAは、C末端細胞質尾部、一回膜貫通領域、及び二つの大きな免疫グロブリン (Ig) ドメインに分割されたN末端細胞外領域から成る。このIgドメインは、各々が85のアミノ酸の長さで、IgEの結合部位用の凸面形成のため、鋭角に屈曲している。第二のドメインは、IgEとの相互反応の部位でありドメインの上部に突出している顕著なループを有する。IgERIBは、N末端及びC末端細胞質尾部を持つ四回膜貫通蛋白質である。N末端細胞質ドメインは、IgERIgサブユニットの細胞質ドメインと相互反応する。IgERIBのC末端細胞質尾部は、アルファ・サブユニットの細胞質尾部と会合している。IgERIgは、短い細胞外N末端尾部、一回膜貫通領域、及びC末端細胞質ドメインを有する。

【0013】

IgERIB及びIgERIgは双方とも、その細胞質ドメイン内に免疫受容体チロシン活性化モチーフ (ITAM) を有する。IgERIB ITAMは、C末端細胞質ドメインに現われる。証拠の示すところによると、この二つのITAMドメインは、相乗的に作用し、蛋白質チロシン残基のリン酸化を経由して細胞の活性化を引き起こすことがで

きる特定の蛋白質チロシンキナーゼと関連している。

【0014】

受容体サブユニット架橋は、IgER1b ITAM と関連するsrc キナーゼであるLyn を活性化し、ITAMの二つのチロシン残基を順番にリン酸化する。この事象は、Ig ER1g ITAM と関連するsrc キナーゼであるSyk を活性化し、そのサブユニットの ITAMチロシン残基をリン酸化する。Lyn ITAMを含むC末端細胞質ドメインを削除すると、受容体が不活性になる。IgER1b ITAM のチロシン残基のどちらかあるいは双方に突然変異を起こすと、IgER1b及びIgER1gチロシン残基がリン酸化されない。

【0015】

高親和性IgE 受容体のアルファ・サブユニットに対する遺伝子は、ガンマ・サブユニットに対する遺伝子と共に、ヒト染色体バンド1q23に位置している (Tepler et al., Am. J. Hum. Genet. 45 : 761-765, 1989 ; Le Coniat et al., Immunogenetics 32 : 183-186, 1990)。このIGERA 遺伝子は、ゲノムDNA の約5900のベースペア (bp) に及び、257 のアミノ酸をコード化する5個のエキソンから成る (Kochan et al., Nucl. Acids Res. 16 : 3584, 1988 ; Shimizu et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA 85 : 1907-1911, 1988)。IGERA 遺伝子の参照配列 (GenBank 登録番号L14075 ; SEQ ID NO:1)、コード配列、及び蛋白質が、それぞれ図1、2、及び3に示されている。

【0016】

IGERA 遺伝子とそのコードされている蛋白質に関して報告されている特質には、以下が含まれる：Ets-及びGATA- ファミリー転写因子のヌクレオチド部位1184-1189及び1203-1209 におけるエンハンサー結合モチーフ；第一エキソン内における5' 非翻訳領域の29bp；ヌクレオチド部位1287におけるATG 開始コドン；アミノ酸1-85間に位置する第一の細胞外ドメイン；アミノ酸86-170 間に位置する第二の細胞外ドメイン；アミノ酸205-226 間に位置する膜貫通領域；アミノ酸227-257 間に位置するC末端細胞質領域。

【0017】

IgERI のサブユニットをコードする遺伝子における多型を発見することに対す

る関心は、アトピーにおけるIgEによる役割から生じている。アトピーは、遺伝のおよび環境的要因により引き起こされるよく知られた家族性の障害である。アトピーは、花粉や粉塵ダニのような一般的アレルゲンに対する過大Tヘルパー細胞タイプIIリンパ球反応により特徴づけられ、IgEが継続して多く生成されることを含む。アレルギー、喘息、鼻炎、及び湿疹は、アトピー性の過敏症疾患である。IgEは、粘膜マスト細胞及び好塩基球に提示されている高親和性IgE受容体に結合する。

【0018】

IgEがアレルゲンに結合すると、受容体を活性化し、カスケードを開始し、これにより炎症伝達物質の細胞放出に繋がる。正常な即時型過敏反応に調節不全が起こると、異常に高いIgE血清レベルが継続することになり、これが粘膜炎症に繋がる。アトピーは、高い総血清IgEレベル、一般的アレルゲンに対する皮膚プリックテストの陽性結果、およびこれらのアレルゲンに対する特定の血清IgEにより、発見される。これらの3項目間には、強力な相関関係があり、喘鳴、咳き、くしゃみ、鼻つまりのようなアレルギー反応症状の存在との間とも相関関係がある。

【0019】

世界人口の約20%がアレルギーにより影響を受けており、西洋人口の50%以上が皮膚プリックテストで一般的アレルゲンの一つまたはそれ以上に陽性と判断されている。子供の10%がアトピー性喘息に苦しんでおり、これはアメリカ合衆国における小児科の救急外来患者の約3分の1に当る。単一の遺伝決定基が、喘息、アレルギー、あるいはその他のアトピー性疾患の原因となる因子であることは考えにくい、アレルギー反応の開始にIgEのIgERIへの結合が必須であることを治療標的とし、単一の治療でアトピー性過敏症の様々な症状を処理できるかもしれない。

【0020】

IGERA 遺伝子座における多型を同定した研究発表は数少ない。IGERA 遺伝子座における多型の一つとして知られたものは、RsaI制限酵素断片長多型(RFLP)を含み、これはcDNAプローブを用いてゲノムDNAにおいて発見された(Tepler et

al., 上記)。1.8、0.6、及び0.3 キロベースペア (kb) の断片が、検査された全ての個体において発見され、2.8kb の変異体断片が40%の頻度で発見された。その遺伝子内の多型RsaI部位の位置は知られていないが、おそらくイントロンであろう。

【0021】

IGERA 遺伝子における多型がコードされた蛋白質の発現と機能に影響する可能性があるため、そのような多型がその遺伝子の様々なコピーにおいていかに組み合わされているかを判断すると共に、多型がそのIGERA 遺伝子に存在するか否かを判断することが有用である。そのような情報は、IGERA の生物学的機能を研究する上で、またこの蛋白質の異常な発現あるいは機能に関連した障害の治療を目的としてこの蛋白質を標的とする薬剤を同定する上で、有用である。

【0022】

発明の要約

依って、本件の発明者は22の新規多型部位をIGERA 遺伝子内に発見した。これら多型部位 (PS) は、GenBank 登録番号 : L14075に記載された872 (PS1), 943 (PS2), 1192 (PS3), 1199 (PS4), 1363 (PS5), 1754 (PS6), 1760 (PS7), 1896 (PS8), 2708 (PS9), 3024 (PS10), 3075 (PS11), 3220 (PS12), 3286 (PS13), 3330 (PS14), 4838 (PS15), 5108 (PS16), 5285 (PS17), 5363 (PS18), 6821 (PS19), 6911 (PS20), 6936 (PS21), 7000 (PS22) に示された上記のヌクレオチド位に対応している。

【0023】

これらの部位における多型は、PS1 におけるグアニン、PS2 におけるシトシン、PS3 におけるチミンあるいはシトシン、PS4 におけるアデニンあるいはチミン、PS5 におけるシトシンあるいはアデニン、PS6 におけるチミンあるいはシトシン、PS7 におけるシトシンあるいはアデニン、PS8 におけるシトシンあるいはチミン、PS9 におけるアデニンあるいはグアニン、PS10におけるアデニンあるいはグアニン、PS11におけるグアニンあるいはアデニン、

【0024】

PS12におけるチミンあるいはシトシン、PS13におけるグアニンあるいはアデニ

ン、PS14におけるグアニンあるいはアデニン、PS15におけるグアニンあるいはアデニン、PS16におけるシトシンあるいはチミン、PS17におけるシトシンあるいはチミン、PS18におけるチミンあるいはシトシン、PS19におけるシトシンあるいはアデニン、PS20におけるチミンあるいはシトシン、PS21におけるアデニンあるいはグアニン、PS22におけるグアニンあるいはアデニンである。

【0025】

更に、本件の発明者は、これらの部位に存在する代用ヌクレオチドを下記の主な個体群グループの一つに属すると自己同定した79の無関係の個体から成るヒトの参照個体群において同定した：アフリカ系子孫、アジア系、白人系、及びスペイン系/ラテン系。本件に報告されている新規の多型部位をひとつあるいはそれ以上含むIGERA コード化ポリヌクレオチドは、IGERA の発現及び生物学的機能を研究する上で、またこの蛋白質を標的とした薬剤を開発する上で有用であると考えられている。加えて、IGERA 遺伝子における多型の組み合わせに関する情報は、診断及び法医学に応用が可能である。

【0026】

このように、実施の一例において、本発明は、IGERA 遺伝子あるいはその断片の参照塩基配列の多型変異体であるヌクレオチド塩基配列からなる単離ポリヌクレオチドを呈している。この参照塩基配列は配列番号：1を含んで成り、この多型変異体は以下の群から選択された少なくともひとつの多型を含んで成る：PS1におけるグアニン、PS2におけるシトシン、PS3におけるシトシン、PS4におけるチミン、PS5におけるアデニン、PS6におけるシトシン、PS7におけるアデニン、PS8におけるチミン、PS9におけるグアニン、PS10におけるグアニン、

【0027】

PS11におけるアデニン、PS12におけるシトシン、PS13におけるアデニン、PS14におけるアデニン、PS15におけるアデニン、PS16におけるチミン、PS17におけるチミン、PS18におけるシトシン、PS19におけるアデニン、PS20におけるシトシン、PS21におけるグアニン、PS22におけるアデニン。特に好ましい多型変異体は、自然に発生するIGERA 遺伝子のアイソフォーム（本件では「同質遺伝子」として言及されている）である。

【0028】

本発明のIGERA 同質遺伝子は、以下を含んで成る：PS1 におけるグアニン、PS 2 におけるシトシン、PS3 におけるシトシン、PS4 におけるチミン、PS5 におけるアデニン、PS6 におけるシトシン、PS7 におけるアデニン、PS8 におけるチミン、PS9 におけるグアニン、PS10におけるグアニン、PS11におけるアデニン、PS 12におけるシトシン、PS13におけるアデニン、PS14におけるアデニン、PS15におけるアデニン、PS16におけるチミン、PS17におけるチミン、PS18におけるシトシン、PS19におけるアデニン、PS20におけるシトシン、PS21におけるグアニン、PS 22におけるアデニン。本発明はまた、IGERA 同質遺伝子の収集を提供し、それは本件でIGERA ゲノム集として言及されている。

【0029】

IGERA 同質遺伝子は、その同質遺伝子におけるこれらの多型の組み合わせ及び順序によって定義され、これは本件ではIGERA ハプロタイプとして言及されている。従って、本発明はまた、上記の4個の個体群において見出された異なったIGERA ハプロタイプの数についてのデータを提供する。このハプロタイプデータは、IGERA 遺伝子に対する個々の遺伝子型からIGERA ハプロタイプを見出す方法、IGERA ハプロタイプと特定の特性間の関連を判断する方法において有用である。

【0030】

また別の実施例においては、本発明は、IGERA cDNAあるいはその断片の参照塩基配列の多型変異体を含んで成るポリヌクレオチドを提供している。この参照塩基配列は、配列番号：2（図2）を含んで成り、この多型cDNAは以下の群から選択された少なくともひとつの多型を含んで成る：ヌクレオチド251 に対応する位置におけるグアニン、ヌクレオチド302 に対応する位置におけるアデニン、ヌクレオチド530 に対応する位置におけるチミン、及びヌクレオチド741 に対応する位置におけるアデニン。

これらのIGERA ゲノム及びcDNA変異体に対して相補的ポリヌクレオチドもまた、本発明が提供する。

【0031】

その他の実施例で、本発明は、発現ベクターで形質転換あるいは形質移入され

た発現制御要素及び組換え型宿主細胞にリンクされた多型ゲノム変異体のひとつを含んで成る組換え型発現ベクターを提供している。この組換え型ベクター及び宿主細胞は、蛋白質構造分析及び薬剤結合研究に関連してIGERA を発現する目的に使用できる。

【0032】

更に別の実施例で、本発明は、IGERA 蛋白質の参照アミノ酸配列の多型変異を含んで成るポリペプチドを提供している。この参照アミノ酸配列は配列番号：3（図3）を含んで成り、この多型変異体は、アミノ酸84位に対応する位置におけるアルギニン、アミノ酸101位に対応する位置におけるアスパラギン、アミノ酸177位に対応する位置におけるメチオニン、アミノ酸247位に対応する位置におけるリジンから成る群から選択された少なくとも一つのアミノ酸を有する。IGERA の多型変異体は、IGERA の生物学的活性に対する変異体の効果を研究する上で、また免疫反応の治療を目的としたIGERA に標的を絞った候補薬剤の結合親和性を研究する上で、有用である。

【0033】

本発明はまた、上記の多型IGERA 蛋白質変異体を認識し、それに結合する抗体をも提供している。そのような抗体は、様々な診断、予診、及び治療法に使用可能である。

その他の実施例で、本発明は、個体におけるIGERA 遺伝子をハプロタイプを決定しそして/または遺伝子型を決定する方法、構成物、及びキットを提供する。上記方法は、その個体に由来するIGERA 遺伝子のひとつあるいは両コピーにおけるPS1～P22から選択されたひとつあるいはそれ以上の多型部位に存在するヌクレオチドあるいはヌクレオチド対を同定する方法を含むものである。上記構成物は、ある多型部位を含むかあるいはその部位に隣接するひとつあるいはそれ以上の標的領域に対して特にハイブリダイゼーションするようにデザインされたオリゴヌクレオチドプローブ及びプライマーを含むものである。

【0034】

本件に説明されている新規多型部位における個体の遺伝子型あるいはハプロタイプを確立する上記の方法及び構成物は、IGERA 蛋白質の発現及び機能によって

影響を受ける疾病の病因学における多型の効果を研究する上で、IGERA に標的絞った薬剤の効用を研究する上で、IGERA 蛋白質の発現及び機能によって影響を受ける個体の罹病性予測する上で、更にIGERA に標的を絞った薬剤への個体の応答性を予測する上で、有用である。

【0035】

また別の実施例では、本発明は、遺伝子型あるいはハプロタイプと特性間の関連性を同定する方法を呈している。好ましい実施例では、その特性とは疾病罹病性、疾病強度、疾病段階、及び薬剤応答性である。そのような方法は、免疫反応の診断検査及び治療処置の開発に応用できる。

本発明はまた、本件で説明されているIGERA ゲノム多型変異体のひとつを含む遺伝子導入動物、及びそのような動物を製造する方法をも提供している。これらの遺伝子導入動物は、生体内のIGERA 同質遺伝子の発現を研究する上で、IGERA 蛋白質に標的を絞った薬剤の生体内スクリーニング及び検査を行う上で、更に免疫反応に対する治療剤あるいは治療用化合物の効力を生物学的システムにおいて検査する上で、有用である。

【0036】

本発明はまた、IGERA 遺伝子に関する多型データを保存表示するコンピュータシステムをも提供している。このコンピュータシステムは、コンピュータ処理装置、表示、更に多型データを含むデータベースを含むものである。この多型データには、多型、参照個体群におけるIGERA 遺伝子に対して同定された遺伝子型及びハプロタイプが含まれている。好ましい実施例では、このコンピュータシステムは、進化関係に従って整理されたIGERA ハプロタイプを表示することができる。

【0037】

好ましい実施例の説明

本発明は、IGERA 遺伝子の新規変異体の発見に基づくものである。以下に、より詳細に説明されているように、本件の発明者は、1個体のチンパンジーと93個体のヒトに由来する不死化細胞系統が含まれている索引データ貯蔵から単離されたゲノムDNAに見出されるIGERA 遺伝子を特徴づけることにより、22の新規多型

部位を発見した。

【0038】

ヒトの個体には、4つの主要個体群のひとつに属すると自己同定した79の無関係な個体の参照個体群が含まれていた：白人（22個体）、アフリカ系（20個体）、アジア系（20個体）、ヒスパニック系/ラテンアメリカ系（17個体）。可能な限り、この参照個体群のメンバーは、下記の第1表に示されているように、自己同定した自分の4人の祖父又は祖母の土俗学的起源によって個体群サブグループに整理された。更に、索引データ貯蔵は3個体の無関係な土着のアメリカインディアンの（それぞれ北アメリカ、中央アメリカ、及び南アメリカの出身）、1個体の三世代白人家族（CEPHユタ同齡集団）、1個体の二世代アフリカ系アメリカ人家族を含んでいる。

【0039】

【表1】

第1表 索引データ貯蔵の個体群

個体群	個体群サブグループ	個体数
アフリカ系子孫		20
	シエラレオネ	1
アジア系		20
	ビルマ	1
	中国	3
	日本	6
	韓国	1
	フィリピン	5
	ベトナム	4
白人		22
	イギリス諸島	3
	イギリス諸島／中央	4
	イギリス諸島／東部	1
	中央／東部	1
	東部	3
	中央／地中海	1
	地中海	2
	スカンジナビア	2
ヒスパニック系／ ラテンアメリカ系		17
	カリブ系	7
	カリブ系（スペイン系子孫）	2
	中央アメリカ（スペイン系子孫）	1
	メキシコ系アメリカ人	4
	南アメリカ系（スペイン系子孫）	3

索引データ貯蔵で同定されたIGERA 遺伝子型及び下記の実施例に説明された方法を用いて、本件の発明者はまた、このデータ貯蔵のほとんどのヒトのメンバーの各染色体上に見出されるハプロタイプを決定した。この索引データ貯蔵に見出されるこれらの遺伝子型及びハプロタイプは、第4表及び第5表にそれぞれ示されているものが含まれている。本件に開示されている多型及びハプロタイプのデータは、個体群の多様性、人類学的系譜、表現型レベルでの多様性及び系譜の重

要性、実父確定検査、法医学的応用を研究する上で、更にIGERA 遺伝子的変異と薬剤応答性あるいは罹病率などの特性との間の相関を同定する上で、有用である。

【0040】

この開示の文脈において、特に示さない限り、以下の用語を以下に示すように定義する：

対立遺伝子 - 遺伝子の座の特殊な形態で、その特殊なヌクレオチド塩基配列により他の形態と区別される。

候補遺伝子 - 疾病、健康状態、あるいは治療に対する応答の原因になっていると仮定されている遺伝子、あるいはこれらの一つと相関関係にある遺伝子。

遺伝子 - RNA 生成物の制御された生合成に必要な全ての情報を含むDNA の部分で、プロモータ、エキソン、イントロン、及び発現を制御するその他の非翻訳領域を含む。

【0041】

遺伝子型 (Genotype) - ある個体における一組の相同染色体上の座にある一つまたはそれ以上の多型部位に見出されるヌクレオチド対の非位相の5 から3 の塩基配列。本件で用いられているように、遺伝子型には真遺伝子型及び/または副遺伝子型がある(下記参照)。

真遺伝子型 (Full-genotype) - ある単一の個体における一組の相同染色体上の遺伝子座にある全ての既知の多型部位に見出されるヌクレオチド対の非位相の (Un phased) 5 から3 の塩基配列。

副遺伝子型 (Sub-genotype) - ある単一の個体における一組の相同染色体上の遺伝子座にある既知の多型部位のサブセットに見られるヌクレオチドの非位相の5 から3 の塩基配列。

【0042】

遺伝子型決定 - ある個体の遺伝子型を決定する方法。

ハプロタイプ - ある単一の個体に由来する単一染色体上の遺伝子座にある一つまたはそれ以上の多型部位に見出されるヌクレオチドの5 から3 の塩基配列。本件で用いられているように、ハプロタイプには真ハプロタイプ及び/または

副ハプロタイプがある（下記参照）。

真ハプロタイプ - ある単一の個体に由来する単一の染色体上の遺伝子座にある全ての既知の多型部位に見出されるヌクレオチドの5 から3 の塩基配列。

副ハプロタイプ - ある単一の個体に由来する単一の染色体上の遺伝子座にある既知の多型部位のサブセットに見られるヌクレオチドの5 から3 の塩基配列。

【0043】

ハプロタイプ対 - ある単一の個体に存在する一つ座に対して見出される二つのハプロタイプ。

ハプロタイプ決定 - ある個体において一つまたはそれ以上のハプロタイプを決定する方法で、家系、分子技術、及び/または統計的推論の使用を含む。

ハプロタイプデータ - 特殊な遺伝子に対する次の一つまたはそれ以上に関する情報：

ある個体群における各々の個体に存在するハプロタイプ対のリスト；ある個体群における異なったハプロタイプのリスト；その個体群あるいはその他の個体群における各々のハプロタイプの頻度、及び一つまたはそれ以上のハプロタイプとある特質間の既知の相関関係。

アイソフォーム - mRNA、cDNAあるいは蛋白質をコードするある遺伝子の特殊な形態で、その特殊な塩基配列及び/または構造によってその他の形態と区別される。

【0044】

同質遺伝子 - ある個体群に見出される遺伝子のアイソフォームの一つ。同質遺伝子には、その遺伝子のその特殊なアイソフォームに存在する多型の全てが含まれている。

単離 - RNA、DNA、オリゴヌクレオチド、あるいは蛋白質など生物学的分子に適用され、「単離」とは分子が実質的にその他の生物学的分子（核酸、蛋白質、脂質、炭水化物、あるいは細胞破片及び成長媒体のようなその他の物質）を含まないということである。一般的には、「単離」という用語は、これらの物質が本発明の方法を実質的に妨害する量で存在しない限り、そのような物質が全く無いこ

と、あるいは水、緩衝剤、または塩の無いことを意味するものではない。

【0045】

遺伝子座 - 染色体あるいはDNA 分子上の座のことで、遺伝子あるいは身体的または表現型の特質に対応する。

天然産生 - 天然に産生するポリヌクレオチドあるいはポリペプチドのようにこの用語が適用される対象が、天然源から単離され、それが人間によって故意に修正されていないことを意味するのに使用される用語。

ヌクレオチド対 - ある個体に由来する染色体の二つのコピー上にある一つの多型部位に見出される二つのヌクレオチド。

【0046】

相の特定 - ある遺伝子座に存在する二つあるいはそれ以上の多型部位のヌクレオチド対の塩基配列に使われ、相の特定とは、その遺伝子座の単一コピー上にある多型部位に存在するヌクレオチドの組み合わせが既知であることを意味する。

多型部位 (PS) - 遺伝子座の内にある部位で、その部位では少なくとも二つの代用塩基配列が一つの個体群に見出される。その最高頻度は99%である。

多型変異体 - 遺伝子内に多型があるために、参照配列と異なるヌクレオチド塩基配列またはアミノ酸配列を持つ、遺伝子、mRNA、cDNA、ポリペプチド、あるいはペプチド。

【0047】

多型 - 多型部位における個体で観測される塩基配列の変異性。多型には、ヌクレオチドの置換、挿入、欠失、及びマイクロサテライトがあり、遺伝子発現あるいは蛋白質機能における検出可能な差異を生じても生じなくてもいい。

多型データ - ある特定の遺伝子に対する以下の内の一つあるいはそれ以上に関する情報：

多型部位の位置；それらの部位における塩基配列の変異性；一つまたはそれ以上の個体群における多型の頻度；その遺伝子に対して決定される様々な遺伝子型及び/またはハプロタイプ；一つまたはそれ以上の個体群におけるこれらの遺伝子型及び/またはハプロタイプの一つまたはそれ以上の頻度；その遺伝子について形質と遺伝子型及び/またはハプロタイプ間の既知の相関関係。

【0048】

多型データベース - 体系的あるいは順序だった方式で整理された多型データ収集で、電子的あるいはその他の手段で個別にアクセス可能。

ポリヌクレオチド - 一本鎖RNA あるいは一本鎖DNA から成るか、あるいは相補的二本鎖DNA から成る核酸分子。

個体群 - 共通の土俗学的起源を共有する個体の群。

参照個体群 - 一般的個体群において見出される遺伝子変異性を代表すると予測される被験者あるいは個体の群。一般的に、参照個体群は、その個体群における遺伝子変異性を以下のレベルで代表するとされる；少なくとも85%、好ましくは少なくとも90%、更に好ましくは少なくとも95%、更に最も好ましくは少なくとも99%。

【0049】

一塩基多型 (SNP) - 一般的には、単一の多型部位で観察されるヌクレオチドの特定の組。稀に、3つから4つのヌクレオチドが見出されることがある。

被験者 - その遺伝子型、ハプロタイプ、あるいは治療に対する反応、病状が検査の対象となっているヒトの個体。

治療 - 内科的あるいは外科的に被験者に対して投与される刺激。

【0050】

相の非特定 - ある遺伝子座にある二つまたはそれ以上の多型部位のヌクレオチド対の塩基配列に対して使われ、相の非特定とは、その座の単一コピー上にあるそれらの多型部位に存在するヌクレオチドの組み合わせが既知でないことを意味する。

本発明の発明者は、IGERA 遺伝子において22の新規多型部位を発見した。発明者によって同定されたこれらの多型部位は、その遺伝子内のどの順位に位置しているのかを示すため、PS1 ~ PS22 と言及される (下記の第2表参照)。

【0051】

従って、一つの実施例で、発明者は、本件で説明されている新規多型部位の少なくとも一つを含むIGERA 遺伝子あるいはその遺伝子の断片の多型変異体を含んで成る単離されたポリヌクレオチドを提供している。IGERA 遺伝子変異体のヌク

レオチド塩基配列は、下記の実施例に説明されているように、検査された遺伝子部分については、参照ゲノム塩基配列と同一である。ただし、このIGERA 遺伝子変異体のヌクレオチド塩基配列が PS1~22の新規多型部位の一つあるいはそれ以上において異なったヌクレオチドを含んで成ることにおいて参照ゲノム塩基配列と異なっている。

【0052】

同様に、IGERA 遺伝子の変異体断片のヌクレオチド塩基配列は、本件で説明されている一つあるいはそれ以上の新規多型部位において異なることを除けば、参照塩基配列の対応部分と同一のヌクレオチドである。従って、本発明には、下記に説明されている遺伝子型決定オリゴヌクレオチドを除けば、対象参照塩基配列（またはその他の報告されているIGERA 塩基配列）、あるいは対象参照塩基配列（またはその他の報告されているIGERA 塩基配列）の一部と同一のヌクレオチド塩基配列から成るポリヌクレオチドが特に含まれていない。

【0053】

変異体遺伝子あるいはその断片における多型の位置は、その塩基配列を配列番号：1に揃えることによって同定される。多型は、以下の群から選択される：PS1におけるグアニン、PS2におけるシトシン、PS3におけるシトシン、PS4におけるチミン、PS5におけるアデニン、PS6におけるシトシン、PS7におけるアデニン、PS8におけるチミン、PS9におけるグアニン、PS10におけるグアニン、PS11におけるアデニン、PS12におけるシトシン、PS13におけるアデニン、PS14におけるアデニン、PS15におけるアデニン、PS16におけるチミン、PS17におけるチミン、PS18におけるシトシン、PS19におけるアデニン、PS20におけるシトシン、PS21におけるグアニン、PS22におけるアデニン。好ましい実施例では、多型変異体は、下記の第5表に示されている1-20のハプロタイプのどれかによって定義されるIGERA 遺伝子の天然産生同質遺伝子から成る。

【0054】

本発明の多型変異体は、ヒトのゲノムライブラリから取得したIGERA 遺伝子を含むクローンを単離することにより調製することができる。また本件で説明されている多型部位におけるヌクレオチドを同定するためクローンの配列が決定され

る。本件に記載されているいかなる変異体も周知の技術を使い、インビトロ（試験管内で）の生体内突然変異誘発によって、このクローンから作製できる。

IGERA 同質遺伝子は、個体に存在するIGERA 遺伝子の二つのコピーを分離ができるいかなる方法でも遊離することができる。これは当業者に容易に理解でき、同一の対立遺伝子あるいは異なった対立遺伝子であってもいい。

【0055】

分離方法には、W098/01573、U.S.Patent No. 5,866,404、及び同時係属特許出願中のU.S.Application Serial No. 08/987,966 に説明されている酵母における標的体内クローニング（TIVC）が含まれる。また別の方法は、同時係属特許出願中のU.S.Application Serial No. 08/987,966 に説明されており、対立遺伝子特有のオリゴヌクレオチドをプライマー延長とエキソヌクレアーゼ分解を共に用い、半接合DNA 標的を生成するものである。更に別の方法は、以下に説明されている単一分子希釈法（SMD）である：Ruano et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 87 : 6296-6300, 1990 ; 及び対立遺伝子特有PCR (Ruano et al., 17 Nucleic Acids Res. 8392, 1989 ; Ruano et al., 19 Nucleic Acids Res. 6877-6882, 1991 ; Michalatos-Beloin et al., 24 Nucleic Acids Res. 4841-4843, 1996)。

【0056】

本発明はまた、IGERA のゲノム集を提供しており、これは所与の個体群に見出されるIGERA 同質遺伝子の収集である。個体群は、少なくとも2個体から成るいかなる群でもよく、参照個体群、個体群グループ、家族群、臨床個体群、及び同性個体群を含むがこれらに限定されない。IGERA のゲノム集は、マイクロ試験管のような別個の容器、マイクロタイター皿等の別個の槽に保存された個々のIGERA 同質遺伝子から成る。

【0057】

または、ゲノム集内のIGERA 同質遺伝子の二つあるいはそれ以上のグループが、別個の容器に保存されていても良い。ゲノム集内の個々の同質遺伝子あるいは同質遺伝子のグループは、適切で安定した形態で保存されていて良く、その保存方法は、緩衝溶液中、DNA の沈殿物として、凍結乾燥物として等を含むがこれらに限定されない。本発明の好ましいIGERA のゲノム集は、下記の第5表に示され

たハプロタイプによって同定される同質遺伝子のセットを含んで成る。

【0058】

本発明の多型変異体ヌクレオチド塩基配列を含む単離されたポリヌクレオチドは、原核性あるいは真核性の宿主細胞においてコードされたIGERA 蛋白質の被伝播及び発現が可能な組換え型発現ベクトルにある一つあるいはそれ以上の発現制御要素にリンクすることが可能である。使用可能な発現制御要素の例には、ラックシステム、ファージのオペレータ及びプロモータ領域、イーストプロモータ、及びワクシニアウィルス、アデノウィルス、レトロウィルス、あるいはSV40に由来するプロモータが含まれるがこれらに限定されない。

【0059】

その他の制御要素には、適切なリーダー配列、終止コドン、ポリアデニル化信号、及び所与の宿主細胞における核酸の適切な転写及びその後の翻訳に必要とされるその他の配列が含まれるがこれらに限定されない。勿論、発現制御要素の正しい組み合わせは、使用される宿主細胞に依る。加えて、発現ベクターには、その宿主細胞におけるその伝達とその後の複製に必要であるいかなる付加要素も含まれていると一般に理解されている。そのような例には、複製の起点及び選択可能標識が含まれるがこれらに限定されない。

【0060】

そのような発現ベクトルは市販されているか、または当業者に良く知られた方法を使用して簡単に製造できる（例：F. Ausubel et al., 1987, in "Current Protocols in Molecular Biology", John Wiley and Sons, New York, New York）。本発明の変異体IGERA 塩基配列を発現するのに使用可能な宿主細胞には、動物、植物、昆虫、及び酵母細胞のような真核性の又は哺乳類の細胞、及びこの分野で良く知られているような大腸菌あるいは藻類のような原核性の細胞が含まれるがこれらに限定されない。組換え発現ベクトルを、当業者に良く知られた方法を使用して宿主細胞に導入できる。

【0061】

それらの方法には、顕微注入法、エレクトロポレーション、微粒子銃法、形質導入、DEAE - デキストランを使用した形質移入、リポフェクション、リン酸カル

シウムが含まれるがこれらに限定されない(参照例: Sambrook et al. (1989) in "Molecular Cloning. A Laboratory Manual", Cold Spring Harbor Press, Plainview, New York)。好ましくは、真核細胞で、更に好ましくは哺乳類細胞で機能する真核性の発現ベクトルが使用されることである。

【0062】

そのような発現ベクトルの非限定例には、ワクシニアウィルスベクトル、アデノウィルスベクトル、ヘルペスウィルスベクトル、バキュロウィルス伝達ベクトルが含まれる。好ましい真核細胞ラインには、COS 細胞、CHO 細胞、ヒューラー細胞、NIH/3T3 細胞、及び胚幹細胞が含まれる(Thomson, J.A. et al., 1998 Science 282: 1145-1147)。特に好ましい宿主細胞は、哺乳類の細胞である。

【0063】

当業者には容易に認識されるように、IGERA 遺伝子の多型変異体の発現は、スプライス及びプロセシングされたmRNA分子に保持されている多型部位で相互に異なるIGERA mRNAを生み出す。これらのmRNAは、図2に示されるIGERA 参照コード化塩基配列を持つ多型変異体であるヌクレオチド塩基配列を含んで成るIGERA cDNAの製造に使用可能である。従って、本発明はまた、IGERA mRNA、及び対応cDNAを提供していることになる。

【0064】

このcDNAは、配列番号: 2(図2)あるいはその対応RNA 塩基配列と同一であるヌクレオチド塩基配列を含んで成る。ただし、このヌクレオチド塩基配列は、以下から成る群から選択された一つあるいはそれ以上の多型を有していることが、配列番号: 2(図2)あるいはその対応RNA 塩基配列と異なっている点である: ヌクレオチド251 に対応する位置におけるグアニン、及びヌクレオチド302 に対応する位置におけるアデニン、ヌクレオチド530 に対応する位置におけるチミン。

【0065】

ヌクレオチド741 に対応する位置におけるアデニン。これらの変異体mRNAとcDNAの断片は、本件で説明されている新規多型が含まれている場合は、本発明の範囲に含まれている。本発明は、先にIGERA cDNAとして同定特定されたポリヌクレ

オチドとその断片を特に除外している。変異体RNA あるいはDNA の塩基配列から成るポリヌクレオチドは、良く知られた分子生物学的手順を使って生物学的試料から単離すること、あるいは化学的に合成することが可能である。

【0066】

本発明のゲノム及びcDNA断片は、本件で同定された少なくとも一つの多型部位を含んで成り、少なくとも10ヌクレオチドの長さがあり、その遺伝子の全長に及ぶこともある。好ましくは、本発明による断片は、100 から3000ヌクレオチドの長さで、更に好ましくは、200 から2000ヌクレオチドの長さで、最も好ましくは、500 から1000ヌクレオチドの長さである。

【0067】

本件で同定された多型部位を説明するにあたり、便宜上その遺伝子のセンス鎖が参照される。しかしながら、当業者によって認識されているように、IGERA 遺伝子を含む核酸分子は、相補的二本鎖分子である可能性があり、従って、センス鎖上の特殊な部位を参照するのは、相補的アンチセンス鎖上の対象対応部位にも参照していることになる。従って、どちらの意鎖の同一多型部位に対しても参照ができ、オリゴヌクレオチドはその多型部位を含む標的領域にあるどちらの意鎖に対しても特定してハイブリダイゼーションするようにデザインできる。従って、本発明はまた、本件で説明されているIGERA ゲノミック変異体の有意鎖に対して相補的である一本鎖ポリヌクレオチドをも含むことになる。

【0068】

多型遺伝子変異体あるいは断片から成るポリヌクレオチドは、治療目的に有用である。例えば、患者がある特定のIGERA 蛋白質アイソフォームの発現あるいは増強発現から利を被る場合は、そのアイソフォームをコード化する発現ベクトルをその患者に投与することができる。その患者は、そのアイソフォームをコード化するIGERA 同質遺伝子を欠いた個体であるか、あるいはその同質遺伝子の少なくとも一つのコピーを既に有している可能性もある。

【0069】

その他の状況では、ある特定のIGERA 同質遺伝子の発現を減少させるかあるいは阻止することが、望ましいことがある。IGERA 同質遺伝子の発現は、対象臓器

、組織、あるいは細胞を、同質遺伝子に、高レベルの非翻訳mRNAを発現する発現ベクトルで変換することにより止めることができる。または、制御領域（例：プロモータ、イントロン、エンハンサー、3' 非翻訳領域）に向けられたその同質遺伝子のオリゴヌクレオチドで、転写を阻止することができる。開始部位から-10と+10の間の距離にある転写開始部位に標的化したオリゴヌクレオチドが好ましい。

【0070】

同様に、転写の阻止は、同質遺伝子DNAの領域とベースペアとしてトリプレックスDNA（参照例：Gee et al. in Huber, B.E. and B.I.Carr, *Molecular and Immunologic Approaches*, Futura Publishing Co., Mt. Kisco, N.Y., 1994）を形成するオリゴヌクレオチドを使用して行うことができる。アンチセンス鎖オリゴヌクレオチドもまた、ある特定の同質遺伝子から転写されたIGERA mRNAの翻訳を阻止するようにデザインすることができる。特定の同質遺伝子から転写されたIGERA mRNAの特定部分の切断を触媒するようなりボザイムをデザインできる可能性も熟慮された。

【0071】

オリゴヌクレオチドは、生体内あるいは生体外で対象細胞あるいは組織に導入されたベクトルからの発現により、それらの標的細胞あるいは組織に導入することができる。または、オリゴヌクレオチドは、患者に投与する薬剤成分として、調合することもできる。アンチセンスオリゴヌクレオチドとして使用されるオリゴリボヌクレオチド及び/またはオリゴデオキシヌクレオチドは、安定性と半減期を高めるように修飾できる。考えられる修飾例には、ホスホロチオネートあるいは2'-O-メチル結合、及びイノシンやケオシンのような特殊ベースの封入、更にアセチル-、メチル-、チオ-、及び内因性のヌクレアーゼにより容易に認識されないアデニン、シトシン、グアニン、チミン及びウラシルの同様に修正された形態が含まれるがこれらに限定されない。

【0072】

本発明はまた、図3に示されている参照IGERA アミノ酸配列の多型変異体から成る単離ポリペプチドを呈している。本件で説明されているIGERA ポリペプチド

あるいは断片における変異体アミノ酸の位置は、配列番号：3にその配列を揃えることにより同定される。本件のIGERA 蛋白質変異体は、アミノ酸84位に対応する位置におけるアルギニン、アミノ酸 101位に対応する位置におけるアスパラギン、アミノ酸 177位に対応する位置におけるメチオニン、アミノ酸 247位に対応する位置におけるリジンから成る群から選択された少なくとも一つのアミノ酸があることを除いて、配列番号：3と同一のアミノ酸配列から成る。

【0073】

本発明は、配列番号：3を含む以前にIGERA について同定されたアミノ酸配列と以前に説明されたその断片のアミノ酸配列を特に除外している。本発明に含まれているIGERA 蛋白質変異体は、配列番号：3に基づくすべてのアミノ酸配列を含み、下記の第2表に説明されているアミノ酸変異体の組み合わせを持つアミノ酸配列から成る。好ましい実施例では、本発明のIGERA 蛋白質変異体が、第5表に示されているように、観察されたハプロタイプの一つにより定義される同質遺伝子によりコード化されている。

【0074】

【表2】

第2表 IGERA の新規多型変異体

多型 変異体 番号	アミノ酸位置およびその種類			
	84	101	177	247
1	K	S	T	K
2	K	S	M	N
3	K	S	M	K
4	K	N	T	N
5	K	N	T	K
6	K	N	M	N
7	K	N	M	K
8	R	S	T	N
9	R	S	T	K
10	R	S	M	N
11	R	S	M	K
12	R	N	T	N
13	R	N	T	K
14	R	N	M	N
15	R	N	M	K

【0075】

本発明はまた、IGERA ペプチド変異体を提供し、これらの変異体は、第2表に示されているアミノ酸変異体の一つまたはそれ以上を含む蛋白質変異体の任意の断片である。IGERA ペプチド変異体は、少なくとも6つのアミノ酸の長さで、好ましくは6から30のアミノ酸の長さで、更に好ましくは10から25のアミノ酸の長さで、最も好ましくは15から20のアミノ酸の長さである。そのようなIGERA ペプチド変異体は、上記のIGERA アイソフォームの一つに特異の抗体を生成する抗原として有用である。加えて、IGERA ペプチド変異体は薬剤スクリーニング検定に有用である。

【0076】

本発明のIGERA 変異体蛋白質あるいはペプチドは、化学合成により、あるいは上記の変異体IGERA ゲノム及びcDNA塩基配列を発現させることにより、生成することができる。または、IGERA 蛋白質変異体は、その変異体蛋白質をコードする

IGERA 同質遺伝子を持つ個体の生物学的試料から分離することができる。この試料に二つの異なったIGERA アイソフォームが含まれている場合（すなわち、その個体が異なったIGERA 同質遺伝子を有している場合）、その特定なIGERA 同質遺伝子に結合するがその他のIGERA 同質遺伝子には結合しない抗体を使用する。イムノアフィニティークロマトグラフィーにより、本発明の特定なIGERA 同質遺伝子を単離することができる。

【0077】

発現、あるいは単離されたIGERA 蛋白質は、クーマシーブルー染色法、シルバー染色法、下に詳しく説明するIGERA 蛋白質のアイソフォームに特異の抗体を使ったウエスタンブロット法を含む、この分野で良く知られた方法を用いて検出することができる。IGERA 変異体蛋白質は、分別沈殿、分子ふるいクロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、エレクトロフォーシス（等電集束法）、ゲル電気泳動法、アフィニティー及びイムノアフィニティークロマトグラフィー等を含む、この分野で良く知られた標準蛋白質精製手順で精製することができる（Ausubel et al., 1987, In Current Protocols in Molecular Biology John Wiley and Sons, New York, New York）。イムノアフィニティークロマトグラフィーの場合、対象多型変異体に特定の抗体を使用することができる。

【0078】

本発明の多型変異体IGERA 遺伝子はまた、フレーム内で異種の塩基配列と融合させて、キメラIGERA 蛋白質をコードすることができる。キメラ蛋白質の非IGERA 部分は、市販抗体により、認識されることができる。加えて、キメラ蛋白質はまた、IGERA 部分が非IGERA 部分から切断され更に精製されるように、IGERA と非IGERA 部分の間切断部位を含むように生成することもできる。

【0079】

本発明の付加的実施例は、新規IGERA 蛋白質アイソフォームを多様な薬剤スクリーニング検定に用いることに関する。そのようなスクリーニング検定は、既知のIGERA 蛋白質アイソフォームの全てに結合するか、あるいはこれらのアイソフォームの一つあるいはそれ以上のサブセットにのみ特定して結合する薬剤を同定することを目的として行われる。これらの薬剤は、化学物質ライブラリ、ペプチ

ドライブラリ等に由来する。IGERA 蛋白質あるいはペプチド変異体は、溶液内で遊離状態でも、固体にサポートされていてもよい。

【0080】

一つの実施例では、PCT 出願W084/03565に説明されている方法を使って、IGERA 変異体に結合する化合物の高スループットスクリーニングを行うことができる。この方法では、多くの検定化合物が、プラスチックピンあるいはその他の表面等の個体基板上に合成され、対象のIGERA 蛋白質と接触させられ、その後洗浄される。次に結合されたIGERA 蛋白質は、この分野で良く知られた方法を用いて検出される。

別の実施例では、新規IGERA 蛋白質アイソフォームを検定で使用して、IGERA 蛋白質にを標的とした一つまたはそれ以上の候補薬剤の結合親和性測定している。

【0081】

また別の実施例では、本発明は、本件で説明されているIGERA 変異体蛋白質の一つまたはそれ以上に対して特異性及び免疫反応性のある抗体を提供する。これらの抗体は、起源が単クローン性あるいは多クローン性であってもよい。これらの抗体を生成するのに使用されるIGERA 蛋白質あるいはペプチド変異体は、天然のもの、組換え技術によるもの、またはこの分野で良く知られた合成技術を使って化学合成したものでよい。

【0082】

IGERA 蛋白質変異体が、抗原性を発揮するのに大きさが不十分であれば、ペプチドの抗原性を高めるために、接合させるか、複合させるか、あるいは担体分子に共有結合させる。担体分子の例には、アルブミン（例：ヒト、ウシ、魚、ヒツジ）、及びキーホールリンペットヘモシアニン（Basic and Clinical Immunology, 1991, Eds. D.P.Stites, and A.I.Terr, Appleton and Lange, Norwalk Connecticut, San Mateo, California）が含まれるがこれらに限定されない。

【0083】

一つの実施例では、本件で説明されている新規IGERA 蛋白質アイソフォームの一つに対して特異性及び免疫反応性のある抗体が、ある個体によって発現されて

いるIGERA アイソフォームの活性を中和することを目的として、その個体に投与されている。この抗体は、製薬的に受容し得る担体を含んだ薬剤成分として調合することができる。

【0084】

本件で説明されている新規IGERA 蛋白質アイソフォームの一つに対して特異性及び免疫性がある抗体は、IGERA 蛋白質変異体を溶液から免疫沈殿するのに、またIGERA 蛋白質アイソフォームをポリアクリルアミドゲルのウェスタンまたは免疫プロットを膜サポート上あるいは基板上で反応させるのに使用できる。別の好ましい実施例では、免疫細胞化学的、免疫組織化学的、免疫蛍光的技術に利用することを目的として、抗体が、スライドやカバー硝子上に固定あるいは未固定の状態で作製されたパラフィンか、冷凍組織セクションか、あるいは細胞に存在するIGERA 蛋白質アイソフォームを検出している。

【0085】

また別の実施例では、本件で説明されている新規IGERA 蛋白質変異体の一つに対して特異に免疫反応性のある抗体が、この変異体を生物学的試料から検出する免疫測定法で使用されている。この方法では、本発明の抗体を、生物学的試料と接触させ、IGERA 蛋白質変異体とその抗体の複合体の形成を、検出している。説明されているように、適切な免疫測定法には、放射免疫測定法、ウエスタンプロット測定法、免疫蛍光測定法、酵素結合免疫測定法 (ELISA)、化学発光測定法、免疫組織化学的測定法、免疫細胞化学測定法等が含まれる (参照例: Principles and Practice of Immunoassay, 1991, Eds. Christopher P. Price and David J. Neoman, Stockton Press, New York, New York; Current Protocols in Molecular Biology, 1987, Eds. Ausubel et al., John Wiley and Sons, New York, New York)。

【0086】

この分野で良く知られているELISAの標準技術が、以下に説明されている: (Methods in Immunodiagnosis, 2nd Ed., Eds. Rose and Bigazzi, John Wiley and Sons, New York 1980; and Campbell et al., 1984, Methods in Immunology, W.A. Benjamin, Inc.)。このような測定法は、現行技術で説明されているよ

うに、直接的であったり、間接的であったり、また競合性が高い場合も低い場合もある（参照例：Principles and Practice of Immunoassay, 1991, Eds. Christopher P. Price and David J. Neoman, Stockton Press, NY, NY ; and Oellirich, M., 1984, J. Clin. Chem. Clin. Biochem., 22 : 895-904）。上記の「Current Protocols in Molecular Biology,」に説明されているように、蛋白質は、テスト試料及び生物学的試料から従来の方法で単離される。

【0087】

本発明の検出方法及び治療方法で使われている代表的抗体分子は、自然のままの免疫グロブリン分子、実質上自然のままの免疫グロブリン分子、あるいは抗原結合部位を含む免疫グロブリン分子の部分である。多クローン性あるいは単クローン性の抗体が、この分野で従来より良く知られた方法により、生成できる（例：Kohler and Milstein, 1975, Nature, 256 : 495-497 ; Campbell Monoclonal Antibody Technology, the Production and Characterization of Rodent and Human Hybridomas, 1985, In : Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology, Eds. Burdon et al., Volume 13, Elsevier Science Publishers, Amsterdam）。

【0088】

これらの抗体あるいはその抗原結合断片もまた、遺伝子工学により生成できる。大腸菌における重鎖及び軽鎖遺伝子双方の発現についての技術は、以下の特願番号のPCT 特許申請の主題である：WO 901443、WO 901443及びWO 9014424及びin Huse et al., 1989, Science, 246 : 1275-1281。これらの抗体はまた、人体に適応させることができる（例：Queen, C. et al. 1989 Proc. Natl. Acad. Sci. 86 ; 10029）。

【0089】

本件で同定された多型のIGERA 発現に対する効果は、組換え細胞及び/または生物体を作製することによって、好ましくは、そのIGERA 遺伝子の多型変異体を含む組換え動物を作製することによって研究することができる。本件で用いられているように、「発現」は、以下を含むがそれらに限定されない：前駆体mRNAへの遺伝子の転写；完成したmRNAを生成するための前駆体mRNAのスプライシング及

びその他のプロセッシング； mRNAの安定性； 完成したmRNAのIGERA 蛋白質への翻訳（コドン用法及びtRNA使用可能性を含む）； 及び糖鎖形成及び/または適切な発現及び機能が求められた場合の翻訳された蛋白の修正。

【0090】

本発明の組換え細胞を作成するには、望ましいIGERA 同質遺伝子をその組換え細胞に、その同質遺伝子が染色体外に留まるようなベクトルにおいて導入する。そのような状況で、その遺伝子は組換え細胞により染色体外の位置から発現される。好ましい実施例では、IGERA 同質遺伝子が、その細胞に存在する内因性のIGERA 遺伝子と再結合するように、細胞に導入されている。そのような組換えには、二重組換え事象の発生が必要であり、それによって望ましいIGERA 遺伝子多型が結果として生成される。

【0091】

組換え及び染色体外維持の双方を目的とした遺伝子導入用のベクトルは、この分野で良く知られており、いかなる適切なベクトルあるいはベクトル構成体をも本発明で使用できる。エレクトロポレーション、微粒子銃、リン酸カルシウム共沈澱、DNA を細胞に導入するためのウィルス形質導入のような方法がこの分野で良く知られている。従って、どの方法を選択するかは、当業者の裁量による。IGERA 同質遺伝子を導入できる細胞例には、COS、NIH/3T3のような連続培養細胞、及び関連組織タイプの初性あるいは培養細胞が含まれるがそれらに限定されない。すなわち、IGERA 同質遺伝子を発現するものが良い。そのような組換え細胞は、異なった蛋白質変異体の生物学的活動を比較するのに使用できる。

【0092】

変異体IGERA 遺伝子を発現する組換え生物体、すなわち遺伝子導入動物は、この分野に良く知られている標準手順を用いて、作製される。好ましくは、その変異体遺伝子から成る構成体をヒトではない動物、詳しくは胎芽期（すなわち、単細胞期、あるいは一般的には8細胞期以前）にあるその動物の原種に導入するのが良い。本発明の構成体を持つ遺伝子導入動物は、当業者に良く知られたいくつかの方法により作製することができる。

【0093】

第一の方法は、絶縁された (inplated) 遺伝子を導入遺伝子 (transgene) として宿すシャトルベクトルを提供するために、一つまたはそれ以上の絶縁要素、対象遺伝子または遺伝子群、この分野で知られるその他の構成要素を含むように構成されたレトロウィルスを胚へ形質移入することに関わる (参照例 : U.S. Patent No. 5,610,053)。第二の方法は、直接導入遺伝子を胚へ注入することに関わる。第三の方法は、胚芽幹細胞の使用に関わる。

【 0 0 9 4 】

IGERA 同質遺伝子を導入できる動物例には、ネズミ、ドブネズミ、その他のげっ歯類、ヒト以外の霊長類が含まれるがそれらに限定されない (参照 : “ The Introduction of Foreign Genes into Mice ” and the cited references therein, In : Recombinant DNA, Eds. J.D.Watson, M. Gilman, J.Witkowski, and M. Zoller ; W.H.Freeman and Company, New York, pages 254-272)。一定してヒトのIGERA 同質遺伝子を発現しヒトのIGERA 蛋白質を生成する遺伝子導入動物は、異常なIGERA の発現及び / または活性に関する疾病を研究する上で、更に様々な薬剤、化合物、これらの疾病の症状あるいは効果軽減のための治療法をスクリーニングし測定する上で、生物学的モデルとして使用可能である。

【 0 0 9 5 】

本発明の付加的実施例は、本件に説明されている新規IGERA 同質遺伝子の発現あるいは機能により影響を受ける障害を治療する薬剤構成物に関する。この薬剤構成物は、以下の活性材料から成る : これらの新規IGERA 同質遺伝子の一つから成るポリヌクレオチド ; これらの新規IGERA 同質遺伝子の一つに向けられた反意鎖オリゴヌクレオチド、そのような反意鎖オリゴヌクレオチドをコード化するポリヌクレオチド、あるいは本件に説明されているIGERA 同質遺伝子の発現を阻止する別の化合物。好ましくは、この構成物は、この活性材料を治療で効果のでる量含んでいるのが良い。

【 0 0 9 6 】

治療で効果のでる量というのは、新規IGERA 同質遺伝子の発現あるいは機能により影響を受ける障害に関する症状の一つあるいはそれ以上が、軽減されるかあるいは除去されるという意味である。この構成物はまた、薬学的に受容し得る担

体からなり、その例としては、食塩水、緩衝剤含有食塩水、ぶどう糖、及び水が含まれるがそれらに限定されない。当業者は、ポリヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、蛋白質、ペプチド、あるいは小分子拮抗物質であろうとも、この活性材料に最も適した調剤法を用いる。薬学的構成物は、それだけで投与しても良く、あるいは、少なくとも一つのその他の作動薬（例：安定化合物）と組み合わせて投与しても良い。

【0097】

この薬学的構成物の投与は、いくつかの経路で行われても良く、その経路には、経口投与、静脈内投与、筋肉内投与、動脈内投与、髄内投与、くも膜下内投与、心室内投与、皮内投与、経皮的投与、皮下投与、腹腔内投与、鼻腔内投与、腸内投与、局所投与、舌下投与、あるいは直腸投与が含まれるがそれらに限定されない。調剤法及び投与に関する詳細については、以下の最新版を参照されたい：Remington's Pharmaceutical Science (Maack Publishing Co., Easton, PA)。

【0098】

いかなる構成体についても、活性成分の治療上効果的な投与量及び/または適切な投与経路の決定は、当業者の十分承知するところであろう。たとえば、投与量は、細胞培養測定法あるいは動物モデルを用いて推定が可能である。また、動物モデルは、適切な濃度域及び投与経路を決定するのに使用できる。そのような情報は、こういった実験を経て、ヒトへの投与のための投与量及び経路の決定を行うのに利用される。正確な投与量は、治療を必要としている患者に関する要因を考慮の上、医師により決定される。これらの要因には、疾病状態の強度、健康全般、患者の年齢・体重・性別、食生活、投与の時間および頻度、患者が服用しているその他の薬剤、及び治療に対する耐性/反応が含まれるがそれらに限定されない。

【0099】

任意の特定の個体のIGERA 遺伝子に対する遺伝子型及びハプロタイプの同定に関する情報、及び任意特定の個体群におけるそのような遺伝子型及びハプロタイプの頻度に関する情報は、多様な基礎研究および臨床応用において、有用であると考えられる。従って、本発明は、本件で同定された新規IGERA 多型を検出する

構成体及び方法をも呈している。

【0100】

この構成体は、少なくとも一つのIGERA 遺伝子型決定オリゴヌクレオチドから成る。一つの実施例では、IGERA 遺伝子型化オリゴヌクレオチドは、本件で説明されている新規多型部位の一つに近いところに位置するか、あるいはその部位を含む標的領域に対してハイブリダイゼーションが可能なプローブあるいはプライマーである。本件で使われているように、「オリゴヌクレオチド」という用語は、100以下のヌクレオチドを有するポリヌクレオチド分子に言及している。本発明の好ましいオリゴヌクレオチドは、10から35ヌクレオチドの長さである。

【0101】

更に好ましくは、オリゴヌクレオチドは、15から30の長さであるのが良く、更に最も好ましくは、20から25ヌクレオチドの長さであるのが良い。このオリゴヌクレオチドは、リボヌクレオチド、デオキシリボヌクレオチド、及び非環式ヌクレオチド誘導體、及びその他の機能的に同等の誘導體のいかなるリン酸化状態から構成されていても良い。または、オリゴヌクレオチドは、リン酸なしバックボーンを有していても良く、このバックボーンは、カボキシメチル、アセトアミド、カルバメート、ポリアミド(ペプチド核酸(PNA))等のような連鎖から成る(Varma, R. in Molecular Biology and Biotechnology, A Comprehensive Desk Reference, Ed. R. Meyers, VCH Publishers, Inc. (1995), pages 617-620)。

【0102】

本発明のオリゴヌクレオチドは、この分野で良く知られた適切な方法を用いて化学合成によって作製することができ、また生物学的試料から、例えば、制限酵素分解により、取り出すこともできる。オリゴヌクレオチドは、この分野で良く知られた技術に従って、標識することができ、放射能標識、蛍光標識、酵素的標識、蛋白質、ハプテン、抗体、配列タグ等を使用したものがある。

【0103】

本発明の遺伝子型決定オリゴヌクレオチドは、IGERA ポリヌクレオチド(すなわち、IGERA 同質遺伝子)の標的領域に対して特異的にハイブリダイゼーションが可能でなければならない。本件で使われているように、「特異的なハイブリダ

イゼーション」というのは、あるハイブリダイゼーション条件下で、オリゴヌクレオチドが標的領域と反平行に二本鎖構造を形成するという意味で、標的領域以外あるいはIGERA ポリヌクレオチドでないものが、同一ハイブリダイゼーション条件下に培養された場合、オリゴヌクレオチドはそのような構造を形成できない。

【0104】

好ましくは、オリゴヌクレオチドは、標的領域に対して従来の厳しい条件下で、特異的にハイブリダイゼーションする。当業者は、本件に呈されている多型に関する情報と、IGERA 遺伝子に関する既知の配列情報とそれに通常の技術を使用し、IGERA 遺伝子における多型を検出するための適切なオリゴヌクレオチドプローブ及びプライマーを、容易にデザインし検査に使用することができる。

【0105】

オリゴヌクレオチドあるいはポリヌクレオチドのような核酸分子は、分子中の一つの分子のヌクレオチドの一つ一つがもう一方のヌクレオチドの対応位置にあるヌクレオチドに対して相補的であるとするならば、別の核酸分子の「完全な」あるいは「完成した」相補配列であると言われている。核酸分子は、二重形態を保持するに十分な安定性を備え、従来の温和な条件下において、もう一方の核酸に対してハイブリダイゼーションする場合、その核酸に対して、「実質的に相補的」であると言われる。

【0106】

従来のハイブリダイゼーション条件は、例えば、以下に説明されている：by Sambrook J. et al., in *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, 2nd Edition, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, NY (1989) and by Haymes, B.D. et al. in *Nucleic Acid Hybridization, A Practical Approach*, IRL Press, Washington, D.C. (1985)。完全に相補的であるオリゴヌクレオチドが、多型を検出する上で好ましいが、完全相補性からの逸脱は、そのような逸脱があっても分子が標的領域に対して特異的にハイブリダイゼーションすることを妨げない場合、熟慮されている。

【0107】

例えば、オリゴヌクレオチドプライマーは、残りのプライマーが標的領域に相補的であるかぎり、その5'炭素原子末端に非相補的な断片を有していても良い。または、非相補的ヌクレオチドは、それが挿入されても、プローブあるいはプライマーが依然として標的領域に対してハイブリダイゼーションすることが可能である限りは、オリゴヌクレオチドプローブあるいはプライマーに挿入させてもよい。

【0108】

本発明の好ましい遺伝子型決定オリゴヌクレオチドは、対立遺伝子に対して特異的に反応するオリゴヌクレオチドである。本件で使われているように、「対立遺伝子に対して特異的に反応するオリゴヌクレオチド」とは、十分厳しい (stringent) 条件下で、多型部位を含む標的領域に存在するある遺伝子の一つの対立遺伝子に対して、あるいはその他の遺伝子座に対して、特異的にハイブリダイゼーションが可能だが、その他の対立遺伝子 (群) にある対応領域に対してはハイブリダイゼーションしないオリゴヌクレオチドを指す。

【0109】

当業者に理解されているように、対立遺伝子に対する特異性は、食塩及びホルムアミドの濃度及びハイブリダイゼーションと洗浄段階の温度を含む、容易に最適化できるが厳しい条件の多様性に依って変わる。ASO プローブで一般的に用いられるハイブリダイゼーション及び洗浄条件の例は、以下に見出される : Kogan et al., "Genetic Prediction of Hemophilia A" in PCR Protocols, A Guide to Methods and Applications, Academic Press, 1990 and Ruano et al., 87 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 6296-6300, 1990。一般的に、対立遺伝子に対して特異的に反応するオリゴヌクレオチドは、一つの対立遺伝子に対して完全に相補的であるが、別の対立遺伝子に対しては単一の不一致を含む。

【0110】

異なった対立遺伝子を非常に良く区別することができ、対立遺伝子に対して特異的に反応するオリゴヌクレオチドプローブは、オリゴヌクレオチドプローブの中央部が標的領域の多型部位と位置が揃っているプローブである (例 : 15量体において約7番目あるいは8番目の位置、16量体において約8番目あるいは9番

目の位置、20量体において約10番目あるいは11番目の位置)。IGERA 遺伝子多型を検出する好ましいASOプローブは、5'末端から3'末端に表示されたヌクレオチド塩基配列が以下から成る群から選択される：

【0111】

【化1】

TGAAATATCAGATTT	(配列番号：4) 及びその相補配列、
TGAAATAGCAGATTT	(配列番号：5) 及びその相補配列、
ATTCTGCTCTCCCTT	(配列番号：6) 及びその相補配列、
ATTCTGCCCTCCCTT	(配列番号：7) 及びその相補配列、
GATATGATACAGAAA	(配列番号：8) 及びその相補配列、
GATATGACACAGAAA	(配列番号：9) 及びその相補配列、
TACAGAAAACATTTT	(配列番号：10) 及びその相補配列、
TACAGAATACATTTT	(配列番号：11) 及びその相補配列、
AATTACCCCTCCAG	(配列番号：12) 及びその相補配列、
AATTACCACTCCAG	(配列番号：13) 及びその相補配列、
ACTAATGTATCCTCT	(配列番号：14) 及びその相補配列、
ACTAATGCATCCTCT	(配列番号：15) 及びその相補配列、
GTATCCTCTCTGGAC	(配列番号：16) 及びその相補配列、
GTATCCTATCTGGAC	(配列番号：17) 及びその相補配列、
TAATGAGCATGAATC	(配列番号：18) 及びその相補配列、
TAATGAGTATGAATC	(配列番号：19) 及びその相補配列、
AATCAAACAGGGTC	(配列番号：20) 及びその相補配列、
AATCAAAGCAGGGTC	(配列番号：21) 及びその相補配列、
AATGCCAAATTTGAA	(配列番号：22) 及びその相補配列、
AATGCCAGATTTGAA	(配列番号：23) 及びその相補配列、
AATGAGAGTGAACCT	(配列番号：24) 及びその相補配列、
AATGAGAATGAACCT	(配列番号：25) 及びその相補配列、
AGGCCTCTCATTTTT	(配列番号：26) 及びその相補配列、
AGGCCTCCCATTTTT	(配列番号：27) 及びその相補配列、
TTTGGGAGGCTGAGG	(配列番号：28) 及びその相補配列、
TTTGGGAAGCTGAGG	(配列番号：29) 及びその相補配列、

【0112】

【化2】

ACCATCCGGCTAACA	(配列番号：30) 及びその相補配列、
ACCATCCAGCTAACA	(配列番号：31) 及びその相補配列、
ATGCGTGGCTCTCTT	(配列番号：32) 及びその相補配列、
ATGCGTGA CTCTCTT	(配列番号：33) 及びその相補配列、
TACTGTACGGGCAAA	(配列番号：34) 及びその相補配列、
TACTGTATGGGCAAA	(配列番号：35) 及びその相補配列、
AGCCTACCAGACTTG	(配列番号：36) 及びその相補配列、
AGCCTACTAGACTTG	(配列番号：37) 及びその相補配列、
ATGGTGATAGTAATA	(配列番号：38) 及びその相補配列、
ATGGTGACAGTAATA	(配列番号：39) 及びその相補配列、
TTCTGAACCCACATC	(配列番号：40) 及びその相補配列、
TTCTGAAACCACATC	(配列番号：41) 及びその相補配列、
CAATTGCTACTCAAT	(配列番号：42) 及びその相補配列、
CAATTGCCACTCAAT	(配列番号：43) 及びその相補配列、
AGCTTGCAATATACA	(配列番号：44) 及びその相補配列、
AGCTTGCGATATACA	(配列番号：45) 及びその相補配列、
TGAAACTGGTTAAGT	(配列番号：46) 及びその相補配列、
TGAAACTAGTTAAGT	(配列番号：47) 及びその相補配列。

【0113】

本発明の、対立遺伝子に特異的に反応するオリゴヌクレオチドプライマーは、3'末端ヌクレオチド、あるいは好ましくは3'末端から二番目のヌクレオチドが、ある特定のSNPの一つのヌクレオチドに対してのみ相補的であるものである。それによってそのヌクレオチドが含まれている対立遺伝子が存在する場合にのみ、ポリメラーゼ媒介性伸張用プライマーとして作用する。本発明においては、対立遺伝子に特異的でコード鎖あるいは非コード鎖のどちらかに対してハイブリダイゼーションするオリゴヌクレオチドプライマーが熟慮されている。IGERA 遺伝子多型を検出する好ましいASOプローブは、5'末端から3'末端に表示されたヌクレオチド塩基配列が以下から成る群から選択される：

【0114】

【化3】

AATAAATGAAATATC	(配列番号:48);	CTAAATAAATCTGAT	(配列番号:49);
AATAAATGAAATAGC	(配列番号:50);	CTAAATAAATCTGCT	(配列番号:51);
TGTTTTATTCTGCTC	(配列番号:52);	GGATGCAAGGGAGAG	(配列番号:53);
TGTTTTATTCTGCC	(配列番号:54);	GGATGCAAGGGAGGG	(配列番号:55);
TAACCAGATATGATA	(配列番号:56);	AAATGTTTTCTGTAT	(配列番号:57);
TAACCAGATATGACA	(配列番号:58);	AAATGTTTTCTGTGT	(配列番号:59);
ATATGATACAGAAA	(配列番号:60);	CAGAAGGAAATGTTT	(配列番号:61);
ATATGATACAGAATA	(配列番号:62);	CAGAAGGAAATGTAT	(配列番号:63);
AGATTCAATTACCCC	(配列番号:64);	GCCTCCCTGGGAGGG	(配列番号:65);
AGATTCAATTACCAC	(配列番号:66);	GCCTCCCTGGGAGTG	(配列番号:67);
CTGGACACTAATGTA	(配列番号:68);	GTCCAGAGAGGATAC	(配列番号:69);
CTGGACACTAATGCA	(配列番号:70);	GTCCAGAGAGGATGC	(配列番号:71);
ACTAATGTATCCTCT	(配列番号:72);	GCAAAAAGTCCAGAGA	(配列番号:73);
ACTAATGTATCCTAT	(配列番号:74);	GCAAAAAGTCCAGATA	(配列番号:75);
GCTTTCTAATGAGCA	(配列番号:76);	GGAACAGATTCATGC	(配列番号:77);
GCTTTCTAATGAGTA	(配列番号:78);	GGAACAGATTCATAC	(配列番号:79);
CCTAGAAATCAAAAC	(配列番号:80);	TGATAAGACCCTGTT	(配列番号:81);
CCTAGAAATCAAAGC	(配列番号:82);	TGATAAGACCCTGCT	(配列番号:83);
ATTGTGAATGCCAAA	(配列番号:84);	ACTGTCTTCAAATTT	(配列番号:85);
ATTGTGAATGCCAGA	(配列番号:86);	ACTGTCTTCAAATCT	(配列番号:87);
CAAGTTAATGAGAGT	(配列番号:88);	GTACACAGGTTCACT	(配列番号:89);
CAAGTTAATGAGAAT	(配列番号:90);	GTACACAGGTTCATT	(配列番号:91);

【0115】

【化4】

GATTC AAGGCCTCTC (配列番号:92); GGTCTTAAAAATGAG (配列番号:93);
 GATTC AAGGCCTCCC (配列番号:94); GGTCTTAAAAATGGG (配列番号:95);
 CAGCACTTTGGGAGG (配列番号:96); CACCTGCCTCAGCCT (配列番号:97);
 CAGCACTTTGGGAAG (配列番号:98); CACCTGCCTCAGCTT (配列番号:99);
 ATCGAGACCATCCGG (配列番号:100); TCACCATGTTAGCCG (配列番号:101);
 ATCGAGACCATCCAG (配列番号:102); TCACCATGTTAGCTG (配列番号:103);
 TGCTCTATGCGTGGC (配列番号:104); AGAGAAAAGAGAGCC (配列番号:105);
 TGCTCTATGCGTGAC (配列番号:106); AGAGAAAAGAGAGTC (配列番号:107);
 ACCTACTACTGTACG (配列番号:108); CCACACTTTGCCCGT (配列番号:109);
 ACCTACTACTGTATG (配列番号:110); CCACACTTTGCCCAT (配列番号:111);
 CTGGAAAAGCCTACCA (配列番号:112); TCATTGCAAGTCTGG (配列番号:113);
 CTGGAAAAGCCTACTA (配列番号:114); TCATTGCAAGTCTAG (配列番号:115);
 TGTTAAATGGTGATA (配列番号:116); AGCAGGTATTACTAT (配列番号:117);
 TGTTAAATGGTGACA (配列番号:118); AGCAGGTATTACTGT (配列番号:119);
 TCAGACTTCTGAAACC (配列番号:120); GCTTAGGATGTGGGT (配列番号:121);
 TCAGACTTCTGAAAC (配列番号:122); GCTTAGGATGTGGTT (配列番号:123);
 CATCAGCAATTGCTA (配列番号:124); TTGACAATTGAGTAG (配列番号:125);
 CATCAGCAATTGCCA (配列番号:126); TTGACAATTGAGTGG (配列番号:127);
 AAACACAGCTTGCAA (配列番号:128); TTTCTATGTATATTG (配列番号:129);
 AAACACAGCTTGCGA (配列番号:130); TTTCTATGTATATCG (配列番号:131);
 ACTGAGTGAAACTGG (配列番号:132); CATGCCACTTAACCA (配列番号:133);
 ACTGAGTGAAACTAG (配列番号:134); &U CATGCCACTTAACTA (配列番号:135)。

【0116】

本発明のその他の遺伝子型決定オリゴヌクレオチドは、本件で同定されている新規多型部位の一つから、一ないし数ヌクレオチド下方に位置する標的領域に対してハイブリダイゼーションする。そのようなオリゴヌクレオチドは、本件で説明されている新規多型の一つを検出するポリメラーゼ媒介性伸張方法において有用である。従って、そのような遺伝子型化オリゴヌクレオチドは、本件で「プライマー伸張オリゴヌクレオチド」として言及されている。

【0117】

好ましい実施例では、プライマー伸張オリゴヌクレオチドの3'末端は、その多型部位に直接隣接しているヌクレオチドに対して相補的なデオキシヌクレオチ

ドである。プライマー伸張によってIGERA 遺伝子多型を検出する上で、特に好ましいオリゴヌクレオチドプライマーは、5 末端から3 末端に表示されたヌクレオチド塩基配列が以下の配列で終わる群から選択される：

【0118】

【化5】

AAATGAAATA	(配列番号:136);	AATAAATCTG	(配列番号:137);
TTTATTCTGC	(配列番号:138);	TGCAAGGGAG	(配列番号:139);
CCAGATATGA	(配列番号:140);	TGTTTTCTGT	(配列番号:141);
TGATACAGAA	(配列番号:142);	AAGGAAATGT	(配列番号:143);
TTCAATTACC	(配列番号:144);	TCCCTGGGAG	(配列番号:145);
GACACTAATG	(配列番号:146);	CAGAGAGGAT	(配列番号:147);
AATGTATCCT	(配列番号:148);	AAAGTCCAGA	(配列番号:149);
TTCTAATGAG	(配列番号:150);	ACAGATTCAT	(配列番号:151);
AGAAATCAAA	(配列番号:152);	TAAGACCCTG	(配列番号:153);
GTGAATGCCA	(配列番号:154);	GTCTTCAAAT	(配列番号:155);
GTTAATGAGA	(配列番号:156);	CACAGGTTCA	(配列番号:157);
TCAAGGCCTC	(配列番号:158);	CTTAAAAATG	(配列番号:159);
CACTTTGGGA	(配列番号:160);	CTGCCTCAGC	(配列番号:161);
GAGACCATCC	(配列番号:162);	CCATGTTAGC	(配列番号:163);
TCTATGCGTG	(配列番号:164);	GAAAAGAGAG	(配列番号:165);
TACTACTGTA	(配列番号:166);	CACTTTGCCC	(配列番号:167);
GAAAGCCTAC	(配列番号:168);	TTGCAAGTCT	(配列番号:169);
TAAATGGTGA	(配列番号:170);	AGGTATTACT	(配列番号:171);
GACTTCTGAA	(配列番号:172);	TAGGATGTGG	(配列番号:173);
CAGCAATTGC	(配列番号:174);	ACAATTGAGT	(配列番号:175);
CACAGCTTGC	(配列番号:176);	CTATGTATAT	(配列番号:177);
GAGTGAAACT	(配列番号:178);	GCCACTTAAC	(配列番号:179)。

【0119】

ある実施例においては、同時に二つあるいはそれ以上の多型部位におけるヌクレオチドの同定するため、二つあるいはそれ以上の異なった標識がつけられた遺伝子型化オリゴヌクレオチドが構成体に含まれている。また、この他に実施例で熟慮されているのは、プライマー構成体に二つあるいはそれ以上の組の対立遺伝子特異プライマーペアが含まれており、それによって一つの多型部位を含む二つ

あるいはそれ以上の領域の同時標的及び増幅ができるようになっていることである。

【0120】

本発明のIGERA 遺伝子型決定オリゴヌクレオチドはまた、マイクロチップ、ピーズ、スライド・ガラスのような固体表面に固定あるいは合成することができる（参照例：W098/20020 and W098/20019）。そのような固定遺伝子型化オリゴヌクレオチドは、色々な多型検出法に使用でき、それはプローブハイブリダイゼーション及びポリメラーゼ伸張検定法を含むが、それらに限定されない。本発明の固定IGERA 遺伝子型化オリゴヌクレオチドは、同時に複数の遺伝子に存在する多型を求めるために、DNA 試量を迅速にスクリーンするようにデザインされたオリゴヌクレオチドの秩序だった配列を含むこともできる。

【0121】

また別の実施例では、本発明は、個別の容器に収納された少なくとも二つの遺伝子型化オリゴヌクレオチドから成るキットを呈している。このキットには、個別の容器に収納された、ハイブリダイゼーション緩衝液（オリゴヌクレオチドがプローブとして使われる場）のようなその他の構成要素も含まれている。または、オリゴヌクレオチドが標的領域を増幅するのに使われる場合、このキットは、個別の容器に収納された、ポリメラーゼ及び反応緩衝液を含む。これらはPCR 法のようなポリメラーゼによって媒介されるプライマー伸張用に最適化されている。

【0122】

上記に説明されたオリゴヌクレオチド構成体及びキットは、ある個体に存在するIGERA 遺伝子を遺伝子型化及び/またはハプロタイプ化する方法において有用である。本件で使われているように、「IGERA 遺伝子型」及び「IGERA ハプロタイプ」という用語は、遺伝子型及び/またはハプロタイプが、本件で説明されている新規多型部位の一つあるいはそれ以上に存在するヌクレオチドペアあるいはヌクレオチドを含んでおり、また、任意には、そのIGERA 遺伝子の付加的な多型部位の一つあるいはそれ以上に存在するヌクレオチドペアあるいはヌクレオチドを含んでいるということを意味する。この付加的な多型部位は、現在は多型部位とし

て知られている、あるいは次いで発見される部位です。

【0123】

遺伝子型決定方法についての一つの実施例は、ある個体に存在するIGERA 遺伝子の二つのコピーあるいはその断片から成る核酸混合物をその個体から単離させ、その個体に対してIGERA 遺伝子型を割り当てるために、二つのコピーにあるPS1-22から選択された一つあるいはそれ以上の多型部位のヌクレオチドペアを同定することに関する。当業者には容易に理解されるように、ある個体に存在するある遺伝子のこれらの二つの「コピー」は、同一の対立遺伝子である可能性もあれば、あるいは異なった対立遺伝子である可能性もある。特に好ましい実施例では、遺伝子型化方法は、PS1 からPS22までのそれぞれの位置におけるヌクレオチドペアを同定することから成る。

【0124】

一般的に、核酸混合物は、血液試料あるいは組織試料のような、個体から採取された生物学的試料から単離される。適切な組織細胞には、全血、精液、唾液、涙、尿、糞便物質、汗、口腔、皮膚及び毛髪が含まれる。核酸混合物は、ゲノムDNA、mRNA、あるいはcDNAから成り、後者二つの場合には、生物学的試料は、IGERA 遺伝子が発現されている臓器から入手される必要がある。更に、当業者には理解されるであろうが、mRNAあるいはcDNAは、イントロンあるいは5'及び3'非翻訳領域に位置する多型を検出するには使用されない。IGERA 断片が単離される場合は、その断片は遺伝子型化される多型部位をふくんでいなければならない。

【0125】

ハプロタイプ決定方法についての一つの実施例は、IGERA 遺伝子の二つのコピーの内の一つのみあるいはその断片から成る核酸分子を個体から単離させ、その個体に対してIGERA ハプロタイプを割り当てるために、そのコピーにある一つあるいはそれ以上の多型部位PS1-22のヌクレオチドを同定することから成る。この核酸は、IGERA 遺伝子あるいはその断片の二つのコピーを分離することが可能であるいかなる方法を使っても、単離することができる。その例としては、上に説明されている方法の一つで、IGERA 同質遺伝子を作製するもので、標的を絞った

生体内クローニングを好ましいアプローチとしている。

【0126】

当業者に容易に認識されるように、任意の個別クローンは、個体に存在する二つのIGERA 遺伝子コピーの内の一のコピーに関するハプロタイプ情報しか呈示しない。その個体の他方のコピーのハプロタイプ情報が欲しい場合は、付加的IGERA クローンを検査する必要がある。一般的に、ある個体におけるIGERA 遺伝子の双方のコピーをハプロタイプ化することにおいて90%の確率を得るためには、少なくとも5つのクローンが検査される必要がある。特に好ましい実施例では、PS1 からPS22までのそれぞれの位置におけるヌクレオチドが同定されている。

【0127】

好ましい実施例では、個体に対してのIGERA ハプロタイプペアが、その個体のIGERA 遺伝子のそれぞれのコピーに存在する PS1 ~ 22から選択される一つあるいはそれ以上の多型部位に位置するヌクレオチドの相の特定された塩基配列を同定することにより決定される。特に好ましい実施例では、ハプロタイプ化方法は、IGERA 遺伝子のそれぞれのコピーに存在するPS1 からPS22までのそれぞれの位置におけるヌクレオチドの相の特定された塩基配列を決定することから成る。遺伝子のコピーを双方ともハプロタイプする場合は、別個の容器に入れて遺伝子の各々のコピーを確認することが望ましい。

【0128】

しかしながら、その二つのコピーに異なったタグで標識が付けられている場合、あるいは別個に区別できるか別個に同定できる場合は、同定作業を同一容器で行うことが可能であるかもしれない。例えば、第一及び第二の遺伝子コピーが異なった第一および第二蛍光染料でそれぞれ標識がつけられていて、第三の蛍光染料で標識がつけられている対立遺伝子特異オリゴヌクレオチドが多型部位(群)を測定するのに使用されている場合は、第一及び第三染料の組み合わせを検出すると、第一の遺伝子コピーにある多型を同定することができ、更に第二及び第三染料の組み合わせを検出すると、第二の遺伝子コピーにある多型を同定することができる。

【0129】

遺伝子型決定及びハプロタイプ決定の双方において、多型部位（群）におけるヌクレオチド（ヌクレオチドペア）の同定は、IGERA 遺伝子の一つかまたは双方のコピー、あるいはその断片に直接由来する多型部位（群）を含む標的領域を増幅し、増幅領域の配列を決定することによってなされる。その部位に対して同型接合である個体群に存在する一つの多型部位では単一のヌクレオチドしか検出されないが、その個体がその部位に対して異型接合であれば二つの異なったヌクレオチドが検出されることが当業者には容易に認識されるであろう。

【0130】

多型の同定は肯定タイプの直説法、または否定タイプの推論法によって同定できる。例えば、SNP が参照個体群でグアニン及びシトシンであると分かっている場合は、部位は、その部位において同型接合である個体に対してはグアニンかシトシンのどちらかであるか、あるいはまたその個体がその部位において異型接合である場合はグアニン及びシトシンの双方であると肯定的に決定できる。または、その部位は、グアニンではない（従ってシトシン/シトシン）あるいはシトシンではない（グアニン/グアニン）と、否定的に決定することもできる。

【0131】

加えて、本件で説明されている任意の新規多型部位に存在する対立遺伝子の同定性は、本件に開示されていない、対象多型部位と連鎖不平衡関係にある多型部位を遺伝子型化することによって間接的に決定される。二ヶ所の部位は、ある部位に存在するある特定の変異体の存在が、第二の部位にある別の変異体の予測可能性を高める場合に、その二ヶ所の部位は連鎖不平衡関係にあると言われる（Stevens, JC 1999, Mol. Diag. 4 : 309-17）。

【0132】

現在開示されている多型部位と連鎖不平衡関係にある多型部位は、その遺伝子の領域に位置するか、または本件で研究されていないその他のゲノム領域に位置するかもしれない。本件に説明されている新規多型部位と連鎖不平衡関係にある多型部位の遺伝子型化は、多型部位における対立遺伝子を同定する上記のどの方法によっても行うことができるが、それらに限定されるものではない。

【0133】

標的領域(群)は、任意のオリゴヌクレオチド指令増幅法を用いて、増幅することができる。そのような増幅法には、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)(U.S. Patent No. 4,965,188)、リガーゼ連鎖反応(LCR)(Barany et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88 : 189-193, 1991 ; WO90/01069)、オリゴヌクレオチド連結検定法(OLA)(Landegren et al., Science 241 : 1077-1080, 1988)が含まれるがそれらに限定されるものではない。このような方法においてプライマーあるいはプローブとして有用なオリゴヌクレオチドは、多型部位を含むか、あるいはその多型部位に隣接する核酸領域に特異的にハイブリダイゼーションする必要がある。

【0134】

一般的に、オリゴヌクレオチドは10から35ヌクレオチドの長さで、好ましくは15から30ヌクレオチドの長さが良い。最も好ましくは、オリゴヌクレオチドは20から25ヌクレオチドの長さであるのが良い。オリゴヌクレオチドの正確な長さは、当業者によって常に考慮され実施される多くの因子によって決まる。

標的領域を増幅するのに、その他の既知の核酸増幅方法、転写に基づく増幅システム(U.S. Patent No. 5,130,238 ; EP 329,822 ; U.S. Patent No. 5,169,766, WO89/06700)及び等温法(Walker et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89 : 392-396, 1992)などが使用できる。

【0135】

この分野で良く知られるハイブリダイゼーションを基盤とするいくつかの方法を用いて、標的領域における多型を、増幅の前後に測定することができる。一般的に、そのような方法をおこなうには、対立遺伝子に対して特異的に反応するオリゴヌクレオチドが利用される。対立遺伝子に対して特異的に反応するオリゴヌクレオチドは、別々に標識をつけられたプローブペアとして使用することができ、そのペアの一つは標的塩基配列の一つの変異体に対して完全な一致を示し、他方は異なった変異体に対して完全な一致を示す。

【0136】

ある実施例においては、対立遺伝子に対して特異的に反応するオリゴヌクレオチドのセットあるいはオリゴヌクレオチドのペアを用いて、複数の多型部位を一

度に検出することができる。好ましくは、このセットのオリゴヌクレオチドは、検出中の多型部位のそれぞれに対してハイブリダイゼーションする場合に、相互に5 以内の融点、更に好ましくは2 以内の融点を有するのが望ましい。

【0137】

対立遺伝子に対して特異的に反応するオリゴヌクレオチドの標的ポリヌクレオチドに対するハイブリダイゼーションは、双方を溶液中にて行うことができ、また、そのようなハイブリダイゼーションはオリゴヌクレオチドあるいは標的ポリヌクレオチドのどちらかを共有結合的あるいは非共有結合的に固体のサポートに固定して行うこともできる。付着は、例えば、抗体抗原作用、ポリ-L-リジン、ストレプトアビジンあるいはアビジン-ビオチン、塩橋、疎水性作用、化学結合、UV交差結合焼きつけ等によって、媒介しても良い。

【0138】

対立遺伝子に対して特異的に反応するオリゴヌクレオチドは、固体のサポートに直接合成するか、あるいは合成後に固体のサポートに付着させることができる。本発明の検出法での使用に適した固体のサポートには、シリコン、硝子、プラスチック、紙等で作られた基板が含まれる。これらは、例えば、ウェル状(96-ウェルプレートのように)、スライド状、粘膜状、繊維状、チップ状、皿状、及びビーズ状に成形することができる。

【0139】

この固体のサポートには、表面処理、被膜処理、あるいは誘導体化処理を施し、対立遺伝子に対して特異的に反応するオリゴヌクレオチドあるいは標的核酸の固定を促進する。

ある個体のIGERA 遺伝子の遺伝子型あるいはハプロタイプはまた、その遺伝子の一つあるいは双方のコピーを含む核酸試料を、W095/11995に説明されているように、核酸アレー及び核酸サブアレーに対してハイブリダイゼーションすることによって決定することができる。このアレーには、遺伝子型あるいはハプロタイプに含まれる多型部位の各々を表わす、一連の対立遺伝子特異オリゴヌクレオチドが含まれている。

【0140】

多型の同定はまた、不一致検出技術を用いて、決定することができる。そのような技術には、リボプローブ (Winter et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82 : 7575, 1985 ; Meyers et al., Science 230 : 1242, 1985)、及び大腸菌mut S 蛋白質のようなヌクレオチド不一致を認識する蛋白質 (Modrich, P. Ann. Rev. Genet. 25 : 229-253, 1991) を用いたリボヌクレアーゼ保護法が含まれるがそれらに限定されない。また、変異体対立遺伝子は、一本鎖配座多型 (SSCP) 分析により (Orita et al., Genomics 5 : 874-879, 1989 ; Humphries et al., in Molecular Diagnosis of Genetic Diseases, R. Elles, ed., pp. 321-340, 1996)、あるいは変性勾配ゲル電気泳動法 (DGGE) (Wartell et al., Nucl. Acids Res. 18 : 2699-2706, 1990 ; Sheffield et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86 : 232-236, 1989) により、同定することができる。

【0141】

ポリメラーゼ媒介のプライマー伸張法を使っても多型 (群) を同定することができる。そのような方法は、特許や科学文献で説明されており、それには「Genetic Bit Analysis」法 (W092/15712)、及びリガーゼ/ポリメラーゼ媒介遺伝的ビット分析 (U.S. Patent 5,679,524。関連方法がW091/02087、W090/09455、W095/17676、U.S. Patent Nos. 5,302,509、及び5,945,283に開示されている) がある。

【0142】

多型を含む伸張プライマーは、U.S. Patent No. 5,605,798 に説明されている質量分析法により、検出することができる。また別のプライマー伸張法は、対立遺伝子特異PCR (Ruano et al., Nucl. Acids Res. 17 : 8392, 1989 ; Ruano et al., Nucl. Acids Res. 19, 6877-6882, 1991 ; W093/22456 ; Turki et al., J. Clin. Invest. 95 : 1635-1641, 1995) である。更に、複数の多型部位を、複数の核酸領域を対立遺伝子特異プライマーのセットを用いて増幅することにより検査することができる。それはWallace et al. (W089/10414) の報告にある。

【0143】

本発明のまた別の局面では、参照塩基配列に存在すると判明しているハプロタイプペアに関する情報を用いて、個体のIGERA ハプロタイプペアがそのIGERA 遺

伝子型から予測されている。最も広範囲にわたる実施例では、ハプロタイプ予測法は、PS1-22から選択された二つまたはそれ以上の多型部位におけるその個体に対するIGERA 遺伝子型を、同定すること、更に、その遺伝子型と矛盾しない全ての可能なハプロタイプペアを列挙すること、更にまた、参照個体群で同定されたIGERA ハプロタイプペアデータにアクセスすること、更にまた、データと矛盾しないハプロタイプペアを個体に割り当てることから成る。一つの実施例においては、参照ハプロタイプペアは、表4に示されるIGERA ハプロタイプペアを含む。

【0144】

一般的に、参照個体群は、世界の主たる土俗学的 (ethnogeographic) 集団を代表する、無作為に選択された個体群から構成される必要がある。この方法で使用されるに好ましい参照個体群は、約同等の数の白人、アフリカ系アメリカ人、アジアおよびヒスパニック・ラテンアメリカ系の個体群集団から成り、それぞれのグループの最低数は必ず検分したいハプロタイプがどの程度稀有であるかに基づいて決められた。例えば、参照個体群での発生頻度が $p\%$ でその個体群に存在するハプロタイプを見逃さない $q\%$ の見込みを確保したいとすると、試料採集される必要がある個体数は $2n = \log(1-q)/\log(1-p)$ の式で求められる (式中 p 及び q は分数で表わされる)。

【0145】

好ましい参照個体群は、その頻度が99%の確率で少なくとも10%であるいかなるハプロタイプの検出も可能であり、上記に列挙された4つの個体群のそれぞれから約20の無関係の個体を含むものである。特に好ましい参照個体群は、これら4つの個体群グループの一つあるいはそれ以上を代表する三世代家族で、ハプロタイプ決定手順の品質を調べる対照群としての役に立つ。

【0146】

好ましい実施例では、それぞれの土俗学的集団のハプロタイプ頻度データが、ハーディー・ワインベルグ平衡 (Hardy-Weinberg equilibrium) と矛盾しないかどうか決定するために考察されている。ハーディー・ワインベルグ平衡 (D.L. Hartl et al., Principles of Population Genomics, Sinauer Associates (Sunderland, MA), 3rd Ed., 1997) は、ハプロタイプペアを発見する頻度 H_1 / H_2

は、 $p_{H-W}(H_1/H_2) = 2p(H_1)p(H_2)$ if $H_1 \neq H_2$ 及び $p_{H-W}(H_1/H_2) = p(H_1)p(H_2)$ if $H_1 = H_2$ に等しいと仮定する。

【0147】

観察されたハプロタイプと期待されたハプロタイプ間の統計学的に有意な差異は、個体群内の著しい近親交配、遺伝子に対する強力な自然淘汰圧力、試料の偏り、及び/または遺伝子型化仮定における誤差を含む、一つあるいはそれ以上の因子によるものである。ハーディー・ワインベルグ平衡からの大きな偏差がある土俗学的集団で観測された場合は、その集団の個体数を増やして、その偏差が試料の偏りに依るものか否かを考察する。

【0148】

試料の大きさを変えても観察されたハプロタイプペア頻度と期待されたハプロタイプペア頻度間の差異が減少しない場合は、例えば、CLASPER System™テクノロジー (U.S. Patent No. 5,866,404)、SMD、あるいは対立遺伝子特異性広範囲PCR (Michalotos-Beloin et al., Nucleic Acids Res. 24 : 4841-4843, 1996) のような直接ハプロタイプ化法を用いて、その個体をハプロタイプ化することを考慮する。

【0149】

IGERA ハプロタイプペアを予測する、この方法の一つの実施例では、割り当てに次の分析を含む。第一に、可能なハプロタイプペアがそれぞれ、参照個体群のハプロタイプペアと比較されている。一般的に、参照個体群のハプロタイプペアの内の一つだけが、可能なハプロタイプペアと一致し、そのペアがその個体に割り当てられる。時に、参照個体ハプロタイプペアのハプロタイプの一つだけが、ある個体に対して可能なハプロタイプペアと一致することがあり、そのような場合には、この既知のハプロタイプ、及び可能なハプロタイプペアからこの既知のハプロタイプを減じることにより得られる新しいハプロタイプを含むハプロタイプペアが、この個体に割り当てられる。

【0150】

稀な例では、参照個体群のハプロタイプのどちらも、可能なハプロタイプペアと一致しない、あるいはまた、複数の参照ハプロタイプペアが、可能なハプロタ

イブペアと一致することがある。そのような場合、この個体を、好ましくは、例えば、CLASPER System™テクノロジー (U.S. Patent No. 5,866,404)、SMD、あるいは対立遺伝子特異性長期PCR (Michalotos-Beloin et al., Nucleic Acids Res. 24 : 4841-4843, 1996) のような直接分子ハプロタイプ化法を用いて、ハプロタイプ化するのが良い。

【0151】

本発明はまた、ある個体群におけるIGERA 遺伝子型あるいはIGERA ハプロタイプの頻度を決定する方法を呈している。この方法は、この個体群の各構成員に存在するIGERA 遺伝子に対する遺伝子型あるいはハプロタイプペアを決定すること (これらの遺伝子型あるいはハプロタイプは、そのIGERA 遺伝子内のPS1-22多型部位の一つまたはそれ以上の部位で検出されるヌクレオチドペアあるいはヌクレオチドから成る)、その個体群においてある特殊な遺伝子型あるいはハプロタイプが見出される頻度を計算することの、二つから成る。この個体群は、参照個体群、家族個体群、同性個体群、個体群グループ、形質個体群 (例: 医学的状況あるいは治療に対する応答のような、関心の持たれている形質を呈する固体の集団) である。

【0152】

本発明のまた別の局面では、参照個体群に見出されるIGERA 遺伝子型及び/またはハプロタイプに対する頻度データが、ある形質とIGERA 遺伝子型及び/またはIGERA ハプロタイプ間の関係を同定する方法に使われている。この形質は、罹病性あるいは治療への応答などを含む、任意の検出可能な表現型であるが、それらに限定されない。この方法は、参照個体群内、及びその形質を呈している個体群内の関心の持たれている遺伝子型 (群) あるいはハプロタイプ (群) の頻度に関するデータ取得に関わるものである。

【0153】

参照個体群および形質個体群の一つあるいはその双方に対する頻度データは、上記の方法の一つを使って、それらの個体群の個々の個体を遺伝子型化あるいはハプロタイプ化することにより、取得できる。その形質個体群のハプロタイプは、直接的に決定されるか、あるいはまた、上記の、ハプロタイプに対する予測的

遺伝子型アプローチにより決定される。また別の実施例では、参照個体群および/または形質個体群に対する頻度データは、以前に取得された頻度データにアクセスすることにより、得られる。データは、書面あるいは電子形態で保存されている。例えば、頻度データはコンピュータでアクセス可能なデータベースにあるかもしれない。

【0154】

頻度データが取得されると、参照個体群および/または形質個体群において、関心の持たれている遺伝子型(群)あるいはハプロタイプ(群)の頻度が比較される。好ましい実施例では、対象個体群で観察された全ての遺伝子型(群)あるいはハプロタイプ(群)の頻度が、比較されている。IGERA 遺伝子に対するある特定の遺伝子型あるいはハプロタイプの頻度が、参照個体群においてより、形質個体群において、統計学的に有意に高ければ、その形質はそのIGERA 遺伝子型あるいはハプロタイプに関連性があると予測される。好ましくは、形質および参照個体群において比較されているIGERA 遺伝子型あるいはハプロタイプは、真遺伝子型及び真ハプロタイプ、あるいはこれらの遺伝子型あるいはハプロタイプに由来する副遺伝子型及び副ハプロタイプ(それぞれ表4及び表5に示されている)から選択される。

【0155】

この方法の好ましい実施例では、関心の持たれている形質は、例えば、IGERA を標的とする薬剤に対する応答あるいは医学的状態に対する治療に対する応答のような、ある治療に対して患者によって呈された臨床応答である。本件で使われているように、「医学的状態」は、治療されることが望ましい、一つまたはそれ以上の身体的及び/または心理的症候として発現されるいかなる状態あるいは疾病を含むがそれらに限定されるものではなく、更に以前におよび新規に同定された疾病及びその他の障害をも含む。本件で使われているように、「臨床応答」という用語は、次に示す項目の内の任意のものあるいは全てを意味する：応答の量的測定、無応答、及び不利な応答(すなわち、副作用)。

【0156】

治療に対する臨床応答とIGERA 遺伝子型あるいはハプロタイプ間の相関関係を

推論するためには、治療を受けた固体の集団（以後「臨床個体群」と呼ぶ）により呈された臨床応答に関するデータを取得することが必要である。この臨床データは、既に行われた臨床試験の結果を分析することによって取得することができ、及び/または、この臨床データは、一つまたはそれ以上の新規の臨床試験をデザインし行うことによっても取得することができる。本件で使われているように、「臨床試験」という用語は、ある特定の治療に対する応答に関する臨床データを収集すべくデザインされた任意の研究を意味し、第一相、第二相及び第三相の臨床試験を含むがそれらに限定されない。患者個体群の定義、被験者の登録には、標準的な方法が用いられている。

【0157】

好ましくは、臨床個体群に含まれている個体が、関心の持たれている医学的状態の有無について既に等級づけされているのが良い。これは、患者によって呈されている症状が一つ以上の隠された状況によって引き起こされている可能性がある場合、及び隠された状況群の治療が同一でない場合に、重要である。このことの例は、例えば、喘息かあるいは呼吸器系の感染かに依る呼吸困難を患者が呈している場合である。

【0158】

双方のセットが喘息用の薬物で治療されたとすれば、実際は喘息症状が無かった明らかに無応答者の擬似集団が発生することになる。これらの人達は、ハプロタイプと治療結果間の相関関係検出能力に影響を及ぼすことになる。患者になる可能性のある個体群に対する等級づけには、標準健康診断あるいは一、二回の臨床検査を要する。または、患者に対する等級づけは、ハプロタイプペアと疾病罹患率あるいは強度間に強い相関関係がある状況に対しては、ハプロタイプを使用しても良い。

【0159】

関心の持たれている治療方法が臨床試験個体群の各々の個体に投与され、その治療に対する各々の応答が、前もって定められた一つまたはそれ以上の基準を用いて測定される。多くの場合、臨床試験個体群があらゆる応答を呈すること、更に研究者があらゆる応答から成る応答者集団の数（例：低、中、高）を決めるこ

とが熟慮される。更に、臨床試験個体群の各々の個体に対するIGERA 遺伝子は、遺伝子型化及び/またはハプロタイプ化されており、この処理は治療の前あるいは後に行われる。

【0160】

臨床及び多型データの双方を取得した後、個体応答とIGERA 遺伝子型あるいはハプロタイプ内容間の相関が作製される。相関関係は、いくつかの方法で作製できる。一つの方法では、個体をIGERA 遺伝子型あるいはハプロタイプ（ハプロタイプペア）によりグループ化し（多型集団とも呼ばれている）、その後各々の多型集団の構成員によって呈された臨床応答の平均及び標準偏差値を算出する。

【0161】

これらの結果は、その後分析され、多型集団間の臨床応答における観察された分散が統計学的に有意であるか否かが判断される。使用できる統計学的分析法は、以下に説明されている：L.D. Fisher and G. vanBelle, "Biostatistics : A Methodology for the Health Sciences", Wiley-Interscience (New York) 1993。この分析法には、IGERA 遺伝子におけるどの多型部位が表現型における差異に最も有意な影響を与えているかに関する回帰計算が含まれている。本発明において有用な一つの回帰モデルは、2000年6月26日に申請された「ハプロタイプデータの入手及び使用方法 (Methods for Obtaining and Using Haplotype Data)」という名称のPCT 特許申請に説明されている。

【0162】

2000年6月26日に申請された「ハプロタイプデータの入手及び使用方法 (Methods for Obtaining and Using Haplotype Data)」という名称のPCT 特許申請に説明されているように、相関関係は、分散分析 (ANOVA) を用いて分析することもでき、臨床データにおけるどの程度の分散が、IGERA 遺伝子内の異なった多型部位のサブセットによって説明されるかを決定する。ANOVA を使って、応答変数が一つまたはそれ以上の特性（すなわち測定可能な変数）により引き起こされているか、あるいはそれらと相関関係があるか否かという仮説を検定する (Fisher and vanBelle、上記、10章)。

【0163】

上に説明された分析から、当業者は、臨床応答をIGERA 遺伝子型あるいはハプロタイプ内容の関数として予測する数学的モデルを、容易に作製することができるであろう。好ましくは、このようなモデルは、そのモデルを検定するためにデザインされた一つあるいはそれ以上のフォローアップ臨床試験において確証するのが良い。

【0164】

臨床応答とIGERA 遺伝子の遺伝子型あるいはハプロタイプ（またはハプロタイプペア）間の関係の同定が、診断方法をデザインする上での基盤となる。これにより、治療に応答するあるいは応答しない個体の識別ができ、または低レベルで応答するので、高度の治療すなわち薬剤を多量に投与する必要のある個体を識別することができる。診断方法には、いくつかの形態がある：直接DNA 検査（すなわち、IGERA 遺伝子の多型部位の一つあるいはそれ以上を遺伝子型化あるいはハプロタイプ化すること）、血清学的検査、身体検査測定。唯一の要件は、診断検査結果と、隠れたIGERA 遺伝子の遺伝子型あるいはハプロタイプ（同様に、これらはその臨床応答と相関関係にある）間に良好な相関関係があることである。好ましい実施例では、この診断方法は、上に説明した予測的ハプロタイプ法を用いている。

【0165】

本発明の方法の実施に関わるいかなるあるいは全ての分析的及び数学的操作は、コンピュータで実行可能である。加えて、コンピュータで、表示機器に表示されたビュー（あるいは画面）を作製するプログラムを実行することができ、それによりユーザーはIGERA 遺伝子およびそのゲノム変異体に関する非常に多量の情報を検分、分析する目的でインタラクトすることができる。この情報には、染色体位置、遺伝子構造、遺伝子ファミリー、遺伝子発現データ、多型データ、遺伝子塩基配列データ、及び個体群データ（例：一つあるいはそれ以上の個体群に対する土俗学的起源、臨床応答、遺伝子型、およびハプロタイプに関するデータ）が含まれる。

【0166】

本件で説明されているIGERA 多型データは、リレーショナルデータベースの一

部として保存してもよい(例: オラクルデータベースの一例、あるいはASCII フラットファイルの一セット)。これらの多型データは、コンピュータのハードドライブに保存しても良く、あるいはまた、CD ROMあるいは一つまたはそれ以上のコンピュータでアクセス可能なその他の記憶装置に保存されても良い。例えば、これらのデータは、ネットワークで連結された一つまたはそれ以上のデータベースに保存してもよい。

【0167】

本発明の好ましい実施例が、次の例に説明されている。本件の特許請求の範囲内のその他の実施例については、本件に開示されているように本発明の明細書及び実施を考慮すれば、当業者には明白である。本発明の意図するところは、明細書、実施例共に例に過ぎないということで、請求の範囲及び本発明の精神は、実施例に続く特許請求に示されている。

【0168】

実施例

本件の実施例は、本発明を実行する様々な局面を例示する意図で記載されており、本発明の範囲をいかようにも限定するものではない。これらの実施例には、ゲノムDNA の単離、PCR、及び配列手順を行う上での方法のような、利用された従来の方法に関する詳細な説明は含まれていない。そのような方法は、当業者には、良く知られており、数多くの出版物に説明されている(例: Sambrook, Fritsch, and Maniatis, "Molecular Cloning: A Laboratory Manual", 2nd Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, USA, (1989))。

【0169】

実施例 1 .

この実施例は、多型部位探索を目的としたIGERA 遺伝子多様領域検査について説明している。

標的領域の増幅

次に示すIGERA 遺伝子の標的領域群は、下記に一覧表示されたPCR プライマペアを用いて増幅された。この標的領域群では、塩基配列は5' 末端から3' 末端の方向に呈示され、ヌクレオチド位置は指示GenBank 登録番号に対応する各々の

領域に対して表示されている。

【0170】

登録番号：L14075

断片1

前方プライマー

605-627 AAGAAAAGCGTTGGTAGCTCTGG (配列番号：180)

後方プライマー

1424-1401 の相補配列 CACCCACAGTAAAGGTTCTACCC (配列番号：181)

PCR 産物 820 nt

断片2

前方プライマー

1033-1055 ATGCCTCTCTCACCAGATTCC (配列番号：182)

後方プライマー

1507-1485 の相補配列 CTTCCTCTGCTTTCTAGCTTGG (配列番号：183)

PCR 産物 475 nt

【0171】

断片3

前方プライマー

1047-1096 GGGATAGGGAGTGGAGTAAGTGG (配列番号：184)

後方プライマー

1617-1592 の相補配列 TCCTCTACCCTCATTACCTTGGTAGG (配列番号：185)

PCR 産物 544 nt

断片4

前方プライマー

1605-1628 TGAGGGTAGAGGAGAGAAAGAAGC (配列番号：186)

後方プライマー

1995-1970 の相補配列 GAGGAGAGAATGACTTGAGAGAATGC (配列番号：187)

PCR 産物 391 nt

【0172】

断片 5

前方プライマー

2637-2658 CCTGTCTTTCTCCCTGTGTTGG (配列番号: 188)

後方プライマー

3205-3183 の相補配列 CACTCTGGTGCCTAACCCCTTGG (配列番号: 189)

PCR 産物 569 nt

断片 6

前方プライマー

2839-2862 TCTTCTTGAAGTCCCTCAGAAACC (配列番号: 190)

後方プライマー

3353-3331 の相補配列 AGATGGGGTTTCACCATGTTAGC (配列番号: 191)

PCR 産物 515 nt

【 0 1 7 3 】

断片 7

前方プライマー

4645-4668 TGTTCCATGTATGGACTCATCAGG (配列番号: 192)

後方プライマー

5218-5196 の相補配列 CTCTCTTCCTTCCCCTGCTATGG (配列番号: 193)

PCR 産物 574 nt

断片 8

前方プライマー

4813-4834 GTTTCTGACACATGCTCTATGC (配列番号: 194)

後方プライマー

5463-5443 の相補配列 TCTGTTATGCTTGGGTAGTGC (配列番号: 195)

PCR 産物 651 nt

【 0 1 7 4 】

断片 9

前方プライマー

6486-6507 GCACCAACAGAGCAACTCAACC (配列番号: 196)

後方プライマー

7212-7187 の相補配列 CCAATCTAGAACTTCATGGTCCTTGC (配列番号 : 197)

PCR 産物 727 nt

断片10

前方プライマー

6709-6730 TGTTGGTGGTGATTCTGTTTGC (配列番号 : 198)

後方プライマー

7359-7336 の相補配列 TCTTGAGACTGTCCCTGATTCTGC (配列番号 : 199)

PCR 産物 651 nt

【0175】

これらのプライマーペアは、索引データ貯蔵の各々の構成要素に対する不死化細胞ラインから単離されたゲノムDNAを含むポリメラーゼ連鎖反応法にて使われた。このポリメラーゼ連鎖反応法は、以下の条件で実施された：

【表3】

反応量	=20 μ l
10 x アドバンテージ 2 ポリメラーゼ反応緩衝液 (クローンテック)	= 2 μ l
ヒトゲノム DNA 100ng	= 1 μ l
10mM dNTP	=0.4 μ l
アドバンテージ 2 ポリメラーゼ酵素混合 (クローンテック)	=0.2 μ l
前方プライマー (10 μ M)	=0.4 μ l
後方プライマー (10 μ M)	=0.4 μ l
水	=15.6 μ l

増幅プロフィール :

94°C - 2分 1 サイクル

94°C - 30秒	} 10 サイクル
70°C - 45秒	
72°C - 1分	

94°C - 30秒	} 35 サイクル
64°C - 45秒	
72°C - 1分	

【 0 1 7 6 】

PCR 産物の配列決定

PCR 産物は、Whitehead Genome Center により開発されたプロトコルを用いて、固相可逆固定化により清浄された。このプロトコルの詳細は、以下のウェブサイトにある :

http://www.genome.wi.mit.edu/sequencing/protocols/pure/SPRI_pcr.html。

簡潔に述べると、5 μ l のカルボキシル被膜磁気ビーズ (10mg / ml) 及び60 μ l のHYB BUFFER (2.5M NaCl / 20% PEG 8000) が、各々のPCR 反応混合物 (20 μ l) に添加された。

【 0 1 7 7 】

この反応混合物は、良く混合され、室温 (RT) で10分間インキュベートされた。マイクロタイタープレートは磁石上に2分間置かれ、ビーズは 150 μ l の70% EtOH で二度洗浄された。ビーズは、2分間空気乾燥され、DNA は25 μ l の蒸留

水で溶出され、室温（RT）で5分間インキュベートされた。ビーズは磁気的に分離され、上澄み液が検査および配列決定のために取り除かれた。

精製されたPCR産物は、前記のPCRプライマーセットまたは5'末端から3'末端へ表された下記のプライマーセットを用いて、双方の方向に配列決定された。

【0178】

登録番号：L14075

断片1

前方プライマー

756-775 AGTTGGCACCCCAAACAAG（配列番号：200）

後方プライマー

1299-1280 の相補配列 TGGCAGGAGCCATCTTCTTC（配列番号：201）

断片2

前方プライマー

1068-1087 GGAGGTGGGATAGGGAGTGG（配列番号：202）

後方プライマー

1471-1452 の相補配列 TCCCTGGGAAATGCCCAATA（配列番号：203）

【0179】

断片3

前方プライマー

1114-1133 CAGTTGGGCACCATCCTGAA（配列番号：204）

後方プライマー

1581-1561 の相補配列 TCTGGAAGATGCCAGAGCAAA（配列番号：205）

断片4

前方プライマー

1652-1673 CCTGAAAAGACGGTTGGTCCTT（配列番号：206）

後方プライマー

1942-1923 の相補配列 AGGCAAGGTGGAGAGGGAAA（配列番号：207）

【0180】

断片 5

前方プライマー

2661-2680 GTTCCCTGGGGCACCAATAC (配列番号: 208)

後方プライマー

3160-3140 の相補配列 TCAGATGAGCCATCCCTCACA (配列番号: 209)

断片 6

前方プライマー

2871-2892 CCTTGAACCCTCCATGGAATAG (配列番号: 210)

後方プライマー

3246-3227 の相補配列 CAGCCAATGCAGGGGTCTTA (配列番号: 211)

【0181】

断片 7

前方プライマー

4685-4704 TGTGGCCCCAGACTGACTTT (配列番号: 212)

後方プライマー

5152-5133 の相補配列 TGTTGAGGGGCTCAGACTCA (配列番号: 213)

断片 8

前方プライマー

4930-4950 TCTGCTGAGGTGGTGATGGAG (配列番号: 214)

後方プライマー

5311-5292 の相補配列 CACCCAGGTCTCCTCATTGC (配列番号: 215)

【0182】

断片 9

前方プライマー

6541-6559 GGATGCCACATCACGCTAA (配列番号: 216)

後方プライマー

7013-6992 の相補配列 CATGCCACTTAACCAGTTTCAC (配列番号: 217)

Fragment 10

前方プライマー

6791-6812 GAGAACCAGGAAAGGCTTCAGA (配列番号：218)

後方プライマー

7284-7265 の相補配列 TCCACCTCACTGGCATCCTC (配列番号：219)

【0183】

多型部位の確認を目的とした塩基配列分析

塩基配列が、多型の存在の確認を目的として、ポリフレッドプログラム (Poly hred program) (Nickerson et al., Nucleic Acids Res. 14 : 2745-2751, 1997) を用いて、分析された。多型の存在は、双方の鎖上で確認された。多型および IGERA 遺伝子内のその位置は、下記の第3表に一覧表示されている。

【0184】

【表4】

第3表 IGERA 遺伝子において同定された多型部位

多型 部位番号	ヌクレオチド位置	参照 対立遺伝子	変異体 対立遺伝子
PS1	872 (Acc#L14075)	T	G
PS2	943 (Acc#L14075)	T	C
PS3	1192 (Acc#L14075)	T	C
PS4	1199 (Acc#L14075)	A	T
PS5	1363 (Acc#L14075)	C	A
PS6	1754 (Acc#L14075)	T	C
PS7	1760 (Acc#L14075)	C	A
PS8	1896 (Acc#L14075)	C	T
PS9	2708 (Acc#L14075)	A	G
PS10	3024 (Acc#L14075)	A	G
PS11	3075 (Acc#L14075)	G	A
PS12	3220 (Acc#L14075)	T	C
PS13	3286 (Acc#L14075)	G	A
PS14	3330 (Acc#L14075)	G	A
PS15	4838 (Acc#L14075)	G	A
PS16	5108 (Acc#L14075)	C	T
PS17	5285 (Acc#L14075)	C	T
PS18	5363 (Acc#L14075)	T	C
PS19	6821 (Acc#L14075)	C	A
PS20	6911 (Acc#L14075)	T	C
PS21	6936 (Acc#L14075)	A	G
PS22	7000 (Acc#L14075)	G	A

【0185】

実施例2.

この実施例は、ヒトの遺伝子型及びハプロタイプを検出することを目的として、索引データ貯蔵で同定されたIGERA 多型の分析を説明している。この参照個体群で観察されたこれらの多型を含む異なった遺伝子型が、下記の第4表に表示されている。この表のハプロタイプペアは、下記に説明されたハプロタイプ誘導プロトコルを使って、その個体のために決定されたハプロタイプの組み合わせを表

わしている。第3表では、同型接合位置が一つのヌクレオチドにより、また異型接合位置が二つのヌクレオチドにより、表示されている。第4表の所与の遺伝子型において欠損しているヌクレオチドは、連鎖不平衡及び/またはメンデル遺伝に基づいて、一般的に推測することが可能である。

【0186】

【表5】

第4表 IGERA 遺伝子において観察される遺伝子型及びハプロタイプベア

遺伝子型 番号	多型部位																						ハプロ タイプベア
	PS1	PS2	PS3	PS4	PS5	PS6	PS7	PS8	PS9	PS10	PS11	PS12	PS13	PS14	PS15	PS16	PS17	PS18	PS19	PS20	PS21	PS22	
1	T	C	T	A	C	T	C	C	A	A	G	T	G	G	G	C	C	T	C	T	A	G	1
2	T	C/T	T	A	C	T	C	C	A	A	G	T	G	G	G	C	T/C	T	C	T	A	G	1
3	T	C/T	T	A	C	T	C	C	A	A	G	T	G	G	G	C	T/C	T	C	T	A	G/A	2
4	T	C	T/C	A	C	T	C	C	A	A	G	T	G	G	G	C	T	C	T	A	A	G	3
5	T/G	C	T	A	C	T	C	C	A	A	G	T	G	G	G	C	T	T	C	T	A	G	4
6	T	C	T	A	C	T	C	C/T	A	A/G	G	T	G	G	G/A	C	T	T/C	C	T	A/G	G	5
7	T/G	C	T	A	C	T/C	C	C	A	A	G	T/C	G	G	G	C	T	T	C	T/C	A	G	7
8	T	C	T	A	C	T	C	C	A	A	G	T	G	G	-	-	T	T	C/A	T	A	G	11
9	T	C	T	A	C	T	C/A	C/T	A	A	G	T	G	G	G	C	T	T	C	T	A	G	12
10	T	C	T	A	C	T	C	C	A	A	G	T	G	G/A	G	C	T	T	C/A	T	A	G	15
11	T	C	T	A	C	T	C	C/T	A	A/G	G	T	G	G	G	C	T	T/C	C	T	A	G	16
12	T	C/T	T	A	C/A	T	C	C/T	A	A	G	T	G	G	G/A	C	T/C	T/C	C	T	A	G	17
13	T	T	T	A	C	T	C	C	A	A	G	T	G	G	G	C	T	T	C	T	A	G	20
14	T	T	T	A	C	T	C	C	A	A	G	T	G	G	G	C	C	T	C	T	A	G	2
15	T	C/T	T/C	A	C	T	C	C	A	A	G	T	G	G	G	C	T/C	T	C	T	A	G/A	2
16	T	C/T	T	A	C	T	C	C/T	A	A	G	T	G	G	G/A	C	T/C	T/C	C	T	A	G	3
17	T	T	T	A	C	T	C	C	A/G	A	G	T	G	G	G	C	C	T	-	T	A	G	4
18	T	C/T	T	A	C	T	C	C/T	A	A	G/A	T	G/A	G	G	C	T/C	T	C	T	A	G	6
19	T	C/T	T	A	C	T	C	C/T	-	A	G	T	G	G	G/A	C	T/C	T/C	C	T	A/G	G	9
20	T	T	T	A	C	T	C	C/T	A	A	G	T	G	G	G	C	T/C	T	C	T	A	G/A	10
21	T	T	T	A	C	T	C	C	A	A	G	T	G	G	G	C	C	T	C	T	A	A	13
22	T	C/T	T/C	A	C	T	C	C	A	A	G	T	G	G	G	C	T/C	T	C	T	A	G/A	14
																							3
																							4

【0187】

【表6】

第4表 IGERA 遺伝子において観察される遺伝子型及びハプロタイプペア (続き)

遺伝子型 番号	多型部位															ハプロタイプペア							
	PS1	PS2	PS3	PS4	PS5	PS6	PS7	PS8	PS9	PS10	PS11	PS12	PS13	PS14	PS15	PS16	PS17	PS18	PS19	PS20	PS21	PS22	
23	T/G	C/T	T	A	C	T	C	C	A	A	G	-	-	-	G	C	T/C	T	C	T	A	G/A	3 5
24	T	C/T	T	A	C	T	C	-	A	A	G	T	G	G	G/A	C	T/C	T/C	C	T	A	G/A	3 6
25	T	C/T	T	A	C	T	C	C/T	A	A	G	T	G	G	G/A	C	T/C	T/C	C	T	A	G/A	3 6
26	T	T	T	A	C	T	C	C	A/G	A	G	-	-	-	G	C	C	T	C	T	A	G/A	3 9
27	T	C/T	T	A	C	T	C	C	A	A	G	T	G	G	G	C	T/C	T	C/A	T	A	G/A	3 12
28	T	C/T	T	A	C	T	C/A	C/T	A	A	G	T	G	G	G	C	T/C	T	C	T	A	G/A	3 15
29	T	T	T	A	C	T	C	C	A	A	G	T	G	G	G	C/T	T	C	T	C	A	A	3 19
30	T	C	C	A	C	T	C	C	A	A	G	T	G	G	G	C	T	T	C	T	A	G	4 4
31	T/G	C	T/C	A	C	T	C	C	A	A	G	T	G	G	G	C	T	T	C	T	A	G	4 5
32	T	C	T/C	A	C	T	C	C/T	A	A	G	T	G	G	G/A	C	T	T/C	C	T	A	G	4 6
33	T	C	T/C	A	C	T	C	C/T	A	A	G	T	G	G	G	C	T	T	C	T	A	G	4 8
34	T/G	C	T/C	A	C	T/C	C	C	A	A	G	T/C	G	G	G	C	T	T	C	T/C	A	G	4 11
35	T	C	T/C	A	C	T	C	C/T	A	A	G	T	G	G	G/A	C	-	-	C	T	A/G	G	4 13
36	G	C	T	A	C	T	C	C	A	A	G	T	G	G	G	C	T	T	C	T	A	G	5 5
37	G	C	T	A	C	T/C	C	C	A	A	G	T/C	G	G	G	C	T	T	C	T/C	A	G	5 11
38	T/G	C	T	A	C	T	C/A	C/T	A	A	G	T	G	G	G	C	T	T	C	T	A	G	5 15
39	T	C	T	A	C	T	C	-	A	A	G	T	G	G	A	C	T	C	C	T	A	G	6 6
40	T	C	T	A	C	T	C	T	A	A/G	G	T	G	G	A	C	T	C	C	T	A/G	G	6 7
41	T	C	T	A	C	T	C	T	A	A	G	T	G	G	G/A	C	T	T/C	C	T	A	G	6 8
42	T	C	T	A	C	T	C	T	A	A	G/A	T	G/A	G	G/A	C	T	T/C	C	T	A	G	6 10
43	T	C	T	A/T	C	T	C	T	A	A	G	T	G	G	A	C	T	C	C	T	A	G	6 18
44	T	C	T	A	C	T	C	T	A	A	G	T	G	G	A	C	T	C	C	T	G	G	7 7
45	T	C	T	A	C	T	C	T	A	A/G	G/A	T	G/A	G	G/A	C	T	T/C	C	T	A/G	G	7 10

【0188】

2000年4月19日に申請された、「多型収集からハプロタイプを決定する方法及びシステム (A Method and System for Determining Haplotypes from a Collec

tion of Polymorphisms)」と題するアメリカ合衆国仮特許出願に説明されているように、表4に表示されているハプロタイプは、相の非特定の遺伝子型から、クラークのアルゴリズム (Clark, A.G. (1990) Mol Bio Evol 7, 111-122) を用いて、推定されたものである。

【0189】

この方法においては、ハプロタイプは、全ての部位において同型接合であり可変部位のわずか一箇所においてのみ異型接合である個体から、直接割り当てられている。このハプロタイプのリストは、残りの(異型接合を乗ずる)個体群における相の非特定の遺伝子型群をデコンボルトするのに使われる。

このプロトコルに従うことにより、本件で検分された索引データ貯蔵が、転じて、一般個体群が、下記の第5表に表示されたIGERA ハプロタイプを20含んでいることが確認された。

【0190】

【表7】

第5表 IGERA 遺伝子において観察されるハプロタイプ
多型部位

ハプロタイプ 番号	PS1	PS2	PS3	PS4	PS5	PS6	PS7	PS8	PS9	PS10	PS11	PS12	PS13	PS14	PS15	PS16	PS17	PS18	PS19	PS20	PS21	PS22
1	T	C	T	A	C	T	C	C	A	A	G	T	G	G	G	C	T	T	C	T	A	G
2	T	T	T	A	C	T	C	C	A	A	G	T	G	G	G	C	C	T	C	T	A	G
3	T	T	T	A	C	T	C	C	A	A	G	T	G	G	G	C	C	T	C	T	A	A
4	T	C	C	A	C	T	C	C	A	A	G	T	G	G	G	C	T	T	C	T	A	G
5	G	C	T	A	C	T	C	C	A	A	G	T	G	G	G	C	T	T	C	T	A	G
6	T	C	T	A	C	T	C	T	A	A	G	T	G	G	A	C	T	C	C	T	A	G
7	T	C	T	A	C	T	C	T	A	A	G	T	G	G	A	C	T	C	C	T	A	G
8	T	C	T	A	C	T	C	T	A	A	G	T	G	G	A	C	T	C	C	T	A	G
9	T	T	T	A	C	T	C	C	A	A	G	T	G	G	G	C	T	T	C	T	A	G
10	T	C	T	A	C	T	C	T	A	A	G	T	G	G	G	C	T	T	C	T	A	G
11	G	C	T	A	C	C	C	C	A	A	G	T	G	G	G	C	T	T	C	C	A	G
12	T	C	T	A	C	T	C	C	A	A	G	T	G	G	G	C	T	T	A	T	A	G
13	T	C	T	A	C	T	C	T	A	A	G	T	G	G	A	C	T	C	C	T	A	G
14	T	C	T	A	C	T	C	T	A	A	G	T	G	G	G	C	T	C	C	T	A	G
15	T	C	T	A	C	T	A	T	A	A	G	T	G	G	G	C	T	T	C	T	A	G
16	T	C	T	A	C	T	C	C	A	A	G	T	G	G	G	C	T	T	A	T	A	G
17	T	C	T	A	C	T	C	T	A	A	G	T	G	G	G	C	T	T	C	T	A	G
18	T	C	T	A	C	T	C	T	A	A	G	T	G	G	A	C	T	T	C	T	A	G
19	T	T	T	A	C	T	C	C	A	A	G	T	G	G	G	T	C	T	C	T	A	G
20	T	T	T	A	A	T	C	T	A	A	G	T	G	G	A	C	C	C	C	T	A	G

【0191】

上記から考えて、将来的に、本発明の利点はいくつか達成され、その他の有利な結果が到達されるであろう。

上記の方法および構成体には、本発明の範囲から逸脱することなく、多様な変更を加えることが可能であるので、本件の意図するところは、上記の説明に含まれている及び付随する図に示されている全ての事柄は、説明として解釈されるべきであり、限定的な意味合いは無いということである。

【0192】

特許及び特許出願を含む、この明細書に引用されている全ての参考文献は、参照されることにより、そのまま組み入れられている。本件で参考文献が論議されているのは、その著者による主張を要約するだけの意図であり、いかなる参考文献も従来技術に貢献をしていることを認めるものではない。出願人が、引用参考文献の精度及び妥当性を問題にする権利を所有する。

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> Genaissance Pharmaceuticals
 Denton, R. Rex
 Nandabalan, Krishnan
 Kliem, Stephanie
 Chew, Anne
 Duda, Amy
 Lanz, Elizabeth

<120> Drug Target Isogenes: Polymorphisms in the
 Immunoglobulin E Receptor I Alpha Subunit Gene

<130> MWH-0007PCT IGERA/FCERIA

<140> TBA

<141> 2000-08-02

<150> 60/147,860

<151> 1999-08-09

<160> 219

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 7146

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 1
 gatcttcatg tggaatgact ggtttcattc aatagactta attcagcagt ctgtggggaa 60
 gagcaaggta tgatagaatg gttcctcaag tgcttcagat gtgaagtggg tttaaatata 120
 ctgtccctgt cttcttcaga gttttggtta agataaaata ggacactcat ttaaagcaa 180
 tctttgcaaa tgacaagcca ctatagacat taatagagtt ttcatttoca gtattatcat 240
 taatatcaga tcctggaaga aggttgagcc ttgacctaga gcaaaaaaac agaagaatta 300
 gtaaaggaaat cctggagaaa gcccttctgt tgtattttaa ggagaaaggg agatcatggt 360
 gggaaattat aatattaaaa gtaaacaaaa gctaggaagt aaaataaaat aaattatattg 420
 gcctagatcc ccataagtaa tggtttaact tctgccttcc tgtgttctga gccagattag 480
 ggcacagtag agaaaagagga gtctctgaaa atggttccaa tttcgtctgg cagacagcgg 540
 atcatcagtg aatcagatga aaatttgggg atttatgcac taactgatca gcaggaaatt 600
 aaacaagaaa agcgttggtg gctctgggtg atcccaaaag aatttggcag ttgctagcca 660
 tgctcctgaa tatgtataaa cagtacatca tatgactaag agtttgaact aggggttaga 720
 ttttatgtgt ttgaacccca aattagttat ttaatagttg gcaccccaaa acaagttact 780
 taacctcact aagattcagt tttcctggtt ataaaatgta gatagtgata gtatgtactt 840
 tataggatta ttgtgaaaaa taaatgaaat atcagattta tttaggataa caacctggcat 900
 atgtttggta ttcagttaatt agttgctgct gttttattct gctctccctt gcatcccaact 960
 tttctaagtt gtaaacataa tagttgtaca cagattgaca gattaagaaa ggotttgtgat 1020

tgtgctagac ctatgcctct ctctcaccag attccaggty tatatgtgga ggtgggatag 1080
 ggagtggagt aagtgggtaa atattaaatt gccagttgg gcaccatcct gaatattatc 1140
 tctaaagaaa gaagcaaaac caggcacagc tgatgggta accagatag atacagaaaa 1200
 catttccttc tgccttttgg ttttaagcct atatttgaag ccttagatct ctccagcaca 1260
 gtaagcacca ggagtcocat aagaagatgg ctccctgcat ggaatccct actctactgt 1320
 gtgtagcctt actgttcttc ggttaagtaga gattcaatta cccctcccag ggaggcccaa 1380
 atgaatttgg ggagcagctg ggttaggaac ctctactgtg ggtggtgact ttttctagga 1440
 catgtgcaaa ctattgggca tttcccaggg actctgtagt ggagccaagc tagaaagcag 1500
 aggcaagtgg gctgagcaac acctaggag gaagccagac tgaagccttg gttccttgca 1560
 tttgctctgg catcttccag agtgcaaat tccaccaag gtaatgagg tagaggagag 1620
 aaagaagctc tttcttcccc tgattctcat tctgaaaag acggttggtc cttaaaattc 1680
 catggatgta gatcttatcc ccaaccaccag attctagtcc tctggagata aagaagactg 1740
 ctggacacta atgtatcttc tctggacttt tgcagctcca gatggcgtgt tagcaggtaga 1800
 gtccctctgt ctgttccct tgggtatca acatgtctgg gcattgcttt cctctcacta 1860
 tttctctcgt cccatcactt ctgctttcta atgagcatga atctgttctc tggccagact 1920
 actttccctc tccaccctgc ctgtcttctc ttttttccc tgattcattg cattctctca 1980
 agtcattctc tccctctgtt tagtcaataa ccatgtctgt tgcacataa catgtctcat 2040
 tctctctcct agacactttg gcatgatctc gctcaataat tacattatta ttattattgc 2100
 cattttataa ttgaggatgc tgaacctcag tgattttctg gtggttacat ggctaaggaa 2160
 ctggatttca acgtaagttc ctggatctca agtccagttc tctctgact atatccctc 2220
 tttgttatca ccatgtatct acttctttgg tctctgttca aatttgact acatccctt 2280
 gttccaggaa gccattcaag actgacttcc ttagtgcttc tccactctt ctggaactga 2340
 catatgtttt tcaactctgta tatacttaca attaaagt cataaatatt cagagcttgg 2400
 agaaacctta tatttcatcc agtccagtaa atttatccat ccataattca ctcatcatt 2460
 cacataataa atatttaatg taacaatggt tgaacatggc agacagtgtt tctacctca 2520
 aagagattgc agtctcatt tacagatact gaattgaaat taacagaagt agagtgagtc 2580
 agctcaaatc acatagtga ttggtttctt tgtttttaa tctcctgcat atgtgtcctg 2640
 tctttctccc tgtgttgggc gttccctggg gcaccaatac taatttctcc tccctctaga 2700
 aatcaaaaaca gggctttatc accaacagaa taaggacagg ttgaccactg attgtcagaa 2760
 tattgctctg tttgtacttt taagcctaga cagttttcaa tgacttttt tctctctaca 2820
 tgtcttttca tatttttato tcttgaagt cctcagaaa octaaggctc ccttgaacc 2880
 tccatggaat agaatattta aaggagagaa tgtgactctt acatgtaatg ggaacaattt 2940
 ctttgaagtc agttccacca aatggttcca caatggcagc ctttcagaag agacaaattc 3000
 aagtttgaat attgtgaatg ccaaatttga agacagtgga gaatacaaat gtcagcacca 3060
 acaagttaat gagagtgaac ctgtgtacct ggaagtcttc agtggttaagt tccagggata 3120
 tggaaataca gatctctcat gtgaggatg gctcatctga agatgggaaa aaacaggtta 3180
 ttccaagggt taggacacca gagtgggatt caaggcctct catttttaag acccctgcat 3240
 tggctgggca cagtggctca cgctgtaat cccagcactt tgggagctg aggcagggtg 3300
 atcacagggt caggagatcg agaccatccg gctaacatgg tgaacccca tctctgctaa 3360
 aaaatatata tatataaaat tagccgggcy tagtgggtgg cacctgtagt cccaggctact 3420
 cgggaggctg aggcaggaga atgggtgtaa cccaggaggt ggaggttgca gtgagctgag 3480
 atcacgccac tgcctccag cctgggctac agagcaagac tccgtctcaa aaaataaata 3540
 aataaataaa aaagacccct gcatctcttt tcttctacc ccttcccttt tgattacttg 3600
 tatgccttct ttcaatattc tagtcatctc tcaatattat tccctcacc tattttcctc 3660
 tatcttttct gcctagattc aggtatatat tatgtggtca aacagcatga catatatgtg 3720
 aacatttcaa agagctgtgt atctggaata ggatcaaaag gtttgactta aagttttgct 3780
 ctgcataatc catatggcag gacctgaata ttaggttgta ctcttcgtta tgaacatat 3840
 ctgggtacat ttccttatgt cctctgttgt tacttaagaa cacatatttc atgcttgttt 3900

catttttatac actcctactg ccaacaaata gcatagcatg cttaggcaca tgtggcctaa 3960
ttagcaaatg ttgaataaac aaattaatga ttttgaatag tgaccaatag gtctctttta 4020
tactctatat ttttctcttg agtgaaaaaa aatgtttcaa cctccatag taaattccaa 4080
acacaaacta aagcaatgta gaatagcttc tttattccct ggagtaggtt ctagagaagt 4140
cctaaaggat tggctctaaa ttaattatgc ttattatgct agcgatattt cctttcaaaa 4200
ttctccttta atgaatgctt tttaatTTTT acaaagcat taacctaga atgtgattct 4260
tgtctttcac tgactcatta gtgacaaata tttgttgagt acctaccaac tcttaagtat 4320
tgctaccaac tctaaatac tgtgttgggc attcagaata gaatgtagaa ctagacaggg 4380
tccttgactt cttggagcac agagcagtat gggagaggga cattaaataa agaattacat 4440
aagtaattaa tttaaattat acatgttttg aagaagtttt tttttgacaa ctataattaa 4500
cactagaact gggaggttct tateaggtaa gagaggacaa aatagacact ctccaaagct 4560
aaaattccca agaagactg tttattttcc cctaaactaac tagaactagc aacagaagat 4620
ctgaaaggaa ttctggcttt caagtgttcc atgtatggac tcatcaggga ggtccgagag 4680
gctttgtggc ccagactga cttttcagga ggggaaagga tttatcaata cacaagacag 4740
gctctaagca ttattttgtg ccttttaaaa atccacttta tgagccaaaa agtgagttaa 4800
tgataattca tagttttctga cacatgctct atgctgtggt ctcttttctc tattcattct 4860
ctctctcttc atttattgtt aaataaataa tgtaaatgaat gttcttcaga ctggctgctc 4920
cttcaggcct ctgctgaggt ggtgatggag ggcagccccc tcttctcag gtgccatggt 4980
tggaggaact gggatgtgta caaggtgatc tattataagg atggggaagc tctcaagtac 5040
tggatagaga accacaacat ctocattaca aatgccacag ttgaagacag tggacacctc 5100
tactgtacgg gcaaagtgtg gcagctggac tatgagtctg agcccctcaa cattactgta 5160
ataaaagggt agttggtaaa ggaaggaaa agcatccata gcaggggaag gaagagagaa 5220
cttctgagcc tgagcagttg cagctttag aaggggggca cctgtgatac actggaagc 5280
ctaccagact tgcaatgagg agacctgggt gatagtatat atctcaatct ctgtttcaaa 5340
gccttgactt gttaaatggt gatagtaata cctgcttgca ctatgaaatt tttatgaaga 5400
ttaatgtggt aatatttggg aaatgacttt gtaaactggt aagcactacc caagcataac 5460
agattgtgat tactattttg atctcaaagt catctgttgc tctgggggga accttatat 5520
ttatcaaatt gaaaaaagt tctcaaagttg aatgaagaaa ggatataaag agcttgagga 5580
gccatttoca gcttaggagg gctgggaaag gaaaccagca agtcagtaag ctgtgtgctc 5640
gtgtattgag ggaggagggg atggacttga tatggagagg gttagggaggt ggactgctc 5700
tatggcctgt aagaaaaact gctctctcca aactctttat aagagagggg gcctgtgaag 5760
tattcacttt tgaaggagaa agttagactt tctctcaca cactttgtac ataataatgt 5820
ttaaaaaagc atgagggtcaa aatacataat taagtcctag cagttctctg ttaactaatt 5880
tgagactgaa gtgctatgta cttgtctcta ggcttccagt atcttcatct gtaaaacaga 5940
atatttggtc tagattccat tagaatcatt tgataactta aaaaatatat tgatgctcat 6000
gtctcatttc ttgagattct gatttaattg gtttgggggt cagcctgggt atacgtattt 6060
ttcataggtc tttcacataa tggtaatggg tagccaatat tgagaatcac ttgtctaggt 6120
gatctttaaa tgattttctg atgtaaatatt ctgaggctct ataatttgag actaatcaca 6180
aaaatcggta cagtttataa acagactaac agaaccacaa aataatagaa ttggaaggca 6240
atthaactag tgcaatttct tcattttgccc taacaggcat gtaagaaatg atgattgatt 6300
gagtaatagg cattgatgac cctgtctctc actttgtccc ctttccacc ctttaattata 6360
tgtgaattct ggtcttgtca tttcgaataa ggggtttatc tttcctattg tcttcccc 6420
tgggcaaggc aactggcta ctggagttaa gaggaatgc ttaggactcc ctgtggctcc 6480
agggagcacc aacagagcaa ctcaacctag tgttaactct agtgtttct ctgtgcttct 6540
ggatgccaca tcacgctaaa aatgaaggac aaagcttgggt ctttctctta gggaggatga 6600
aactctgaac ctcatTTTT agttcccaag atgaattatg tttctcattg catctgtgtt 6660
ccaactacag tccgggtgag aagtactggc tacaattttt tatccattg ttggtggtga 6720
ttctgtttgc tgtggacaca ggattattta tctcaactca gcagcaggtc acatttctct 6780

tgaagattaa gagaaccagg aaaggcttca gacttctgaa cccacatcct aagccaaacc 6840
 ccaaaaaaca ctgatataat tactcaagaa atatttgcaa cattagtttt tttccagcat 6900
 cagcaattgc tactcaattg tcaaacacag ctgcaatat acatagaaac gtctgtgctc 6960
 aaggatttat agaaatgctt cattaactg agtgaaactg gttaagtggc atgtaastagt 7020
 aagtgtctca ttaacattgg ttgaataaat gagageatga atagattcat ttattagcat 7080
 ttgtaaaaga gatgttcaat ttcaataaaa taaatataaa accatgtaac agaatgcttc 7140
 tgagta 7146

<210> 2

<211> 774

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 2

atggctcctg ccatggaatc cctactcta ctgtgtgtag ccttactggt cttcgctcca 60
 gatggcgtgt tagcagtcoc tcagaaacct aaggctcctc tgaacctcc atggaataga 120
 atatttaaag gagagaatgt gactcttaca tgtaatggga acaatttctt tgaagtcagt 180
 tccaccaaat ggttcacaaa tggcagcctt tcagaagaga caaattcaag tttgaatatt 240
 gtgaatgcca aatttgaaga cagtggagaa tacaastgtc agcaccaaca agttaatgag 300
 agtgaacctg tgaacctgga agtcttcagt gactggctgc tcttcaggc ctctgctgag 360
 gtggtgatgg agggccagcc cctcttctc aggtgccatg gttggaggaa ctgggatgtg 420
 tacaaggtga tctattataa ggatgggtgaa gctctcaagt actggtatga gaaccacaac 480
 atctccatta caaatgccac agttgaagac agtggaaacct actactgtac gggcaaagt 540
 tggcagctgg actatgagtc tgagcccctc aacattactg taataaaagc tccgcgtgag 600
 aagtactggc tacaattttt tatccattg ttggtggtga ttctgtttgc tgtggacaca 660
 ggattattta tctcaactca gcagcaggtc acatttctct tgaagattaa gagaaccagg 720
 aaaggcttca gacttctgaa cccacatcct aagccaaacc ccaaaaaaca ctga 774

<210> 3

<211> 257

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

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

Phe His Asn Gly Ser Leu Ser Glu Glu Thr Asn Ser Ser Leu Asn Ile
 65 70 75 80
 Val Asn Ala Lys Phe Glu Asp Ser Gly Glu Tyr Lys Cys Gln His Gln
 85 90 95
 Gln Val Asn Glu Ser Glu Pro Val Tyr Leu Glu Val Phe Ser Asp Trp
 100 105 110
 Leu Leu Leu Gln Ala Ser Ala Glu Val Val Met Glu Gly Gln Pro Leu
 115 120 125
 Phe Leu Arg Cys His Gly Trp Arg Asn Trp Asp Val Tyr Lys Val Ile
 130 135 140
 Tyr Tyr Lys Asp Gly Glu Ala Leu Lys Tyr Trp Tyr Glu Asn His Asn
 145 150 155 160
 Ile Ser Ile Thr Asn Ala Thr Val Glu Asp Ser Gly Thr Tyr Tyr Cys
 165 170 175
 Thr Gly Lys Val Trp Gln Leu Asp Tyr Glu Ser Glu Pro Leu Asn Ile
 180 185 190
 Thr Val Ile Lys Ala Pro Arg Glu Lys Tyr Trp Leu Gln Phe Phe Ile
 195 200 205
 Pro Leu Leu Val Val Ile Leu Phe Ala Val Asp Thr Gly Leu Phe Ile
 210 215 220
 Ser Thr Gln Gln Gln Val Thr Phe Leu Leu Lys Ile Lys Arg Thr Arg
 225 230 235 240
 Lys Gly Phe Arg Leu Leu Asn Pro His Pro Lys Pro Asn Pro Lys Asn
 245 250 255

Asn

<210> 4

<211> 15

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 4

tgaatatatca gattt

<210> 5
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 5
tgaatatagca gattt 15

<210> 6
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 6
attctgtctt ccctt 15

<210> 7
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 7
attctgccct ccctt 15

<210> 8
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 8
gatatgatac agaaa 15

<210> 9
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 9
gatatgacac agaaa 15

<210> 10
<211> 15

<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 10
tacagaaaac atttc 15

<210> 11
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 11
tacagaatac atttc 15

<210> 12
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 12
aattaccctt cccag 15

<210> 13
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 13
aattaccact cccag 15

<210> 14
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 14
actaatgtat cctct 15

<210> 15
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 15 actaatgcat cctct	15
<210> 16 <211> 15 <212> DNA <213> Homo sapiens	
<400> 16 gtatcctctc tggac	15
<210> 17 <211> 15 <212> DNA <213> Homo sapiens	
<400> 17 gtatcctatc tggac	15
<210> 18 <211> 15 <212> DNA <213> Homo sapiens	
<400> 18 taatgagcat gaatc	15
<210> 19 <211> 15 <212> DNA <213> Homo sapiens	
<400> 19 taatgagtat gaatc	15
<210> 20 <211> 15 <212> DNA <213> Homo sapiens	
<400> 20 aatcaaaaca gggtc	15

<210> 21
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 21
aatcaaagca gggtc 15

<210> 22
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 22
aatgccaaat ttgaa 15

<210> 23
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 23
aatgccagat ttgaa 15

<210> 24
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 24
aatgagagtg aacct 15

<210> 25
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 25
aatgagaatg aacct 15

<210> 26
<211> 15

<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 26
aggcctctca ttttt 15

<210> 27
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 27
aggcctccca ttttt 15

<210> 28
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 28
tttgggaggc tgagg 15

<210> 29
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 29
tttgggaagc tgagg 15

<210> 30
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 30
accatccggc taaca 15

<210> 31
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 31 accatccagc taaca	15
<210> 32 <211> 15 <212> DNA <213> Homo sapiens	
<400> 32 atgcgtggct ctctt	15
<210> 33 <211> 15 <212> DNA <213> Homo sapiens	
<400> 33 atgcgtgact ctctt	15
<210> 34 <211> 15 <212> DNA <213> Homo sapiens	
<400> 34 tactgtacgg gcaaa	15
<210> 35 <211> 15 <212> DNA <213> Homo sapiens	
<400> 35 tactgtatgg gcaaa	15
<210> 36 <211> 15 <212> DNA <213> Homo sapiens	
<400> 36 agcctaccag acttg	15

<210> 37
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 37
agcctactag acttg 15

<210> 38
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 38
atggtgatag taata 15

<210> 39
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 39
atggtgacag taata 15

<210> 40
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 40
ttctgaaccc acatc 15

<210> 41
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 41
ttctgaaacc acatc 15

<210> 42
<211> 15

<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 42
caattgctac tcaat 15

<210> 43
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 43
caattgccac tcaat 15

<210> 44
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 44
agcttgcaat ataca 15

<210> 45
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 45
agcttgogat ataca 15

<210> 46
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 46
tgaaactggt taagt 15

<210> 47
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 47
tgaaactagt taagt 15

<210> 48
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 48
aataaatgaa atatc 15

<210> 49
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 49
ctaaataaat ctgat 15

<210> 50
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 50
aataaatgaa atagc 15

<210> 51
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 51
ctaaataaat ctgct 15

<210> 52
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 52
tgttttattc tgctc 15

<210> 53
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 53
ggatgcaagg gagag 15

<210> 54
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 54
tgttttattc tgccc 15

<210> 55
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 55
ggatgcaagg gaggg 15

<210> 56
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 56
taaccagata tgata 15

<210> 57
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 57
aaatgttttc tgtat 15

<210> 58
<211> 15

<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 58
taaccagata tgaca 15

<210> 59
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 59
aaatgttttc tgtgt 15

<210> 60
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 60
atatgataca gaaaa 15

<210> 61
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 61
cagaaggaaa tgttt 15

<210> 62
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 62
atatgataca gaata 15

<210> 63
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 63
cagaaggaaa tgtat 15

<210> 64
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 64
agattcaatt acccc 15

<210> 65
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 65
gcctccctgg gaggg 15

<210> 66
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 66
agattcaatt accac 15

<210> 67
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 67
gcctccctgg gagtg 15

<210> 68
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 68
ctggacacta atgta 15

<210> 69
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 69
gtccagagag gatac 15

<210> 70
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 70
ctggacacta atgca 15

<210> 71
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 71
gtccagagag gatgc 15

<210> 72
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 72
actaatgtat cctct 15

<210> 73
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 73
gcaaaaagtcc agaga 15

<210> 74
<211> 15

<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 74
actaatgtat cctat 15

<210> 75
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 75
gcaaaagtcc agata 15

<210> 76
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 76
gctttctaata gagca 15

<210> 77
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 77
ggaacagatt catgc 15

<210> 78
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 78
gctttctaata gagta 15

<210> 79
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 79 ggaacagatt catac	15
<210> 80 <211> 15 <212> DNA <213> Homo sapiens	
<400> 80 cctagaaatc aaaac	15
<210> 81 <211> 15 <212> DNA <213> Homo sapiens	
<400> 81 tgataagacc ctggt	15
<210> 82 <211> 15 <212> DNA <213> Homo sapiens	
<400> 82 cctagaaatc aaagc	15
<210> 83 <211> 15 <212> DNA <213> Homo sapiens	
<400> 83 tgataagacc ctgct	15
<210> 84 <211> 15 <212> DNA <213> Homo sapiens	
<400> 84 attgtgatg ccaaa	15

<210> 85
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 85
actgtcttca aattt 15

<210> 86
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 86
attgtgaatg ccaga 15

<210> 87
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 87
actgtcttca aatct 15

<210> 88
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 88
caagttaatg agagt 15

<210> 89
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 89
gtacacaggt tcaact 15

<210> 90
<211> 15

<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 90
caagttaatg agaat 15

<210> 91
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 91
gtacacaggt tcatt 15

<210> 92
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 92
gattcaaggc ctctc 15

<210> 93
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 93
ggtcttaaaa atgag 15

<210> 94
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 94
gattcaaggc ctccc 15

<210> 95
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 95
ggtcttaaaa atggg 15

<210> 96
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 96
cagcactttg ggagg 15

<210> 97
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 97
cacctgcctc agcct 15

<210> 98
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 98
cagcactttg ggaag 15

<210> 99
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 99
cacctgcctc agctt 15

<210> 100
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 100
atcgagacca tccgg 15

<210> 101
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 101
tcaccatggt agccg 15

<210> 102
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 102
atcgagacca tccag 15

<210> 103
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 103
tcaccatggt agctg 15

<210> 104
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 104
tgctctatgc gtggc 15

<210> 105
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 105
agagaaaaga gagcc 15

<210> 106
<211> 15

<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 106
tgctctatgc gtgac

15

<210> 107
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 107
agagaaaaga gagtc

15

<210> 108
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 108
acctactact gtacg

15

<210> 109
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 109
ccacactttg cccgt

15

<210> 110
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 110
acctactact gstatg

15

<210> 111
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 111
ccacactttg cccat 15

<210> 112
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 112
ctggaaagcc tacca 15

<210> 113
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 113
tcattgcaag tctgg 15

<210> 114
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 114
ctggaaagcc tacta 15

<210> 115
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 115
tcattgcaag tctag 15

<210> 116
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 116
tgttaaatgg tgata 15

<210> 117
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 117
agcaggatt actat 15

<210> 118
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 118
tgtaaattgg tgaca 15

<210> 119
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 119
agcaggatt actgt 15

<210> 120
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 120
tcagacttct gaacc 15

<210> 121
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 121
gcttaggatg tgggt 15

<210> 122
<211> 15

<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 122
tcagacttct gaaac 15

<210> 123
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 123
gcttaggatg tggtt 15

<210> 124
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 124
catcagcaat tgcta 15

<210> 125
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 125
ttgacaattg agtag 15

<210> 126
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 126
catcagcaat tgcca 15

<210> 127
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 127
ttgacaattg agtgg 15

<210> 128
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 128
aaacacagct tgcaa 15

<210> 129
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 129
tttctatgta tattg 15

<210> 130
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 130
aaacacagct tgcga 15

<210> 131
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 131
tttctatgta tatcg 15

<210> 132
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 132
actgagtgaa actgg 15

<210> 133
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 133
catgccactt aacca 15

<210> 134
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 134
actgagtgaa actag 15

<210> 135
<211> 15
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 135
catgccactt aacta 15

<210> 136
<211> 10
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 136
aaatgaaata 10

<210> 137
<211> 10
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 137
aataaatctg 10

<210> 138
<211> 10

<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 138
tttattctgc 10

<210> 139
<211> 10
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 139
tgcaaggag 10

<210> 140
<211> 10
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 140
ccagatatga 10

<210> 141
<211> 10
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 141
tgttttctgt 10

<210> 142
<211> 10
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 142
tgatacagaa 10

<210> 143
<211> 10
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 143 aaggaaatgt	10
<210> 144 <211> 10 <212> DNA <213> Homo sapiens	
<400> 144 ttcaattacc	10
<210> 145 <211> 10 <212> DNA <213> Homo sapiens	
<400> 145 tcocctgggag	10
<210> 146 <211> 10 <212> DNA <213> Homo sapiens	
<400> 146 gacactaatg	10
<210> 147 <211> 10 <212> DNA <213> Homo sapiens	
<400> 147 cagagaggat	10
<210> 148 <211> 10 <212> DNA <213> Homo sapiens	
<400> 148 aatgtatcct	10

<210> 149
<211> 10
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 149
aaagtccaga

10

<210> 150
<211> 10
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 150
ttctaattgag

10

<210> 151
<211> 10
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 151
acagattcat

10

<210> 152
<211> 10
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 152
agaaatcaaa

10

<210> 153
<211> 10
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 153
taagaccctg

10

<210> 154
<211> 10

<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 154
gtgaatgccca 10

<210> 155
<211> 10
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 155
gtcttcaaat 10

<210> 156
<211> 10
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 156
gttaatgaga 10

<210> 157
<211> 10
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 157
cacaggttca 10

<210> 158
<211> 10
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 158
tcaaggcctc 10

<210> 159
<211> 10
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 159 cttaaaaatg	10
<210> 160 <211> 10 <212> DNA <213> Homo sapiens	
<400> 160 cactttggga	10
<210> 161 <211> 10 <212> DNA <213> Homo sapiens	
<400> 161 ctgcctcagc	10
<210> 162 <211> 10 <212> DNA <213> Homo sapiens	
<400> 162 gagaccatcc	10
<210> 163 <211> 10 <212> DNA <213> Homo sapiens	
<400> 163 ccatgttagc	10
<210> 164 <211> 10 <212> DNA <213> Homo sapiens	
<400> 164 tctatgcgtg	10

<210> 165
<211> 10
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 165
gaaaagagag 10

<210> 166
<211> 10
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 166
tactactgta 10

<210> 167
<211> 10
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 167
cactttgccc 10

<210> 168
<211> 10
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 168
gaaagcctac 10

<210> 169
<211> 10
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 169
ttgcaagtct 10

<210> 170
<211> 10

<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 170
taaatggtga 10

<210> 171
<211> 10
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 171
aggtattact 10

<210> 172
<211> 10
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 172
gacttctgaa 10

<210> 173
<211> 10
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 173
taggatgtgg 10

<210> 174
<211> 10
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 174
cagcaattgc 10

<210> 175
<211> 10
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 175 acaattgagt	10
<210> 176 <211> 10 <212> DNA <213> Homo sapiens	
<400> 176 cacagcttgc	10
<210> 177 <211> 10 <212> DNA <213> Homo sapiens	
<400> 177 ctatgtatat	10
<210> 178 <211> 10 <212> DNA <213> Homo sapiens	
<400> 178 gagtgaaact	10
<210> 179 <211> 10 <212> DNA <213> Homo sapiens	
<400> 179 gccacttaac	10
<210> 180 <211> 23 <212> DNA <213> Homo sapiens	
<400> 180 aagaaaagcg ttggtagctc tgg	23

<210> 181
<211> 24
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 181
caccacacagt aaaggttcct accc

24

<210> 182
<211> 23
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 182
atgcctctct ctcaccagat tcc

23

<210> 183
<211> 23
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 183
cttgccctctg ctttctagct tgg

23

<210> 184
<211> 23
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 184
gggatagggg gtggagtaag tgg

23

<210> 185
<211> 26
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 185
tcctctaccc tcattacctt ggtagg

26

<210> 186
<211> 24

<212> DNA
 <213> Homo sapiens

 <400> 186
 tgagggtaga ggagagaag aagc 24

 <210> 187
 <211> 26
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

 <400> 187
 gaggagaaa tgacttgaga gaatgc 26

 <210> 188
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

 <400> 188
 cctgtcttcc tcctgtggtt gg 22

 <210> 189
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

 <400> 189
 cactctggtg tcctaaccct tgg 23

 <210> 190
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

 <400> 190
 tcttcttgaa gtcctcaga aacc 24

 <210> 191
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 191
agatgggggtt tcacctggtt agc 23

<210> 192
<211> 24
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 192
tgttccatgt atggactcat cagg 24

<210> 193
<211> 23
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 193
ctctcttcoct tcccctgcta tgg 23

<210> 194
<211> 22
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 194
gtttctgaca catgctctat gc 22

<210> 195
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 195
tctgttatgc ttggtagtg c 21

<210> 196
<211> 22
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 196
gcaccaacag agcaactcaa cc 22

<210> 197
 <211> 26
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 197
 ccaatctaga acttcatggt ccttgc

26

<210> 198
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 198
 tgttggtggt gattctgttt gc

22

<210> 199
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 199
 tcttgagact gtccctgatt ctgc

24

<210> 200
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 200
 agttgacacc ccaaaacaag

20

<210> 201
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 201
 tggcaggagc catcttcttc

20

<210> 202
 <211> 20

<212> DNA
 <213> Homo sapiens

 <400> 202
 ggaggtggga tagggagtgg 20

 <210> 203
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

 <400> 203
 tccctgggaa atgcccaata 20

 <210> 204
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

 <400> 204
 cagttgggca ccatacctgaa 20

 <210> 205
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

 <400> 205
 tctggaagat gccagagcaa a 21

 <210> 206
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

 <400> 206
 cctgaaaaga cggttggtcc tt 22

 <210> 207
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 207
aggcaagggtg gagagggaaa 20

<210> 208
<211> 20
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 208
gttccttggg gcaccaatac 20

<210> 209
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 209
tcagatgagc catccctcac a 21

<210> 210
<211> 22
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 210
ccttgaaccc tccatggaat ag 22

<210> 211
<211> 20
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 211
cagccaatgc aggggtctta 20

<210> 212
<211> 20
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 212
tgtggcccca gactgacttt 20

<210> 213
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

 <400> 213
 tgttgagggg ctcagactca 20

 <210> 214
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

 <400> 214
 tctgctgagg tggatgatgga g 21

 <210> 215
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

 <400> 215
 caccaggtc tcctcattgc 20

 <210> 216
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

 <400> 216
 ggatgccaca tcacgctaa 19

 <210> 217
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

 <400> 217
 catgccactt aaccagtttc ac 22

 <210> 218
 <211> 22

```

<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 218
gagaaccagg aaaggttca ga                22

<210> 219
<211> 20
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 219
tcacctcac tggcatcctc                20

```

【図面の簡単な説明】

【図1】

図1は、IGERA 遺伝子に対する参照塩基配列（Genbank ヴァージョン番号L14075；連続線；配列番号：1）を図解しており、コード化塩基配列の各々の領域の開始及び終止位置はその塩基配列の下のカッコ内の番号で示されており、参照個体群における志願者に同定される多型部位及び多型はその塩基配列内の多型部位の下に位置する変異体ヌクレオチドによって示されている。

【図2】

図2は、IGERA コード化塩基配列に対する参照塩基配列（連続線；配列番号：2）を図解しており、参照個体群における志願者に同定された多型部位及び多型はその塩基配列内の多型部位の下に位置する変異体ヌクレオチドによって示されている。

【図3】

図3は、IGERA 蛋白質に対する参照アミノ酸配列（連続線；配列番号：3）を図解しており、図2の多型によって生じた変異体アミノ酸はその配列内の多型部位の下に示されている。下記の参照配列に表されている感嘆符は、図2の多型により導入された終止コドンを表わす。

【図1A】

IGERA 遺伝子における多型 (登録番号 L14075)

GATCTTCATG	TGGAATGACT	GGTTTCATTC	AATAGACTTA	ATTCAGCAGT	
CTGTGGGGAA	GAGCAAGGTA	TGATAGAATG	GTCCTCAAG	TGCTTCAGAT	100
GTGAAGTGGG	TTTAAATATA	CTGTCCCTGT	CTTCTTCAGA	GTTTTGGTAA	
AGATAAAATA	GGACACTCAT	TTAAAAGCAA	TCTTTGCAA	TGACAAGCCA	200
CTATAGACAT	TAATAGAGTT	TTCATTTCCA	GTAITATCAT	TAATATCAGA	
TCCTGGGAAG	AGGTTGAGCC	TTGACCTAGA	GCAPAAAAAC	AGAAGAATTA	300
GTAAAGGAAT	CCTGGAGAAA	GCCCCTGCTG	TGTATTTTAA	GGAGAAAGGG	
AGATCATGTT	GGGAAATTAT	AATATTTAAA	GTAAPACAAA	GCTAGGAAGT	400
AAAATAAAAT	AAATTATATG	GCCTAGATCC	CCATAAGTAA	TGGTTTAACT	
TCTGCCTTCC	TGTGTTCTGA	GCCAGATTAG	GGCACAGTAG	ACAAAGAGGA	500
GTCTCTGAAA	ATGTTTCCAA	TTTCGCTGGT	CACACAGCGG	ATCATCAGTG	
AATCAGATGA	AAATTTGTGG	ATTTATGCAC	TAACCTGATCA	GCAGGAAATT	600
AAACAAGAAA	AGCGTTGGTA	GCTCTGGTGA	ATCCCAAAG	AATTTGGCAG	
TTGCTAGCCA	TGCTCCTGAA	TATGTATAAA	CAGTACATCA	TATGACTAAG	700
AGTTTGACTT	AGGGGTTAGA	TTTTATGTGT	TTGAACCCCA	AATTAGTTAT	
TTAATAGTTG	GCACCCAAA	ACAAGTTACT	TAACCTCACT	AAGATTCAGT	800
TTTCTGTGTT	ATAAAATGTA	GATAGTGATA	GTATGTACTT	TATAGGATTA	
TTGICAAAAA	TAAATGAAAT	ATCAGATTTA	TTIAGGATAA	CACCTGGCAT	900
		G			
ATGTTTGGTA	TTCAGTAATT	AGTTGCTGCT	GTTTTATTCT	GCTCTCCCTT	
			C		
GCATCCCACT	TTTCTAAGTT	GTAACCTAAA	TAGTTGTACA	CAGATTGACA	1000
GATTAAAGAAA	GGCTTGTGAT	TGTGCTAGAC	CTATGCCTCT	CTCTCACCAG	
ATTCCAGGTC	TATATGTGGA	GGTGGGATAG	CGAGTGGAGT	AAGTGGGTAA	1100
ATATTAATAA	GCCCAGTTGG	GCACCATCCT	GAATATTATC	TCTAAAGAAA	
GAAGCAAAAC	CAGGCACAGC	TGATGGGTTA	ACCAGATATG	ATACAGAAAA	1200
			C	T	
CATTCCTTTC	TGCTTTTTTG	TTTTAAGCCT	ATATTTGAAG	CCTTAGATCT	
CTCCAGCACA	GTAAGCACCA	GGAGTCCATG	AAGAAGATGG	CTCCTGCCAT	1300
	[exon 1: 1287..				
GGAAATCCCT	ACTCTACTGT	GTGTAGCCTT	ACTGTTCTTC	GGTAAGTAGA	
	..1341]				
GATTCAATTA	CCCCCCCAG	GGAGGCCCAA	ATGAATTTGG	GGAGCAGCTG	1400
	A				
GGGTAGGAAC	CCTTACTGTG	GGTGGTGA	TTTTCTAGGA	CATGTGCAAA	
CTATTGGGCA	TTTCCCAGG	ACTCTGTAGT	GGAGCCAAGC	TAGAAAGCAC	1500
AGCCAAGTGG	GCTGAGCAAC	ACCTAAGGAG	GAAGCCAGAC	TGAAAGCTTG	
GTTCTTGCA	TTTGCTCTGG	CACTTCCAG	AGTGCAAAAT	TCCTACCAAG	1600
GTAATGAGGG	TAGAGGAGAG	AAAGAAGCTC	TTTTCTTCCC	TGATTCTCAT	
TCCTGAAAAG	ACGGTTGGTC	CTTAAAATTC	CATGGATCTA	GATCTTATCC	1700
CCACACCCAG	ATTCTAGTCC	TCTGGAGATA	AAGAAGACTG	CTGGACACTA	
ATGTATCCTC	TCTGGACTTT	TGCAGCTCCA	GATGGCGTGT	TAGCAGGTGA	1800
	C	A			
	[exon 2: 1776..				
	..1796]				
GTCCTCTGTT	CFTGTTCCCT	TGCTGTATCA	ACAATGCTGG	GCATTGCTTT	
CCTCTCACFA	TTTTCTTCGT	CCCATCACTT	CTGCTTTCTA	ATGAGCATGA	1900
			T		
ATCTGTTTCT	TGGCCAGACT	ACTTCCCTC	TCCACCTTGC	CFTGTTCTTC	
TTTTTTTCCC	TGATTCATTG	CATTCTCTCA	AGTCATTCTC	TCCTCTGTTT	2000
TAGTCAATAA	CCATGTCTGT	TGCACATATA	CATGTCTCAT	TCTCTCTCCT	
AGACACTTTG	GCATGATCTC	GCTCAATAAT	TACATTATTA	TTATTATTGC	2100

FIGURE 1A

【図 1 B】

CATTTTATAA	TTGAGGATGC	TGAAACTCAG	TGATTTTCTG	GTGGTTACAT	
GGCTAAGGAA	CTGGATTTCA	ACGTAAGTTC	CTTGGATCTA	AGTCCAGTTC	2200
TCTCTGACT	ATATCACCCCT	TTTGTATCA	CCATGTATCT	ACTTCTTTGG	
TCTCTGTTC	AATTTGCACT	ACATCCCCTT	GTTCCAGGAA	GCCATTCAAG	2300
ACTGACTTTC	TTAGTGCCTC	TCACTACTTT	CTGGAECTGA	CATATGTTTT	
TCACTCTGTA	TATACTTACA	ATTAATAGT	CATAAATATT	CAGAGCTTGG	2400
AGAAACCTTA	TATTTTATCC	AGTCCAGTAA	ATTTATCCAT	CCATAATTCA	
CTCATTCATT	CACATAATAA	ATATTTAATG	TAACAATGGT	TGAACATGGC	2500
AGACAGTGTT	TCTACCTCAA	AAGAGATTGC	AGTCCCTCATT	TACAGATACT	
GAATTGAAAT	TAACAGAAGT	AGAGTGAGTC	AGCTCAAATC	ACATAGTGAA	2600
TTGGTTTCTT	TGTTTTTAAA	TCTCCTGCAT	ATGTGTCTCG	TCTTTCTCCC	
TGTGTTGGGC	GTTCCCTGGG	GCACCAATAC	TAATTTCTCC	TTCCCCTAGA	2700
AATCAAAACA	GGGTCTTATC	ACCAACAGAA	TAAGGACAGG	TTGACCACTG	
	G				
ATTGTACGAA	TATTGCTTCG	TTTGTACTTT	TAAGCCTAGA	CAGTTTTCAA	2800
TGACTTTTTT	TCTCTCTACA	TGTCTTTTCA	TATTTTTTATC	TTCTTGAAGT	
	[exon 3: 2850..				
CCCTCAGAAA	CCTAAGGTCT	CCTTGAACCC	TCCATGGAAT	AGAATATTTA	2900
AAGGAGAGAA	TGTGACTCTT	ACATGTAATG	GGAACAATTT	CTTTGAAGTC	
AGTTCACCA	AATGGTTCCA	CAATGGCAGC	CTTTCAGAAG	AGACAAATTC	3000
AAGTTTGAAT	ATTGTGAATG	CCAAATTTGA	AGACAGTGGG	GAATACAAAT	
		G			
GTCAGCACCA	ACAAGTTAAT	GAGAGTGAAC	CTGTGTACCT	GGAAGTCTTC	3100
		A			
AGTGGTAAGT	TCCAGGGATA	TGGAATACA	GATCTCTCAT	GTGAGGGATG	
	..3104]				
GCTCATCTGA	AGATGGGAAA	AAACAGGTTA	TTCCAAGGGT	TAGGACACCA	3200
GAGTGGGATT	CAAGGCCCTCT	CATTTTTAAG	ACCCCTGCAT	TGGCTGGGCA	
		C			
CAGTGGCTCA	CGCCTGTAAT	CCCAGCACTT	TGGGAGGCTG	AGGCAGGTGG	3300
			A		
ATCACGAGGT	CAGGAGATCG	AGACCATCCG	GCTAACATGG	TGAAACCCCA	
		A			
TCTCTGCTAA	AAAATATATA	TATATAAAAT	TAGCCGGGCG	TAGTGGTGGG	3400
CACCTGTAGT	CCCAGGTACT	CGGGAGGCTG	AGGCAGGAGA	ATGGTGTGAA	
CCCAGGAGGT	GGAGGTTGCA	GTGAGCTGAG	ATCACGCCAC	TGCCCTCCAG	3500
CCTGGGCTAC	AGAGCAAGAC	TCCGTCTCAA	AAAATAAATA	AATAAATAAA	
AAAGACCCCT	GCATCTCTTT	TCTTCTACCC	CCTTCCCTTT	TGATTACTTG	3600
TATGCCTTCT	TTCAATATTC	TAGTCATCTC	TCAATATTAT	TCCTCCACCC	
TATTTTCTCT	TATCTTTTCT	GCCTAGATTC	AGGTATATAT	TATGTGGTCA	3700
AACAGCATGA	CATATATGTG	AACATTTCAA	AGAGCTGTGT	ATCTGGAATA	
GGATCAAAAG	GTTTACTTA	AAGTTTTGCT	CTGCATAATC	CATATGGCAG	3800
GACCTGAATA	TTAGGTTGTA	CTCTTCGTTA	TGAAACATAT	CTGGGTACAT	
TTCCCTATGT	CCTCTGTTGT	TACTTAAGAA	CACATATTTT	ATGCTTGTTT	3900
CATTTTTATC	ACTCCACTCG	CCAACAAATA	GCATAGCATG	CTTAGGCACA	
TGTGGCTTAA	TTAGCAAATG	TTGAATAAAC	AAATTAATGA	TTTGAATAG	4000
TGACCAATAG	GTCTCTTTTA	TACTCTATAT	TTTTCTCTTG	AGTGAAAAAA	
AATGTTTCAA	CCTCCATATG	TAAATTTCAA	ACACAAACTA	AAGCAATGTA	4100
GAATAGCTTC	TTTATTCCTT	GGAGTAGGTT	CTAGAGAAGT	CCTAAAGGAT	
TGGTCCYAAA	TTAATTATGC	TTATTATGCT	AGCGATATTT	CCTTTCAAAA	4200
TTCTCCTTTA	ATGAATGCTT	TTTAAATTTT	ACAAAAGCAT	TAACCATAGA	
ATGTGATTCT	TGTCTTTCAC	TGACTCATT	GTGACAAATA	TTTGTGAGT	4300
ACCTACCAAC	TCCTAAGTAT	TGCTACCAAC	TCCTAAATAC	TGTGTTGGGC	
ATTCAGAATA	GAATGTAGAA	CTAGACAGGG	TCCTGACTT	CTTGGAGCAC	4400

FIGURE 1B

【図 1 C】

AGAGCAGTAT	GGGAAGAGGA	CATTAATAA	AGAATTACAT	AAGTAATTAA	
TTTAAATTAT	ACATGTTTTG	AAGAAGTTTT	TTTTTGACAA	CTATAATTAA	4500
CACTAGAACT	GGGAAGTTTC	TATAAGGTAA	GAGAGGACAA	AATAGACACT	
CTCCTAAGCT	AAAATTCCCA	AGAAAGACTG	TTTATTTTCC	CCTAACTAAC	4600
TAGAACTAGC	AACAGAAGAT	CTGAAAGGAA	TTCTGGCTTT	CAAGTGTTC	
ATGTATGGAC	TCATCAGGGA	GGTCCGAGAG	GCTTTGTGGC	CCCAGACTGA	4700
CTTTTCAGGA	GGGGAAGGA	TTTATCAATA	CACAAGACAG	GCTCTAAGCA	
TTATTTTGTG	CCCTTTAAAA	ATCCACTTTA	TGAGCCAAAA	AGTGAGTTAA	4800
TGATAATTCA	TAGTTTCTGA	CACATGCTCT	ATGGGTGGCT	CTCTTTTCTC	
			A		
TATTCATTCT	CTCTCTCTTC	ATTTATTGTT	AAATAAATAA	TGTAATGAAT	4900
GTTCTTCAGA	CTGGCTGCTC	CTTCAGGCCT	CTGCTGAGGT	GGTGATGGAG	
	[exon 4: 4910..				
GGCCAGCCCC	TCTTCCTCAG	GTGCCATGGT	TGGAGGAACT	GGGATGTGTA	5000
CAAGGTGATC	TATTATAAGG	ATGGTGAAGC	TCTCAAGTAC	TGGTATGAGA	
ACCACAACAT	CTCCATTACA	AATGCCACAG	TTGAAGACAG	TGGAACCTAC	5100
TACTGTACGG	GCAAAGTGTG	GCAGCTGGAC	TATGAGTCTG	AGCCCCCTCA	
	T				
CATTACTGTA	ATAAAAGGTG	AGTTGGTAAA	GGAAAGGAAA	AGCATCCATA	5200
	..5167]				
GCAGGGGAAG	GAAGAGAGAA	CTTCTGAGCC	TGAGCAGTTG	CAGCTTGTAG	
AAGGGGGGCA	CCTGTGATAC	ACTGGAAAGC	CTACCAGACT	TGCAATGAGG	5300
			T		
AGACCTGGGT	GATAGTATAT	ATCTCAATCT	CTGTTTCAA	GCCTTGACTT	
GTTAAATGGT	GATAGTAATA	CCTGCTTGCA	CTATGAAATT	TTTATGAAGA	5400
	C				
TTAATGTGGT	AATATTTGTG	AAATGACTTT	GTAACACTGTT	AAGCACTACC	
CAAGCATAAC	AGATTGTGAT	TACTATTTTTG	ATCTCAAAGT	CATCTGTTGC	5500
TCCTGGGGGA	ACACTTATAT	TTATCAAATT	GAAAAAAGT	TTCAAAGTTG	
AATGAAGAAA	GGATATAAAG	AGCTTGAGGA	GCCCATTTCCA	GCTTAGGAGG	5600
GCTGGGAAAG	GAAACCAGCA	AGTCAGTAAG	CTGTGTGCCT	GTGTATTGAG	
GGAGGAGGGA	ATGGACTTGA	TATGGAGAGG	GTAGGGAGGT	GGACTGCCTC	5700
TATGGCCTGT	AAGAAAACT	GCTCTCTCCA	AACTCTTTAT	AAGAGAGGGA	
GCCTGTGAAG	TATTCACTTT	TGAAGGAGAA	AGTTAGACTT	TTCTTCCACA	5800
CACCTTGTAC	ATAATAATGT	TTAAAAAAGC	ATGAGGTCAA	AATACATAAT	
TAAGTCCTAG	CAGTTCTCTG	TTAACTAATT	TGAGACTGAA	GTGCTATGTA	5900
CTTGTCCTA	GGCTTCCAGT	ATCTTCATCT	GTAAAACAGA	ATATTTGGTC	
TAGATTCCAT	TAGAATCATT	TGATAACTTA	AAAAATATAT	TGATGCTCAT	6000
GTCTCATTTC	TTGAGATTCT	GATTTAATTG	GTTTGGGGTG	CAGCCTGGGT	
ATACGTATTT	TTCATAGGTC	TTTCACATAA	TGGTAAATGGG	TAGCCAATAT	6100
TGAGAATCAC	TTGTCTAGGT	GATCTTTAAA	TGATTTCTGG	ATGTAATATT	
CTGAGGCTCT	ATAATTTGAG	ACTAATCACA	AAAATCGGTA	CAGTTTATAA	6200
ACAGACTAAC	AGAACCACAA	AATAATAGAA	TTGGAAGGCA	ATTTAACTAG	
TGCAATTTCT	TCATTTTGCC	TAAACAGGCAT	GTAAGAAATG	ATGATTGATT	6300
GAGTAATAGG	CATTGATGAC	CCCTGTCCCTC	ACTTTGTCCC	CTTTCCACCC	
CTTAATTATA	TGTGAATTCT	GGTCTTGTC	TTTCGAATAA	GGGGTTTATC	6400
TTTCCTATTG	TCTTCCCCTC	TGGGCACGGC	ACACTGGCTA	CTGGAGTTAA	
GAGGAAATGC	TTAGGACTCC	CTGTGGCTCC	AGGGAGCACC	AACAGAGCAA	6500
CTCAACCTAG	TGTTAATCTG	AGTGTTTTCT	CTGTGCTTCT	GGATGCCACA	
TCACGCTAAA	AATGAAGGAC	AAAGCTTGGT	CTTTCTCTTA	GGGAGGATGA	6600
AACTCTGAAC	CTCATTTTTT	AGTTCCCAAG	ATGAATTATG	TTTCTCATTG	
CATCTGTGTT	CCACTACAGC	TCCGCGTGAG	AAGTACTGGC	TACAATTTTT	6700
	[exon 5: 6670..				
TATCCCATTTG	TGGTGGTGA	TTCTGTTTGC	TGTGGACACA	GGATTATTTA	

FIGURE 1C

【図1D】

TCTCAACTCA	GCAGCAGGTC	ACATTTCTCT	TGAAGATTAA	GAGAACCAGG	6800
AAAGGCTTCA	GACTTCTGAA	CCCACATCCT	AAGCCAAACC	CCAAAAACAA	
		A			
CTGATATAAT	TACTCAAGAA	ATATTTGCAA	CATTAGTTTT	TTTCCAGCAT	6900
	. . 6854]				
CAGCAATTGC	TACTCAATTG	TCAAACACAG	CTTGCAATAT	ACATAGAAAC	
	C		G		
GTCTGTGCTC	AAGGATTTAT	AGAAATGCTT	CATTAAACTG	AGTGAAACTG	7000
				A	
GTTAAGTGGC	ATGTAATAGT	AAGTGCTCAA	TTAACATTGG	TTGAATAAAT	7100
GAGAGAATGA	ATAGATTCAT	TTATTAGCAT	TTGTAAAAGA	GATGTTCAAT	7146
TTCAATAAAA	TAAATATAAA	ACCATGTAAC	AGAATGCTTC	TGAGTA	

FIGURE 1D

【図2】

IGERA のコード配列における多型

ATGGCTCCTG	CCATGGAATC	CCCTACTCTA	CTGTGTGTAG	CCTTACTGTT	
CTTCGCTCCA	GATGGCGTGT	TAGCAGTCCC	TCAGAAACCT	AAGGTCTCCT	100
TGAACCTCC	ATGGAATAGA	ATATTTAAAG	GAGAGAATGT	GACTCTTACA	
TGTAATGGGA	ACAATTTCTT	TGAAGTCAGT	TCCACCAAAT	GGTTCCACAA	200
TGGCAGCCTT	TCAGAAAGAGA	CAAATTCAG	TTTGAATATT	GTGAATGCCA	
AATTTGAAGA	CAGTGGAGAA	TACAAATGTC	AGCACCAACA	AGTTAATGAG	300
G					
AGTGAACCTG	TGTACCTGGA	AGTCTTCAGT	GACTGGCTGC	TCCTTCAGGC	
A					
CTCTGCTGAG	GTGGTGATGG	AGGGCCAGCC	CCTCTTCCTC	AGGTGCCATG	400
GTTGGAGGAA	CTGGGATGTG	TACAAGGTGA	TCTATTATAA	GGATGGTGAA	
GCTCTCAAGT	ACTGGTATGA	GAACCACAAC	ATCTCCATTA	CAAATGCCAC	500
AGTTGAAGAC	AGTGGAACCT	ACTACTGTAC	GGGCAAAGTG	TGGCAGCTGG	
		T			
ACTATGAGTC	TGAGCCCCTC	AACATTACTG	TAATAAAAGC	TCCGCGTGAG	600
AAGTACTGGC	TACAATTTTT	TATCCCATTG	TTGGTGGTGA	TTCTGTTTGC	
TGTGGACACA	GGATTATTTA	TCTCAACTCA	GCAGCAGGTC	ACATTTCTCT	700
TGAAGATTAA	GAGAACCAGG	AAAGGCTTCA	GACTTCTGAA	CCCACATCCT	
			A		
AAGCCAAACC	CCAAAAACAA	CTGA			774

【図3】

IGERA 蛋白質のアイソフォーム

MAPAMESPTL	LCVALLFFAP	DGVLAVPQKP	KVSLNPPWNR	IFKGENVTLT	
CNGNFFEVS	STKWFHNGSL	SEETNSSLNI	VNAKFEDSGE	YKCQHQVNE	100
			R		
SEPVYLEVFS	DWLLLQASAE	VMEGQPLFL	RCHGWRNWDV	YKVIYYKDGE	
N					
ALKYWYENHN	ISITNATVED	SGTYCYCTGKV	WQLDYESEPL	NITVIKAPRE	200
		M			
KYWLQFFIPL	LVVILFAVDT	GLFISTQQQV	TFLKIKRTR	KGFRLNPHP	
				K	
KPNPKNN					257

【**手続補正書**】

【**提出日**】平成14年3月12日(2002.3.12)

【**手続補正2**】

【**補正対象書類名**】図面

【**補正対象項目名**】図1A

【**補正方法**】変更

【**補正の内容**】

【図1A】

I G E R A 遺伝子における多型 (登録番号L14075)

GATCTTCATG	TGGAATGACT	GGTTTCATTC	AATAGACTTA	ATTCAGCAGT	
CTGTGGGGAA	GAGCAAGGTA	TGATAGAATG	GTTCTCAAG	TGCTTCAGAT	100
GTGAAGTGGG	TTTAAATATA	CTGTCCCTGT	CTTCTTCAGA	GTTTTGGTAA	
AGATAAAATA	GGACACTCAT	TTAAAAGCAA	TCTTTGCAAA	TGACAAGCCA	200
CTATAGACAT	TAATAGAGTT	TTCATTTCCA	GTATTATCAT	TAATATCAGA	
TCCTGGAAGA	AGGTTGAGCC	TTGACCTAGA	GCAAAAAAAC	AGAAGAATTA	300
GTAAAGGAAT	CCTGGAGAAA	GCCCCTGCTG	TGTATTTAAA	GGAGAAAGGG	
AGATCATGTT	GGGAAATTAT	AATATTAATA	GTAACAAAA	GCTAGGAAGT	400
AAAATAAAAT	AAATTATATG	GCCTAGATCC	CCATAAGTAA	TGGTTTAACT	
TCTGCCTTCC	TGTGTTCTGA	GCCAGATTAG	GGCACAGTAG	AGAAAGAGGA	500
GTCTCTGAAA	ATGTTTCCAA	TTTCGCTGGT	CAGACAGCGG	ATCATCAGTG	
AATCAGATGA	AAATTGTGCG	ATTTATGCAC	TAACCTGATCA	GCAGGAAATT	600
AAACAAGAAA	AGCGTTGGTA	GCTCTGGTGA	ATCCCAAAAG	AATTTGGCAG	
TTGCTAGCCA	TGCTCCTGAA	TATGTATAAA	CAGTACATCA	TATGACTAAG	700
AGTTTGACTT	AGGGGTTAGA	TTTTATGTGT	TTGAACCCCA	AATTAGTTAT	
TTAATAGTTG	GCACCCCAA	ACAAGTTACT	TAACCTCACT	AAGATTCACT	800
TTTCTGTTT	ATAAAATGTA	GATAGTGATA	GTATGTACTT	TATAGGATTA	
TTGTGAAAA	TAAATGAAAT	ATCAGATTTA	TTTAGGATAA	CACCTGGCAT	900
		G			
ATGTTTGGTA	TTCAGTAATT	AGTTGCTGCT	GTTTTATTCT	GCTCTCCCTT	
				C	
GCATCCCACT	TTTCTAAGTT	GTAACCTAAA	TAGTTGTACA	CAGATTGACA	1000
GATTAAGAAA	GGCTTGTGAT	TGTGCTAGAC	CTATGCCTCT	CTCTCACCAG	
ATTCCAGGTG	TATATGTGGA	GGTGGGATAG	GGAGTGGAGT	AAGTGGGTAA	1100
ATATTAATTT	GCCCAGTTGG	GCACCATCCT	GAATATTATC	TCTAAAGAAA	
GAAGCAAAAC	CAGGCACAGC	TGATGGGTTA	ACCAGATATG	ATACAGAAAA	1200
				C	
				T	
CATTTCCCTC	TGCTTTTTGG	TTTTAAGCCT	ATATTTGAAG	CCTTAGATCT	
CTCCAGCACA	GTAAGCACCA	GGAGTCCATG	AAGAAGATGG	CTCCTGCCAT	1300
	[エクソン 1: 1287..				
GGAATCCCCT	ACTCTACTGT	GTGTAGCCTT	ACTGTTCTTC	GGTAAGTAGA	
	..1341]				
GATTCAATTA	CCCCTCCCAG	GGAGGCCCAA	ATGAATTTGG	GGAGCAGCTG	1400
	A				
GGGTAGGAAC	CTTACTGTG	GGTGGTGA	TTTTCTAGGA	CATGTGCAAA	
CTATTGGGCA	TTTCCCAGGG	ACTCTGTAGT	GGAGCCAAGC	TAGAAAGCAG	1500
AGGCAAGTGG	GCTGAGCAAC	ACCTAAGGAG	GAAGCCAGAC	TGAAAGCTTG	
GTTCCTTGCA	TTTGCTCTGG	CATCTTCCAG	AGTGCAAATT	TCCTACCAAG	1600
GTAATGAGGG	TAGAGGAGAG	AAAGAAGCTC	TTTCTTCCCC	TGATTCTCAT	
TCCTGAAAAG	ACGGTTGGTC	CTTAAAATTC	CATGGATGTA	GATCTTATCC	1700
CCACACCCAG	ATTCTAGTCC	TCTGGAGATA	AAGAAGACTG	CTGGACACTA	
ATGTATCCTC	TCTGGACTTT	TGCAGCTCCA	GATGGCGTGT	TAGCAGGTGA	1800
	C				
	A				
	[エクソン 2: 1776..		..1796]		
GTCTCTGTT	CTTGTTCCTT	TGGTGTATCA	ACATGTCTGG	GCATTGCTTT	
CCTCTCACTA	TTTTCTTCGT	CCCATCACTT	CTGCTTTCTA	ATGAGCATGA	1900
				T	
ATCTGTTCTT	TGGCCAGACT	ACTTTCCCTC	TCCACCTTGC	CTTGTCTTTC	
TTTTTTTCCC	TGATTCATTG	CATTCTCTCA	AGTCATTCTC	TCCTCTGTTT	2000
TAGTCAATAA	CCATGTCTGT	TGCACATATA	CATGTCTCAT	TCTCTCTCCT	
AGACACTTTG	GCATGATCTC	GCTCAATAAT	TACATTATTA	TTATTATTGC	2100

FIGURE 1A

【手続補正3】

【補正対象書類名】図面

【補正対象項目名】 図2

【補正方法】 変更

【補正の内容】

【図2】

I G E R A のコード配列における多型

ATGGCTCCTG	CCATGGAATC	CCCTACTCTA	CTGTGTGTAG	CCTTACTGTT	100
CTTCGCTCCA	GATGGCGTGT	TAGCAGTCCC	TCAGAAAACCT	AAGGTCTCCT	
TGAACCTCC	ATGGAATAGA	ATATTTAAAG	GAGAGAATGT	GACTCTTACA	200
TGTAATGGGA	ACAATTTCTT	TGAAGTCAGT	TCCACCAAAT	GGTTCCACAA	
TGGCAGCCTT	TCAGAAAGAGA	CAAAATTCAG	TTTGAATATT	GTGAATGCCA	300
AAATTTGAAGA	CAGTGGAGAA	TACAAATGTC	AGCACCAACA	AGTTAATGAG	
	^G				
AGTGAACCTG	TGTACCTGGA	AGTCTTCAGT	GACTGGCTGC	TCCITTCAGGC	
	^A				
CTCTGCTGAG	GTGGTGATGG	AGGGCCAGCC	CCTCTTCCTC	AGGTGCCCATG	400
GTTGGAGGAA	CTGGGATGTG	TACAAGGTGA	TCTATTATAA	GGATGGTGAA	
GCTCTCAAGT	ACTGGTATGA	GAACCAACAAC	ATCTCCATTA	CAAAATGCCAC	500
AGTTGAAGAC	AGTGGAAACCT	ACTACTGTAC	GGGCAAAAGTG	TGGCAGCTGG	
		^T			
ACTATGAGTC	TGAGCCCCTC	AACATTACTG	TAATAAAAGC	TCCGCGTIGAG	600
AAGTACTGGC	TACAATTTT	TATCCCATTG	TTGGTGGTGA	TTCTGTTTGC	
TGTGGACACA	GGATTATTTA	TCTCRACTCA	GCAGCAGGTC	ACATTTCTCT	700
TGAAGATTAA	GAGAACCAGG	AAAGGCTTCA	GACTTCTGAA	CCCACATCCT	
		^A			
AAGCCAAACC	CCAAAACAA	CTGA			774

FIGURE 2

【手続補正4】

【補正対象書類名】 図面

【補正対象項目名】 図3

【補正方法】変更

【補正の内容】

【図3】

I G E R A 蛋白質のアミノフォーム

```

MAPAMESPTL LCVALLFFAP DGVLAVPQKP KVSINPPWNR IFKGENVTILT      100
CNGNFFFEVS STKWFHNGSL SEETNSSLNI VNAKFEDSGE YKQHQQVNE
SEPVYLEVFS DWLLLQASAE VMEGQPLFL RCHGWRNWDV YKVIYYKDGE
N
ALKYWIYENHN ISITNATVED SGTYCYCTGKV WQLDYESEPL NITVIKAPRE      200
M
KYWLQFFIPL LVVILFAVDI GLFISTQQQV TELLKIKRTR KGFRLLNPHP
K
KPNPKNN                                                              257

```

FIGURE 3

【手続補正書】

【提出日】平成14年4月18日(2002.4.18)

【手続補正1】

【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】 以下の群から選択された一つのヌクレオチド塩基配列を含む単離されたポリヌクレオチド：

(a) 免疫グロブリンE受容体 I Alpha サブユニット (IGERA) 遺伝子またはその断片についての参照塩基配列の多型変異体である第一のヌクレオチド配列、ここで、前記参照塩基配列は配列番号：1を含んで成り、前記多型変異体が第5表中のハプロタイプ1～20から成る群から選択されるハプロタイプにより定義されるIGERA 同質遺伝子 (isogene) を含んで成る；並びに

(b) 第一のヌクレオチド塩基配列に相補的である第二のヌクレオチド塩基配列。

【請求項2】 DNA 分子であり、そして第一のヌクレオチド塩基配列及び第二のヌクレオチド塩基配列の双方を含んで成り、更に第一のヌクレオチド塩基配列に使用可能に連結された発現制御要素を含んで成る請求項1に記載の単離ポリヌクレオチド。

【請求項3】 請求項1に記載の単離されたポリヌクレオチドにより形質転換または形質移入されており、そして第一のヌクレオチド塩基配列によりコードされたIGERA 蛋白質を発現する生物体。

【請求項4】 ヒト以外のトランスジェニック動物である請求項3に記載の組換え生物体。

【請求項5】 請求項1に記載の単離されたポリヌクレオチドで、第一のヌクレオチド塩基配列がIGERA 同質遺伝子 (isogene) の断片の多型変異体で、その断片が以下から成る群から選択された一つまたはそれ以上の多型から成るもの：PS1 におけるグアニン、PS2 におけるシトシン、PS3 におけるシトシン、PS4 におけるチミン、PS5 におけるアデニン、PS6 におけるシトシン、PS7 におけるアデニン、PS8 におけるチミン、PS9 におけるグアニン、PS10におけるグアニン、PS11におけるアデニン、PS12におけるシトシン、PS13におけるアデニン、PS14

におけるアデニン、PS15におけるアデニン、PS16におけるチミン、PS17におけるチミン、PS18におけるシトシン、PS19におけるアデニン、PS20におけるシトシン、PS21におけるグアニン、PS22におけるアデニン。

【請求項6】 IGERA cDNAあるいはその断片についての参照塩基配列の多型変異体であるヌクレオチド塩基配列を含んで成る単離されたポリヌクレオチドであって、その参照塩基配列が配列番号：2を含んで成り、そしてその多型変異体が第5表中のハプロタイプ1～20から成る群から選択されたハプロタイプにより定義されるIGERA 同質遺伝子 (isogene) のコード配列を含んで成る、前記ポリヌクレオチド。

【請求項7】 請求項6に記載の単離されたポリヌクレオチドにより形質転換または形質移入された組換え生物体で、その生物体が多型変異体塩基配列によりコードされた免疫グロブリンE受容体 I Alpha サブユニット (IGERA) 蛋白質を発現するもの。

【請求項8】 ヒト以外の遺伝子導入動物である請求項7に記載の組換え生物体。

【請求項9】 IGERA 蛋白質あるいはその断片についての参照アミノ酸配列の多型変異体であるアミノ酸配列を含んで成る単離されたポリペプチドであって、その参照アミノ酸配列が配列番号：3を含んで成り、そしてその多型変異体が第5表に示されるハプロタイプの1つにより定義される同質遺伝子 (isogene) によりコードされる、前記ポリペプチド。

【請求項10】 請求項9に記載の単離されたポリペプチドに対して特異的に反応し、其れに対して免疫反応性を持つ単離された抗体。

【請求項11】 IGERA 多型変異体を候補薬剤に接触させ結合活性度を測定する、請求項9に記載の単離されたポリペプチドを標的とした薬剤のスクリーニング方法。

【請求項12】 PS1～22 から選択された多型部位に存在する免疫グロブリンE受容体 I Alpha サブユニット (IGERA) 遺伝子における多型を検出する、少なくとも一つの遺伝子型化ヌクレオチドを含んで成る組成物。

【請求項13】 請求項12に記載の組成物で、遺伝子型決定ヌクレオチドが

、その多型部位を含む領域においてIGERA 遺伝子の対立遺伝子に対して特異的にハイブリダイゼーションする対立遺伝子特異的オリゴヌクレオチドであるもの。

【請求項14】 請求項13に記載の組成物で、対立遺伝子特異的オリゴヌクレオチドが、配列番号：4～47、配列番号：4～47の相補配列、及び配列番号：48～135 から成る群から選択されたヌクレオチド塩基配列から成るもの。

【請求項15】 請求項12に記載の組成物で、遺伝子型決定ヌクレオチドが、プライマー伸張オリゴヌクレオチドであるもの。

【請求項16】 個体に存在するIGERA 遺伝子の二つのコピーについて、PS 1～22 のそれぞれにおけるヌクレオチドペアを決定することを含んで成る、個体の免疫グロブリンE受容体 I Alpha サブユニット (IGERA) の遺伝子型を決定する方法。

【請求項17】 請求項16に記載の方法で、決定ステップが以下の項目を含んでなるもの：

(a) 個体から、その個体に存在するIGERA 遺伝子あるいはその断片の二つのコピーを含んで成る核酸混合物を単離するステップ；

(b) その核酸混合物から、少なくとも一つの多型部位を含む標的領域を増幅するステップ；

(c) プライマー伸張オリゴヌクレオチドをその増幅標的領域の一つの対立遺伝子に対してハイブリダイゼーションさせるステップ；

(d) 核酸テンプレート依存性プライマー伸張反応を、ハイブリダイゼーションされた遺伝子型決定オリゴヌクレオチド上で、少なくとも二つの異なった反応ターミネーターが存在する状態で行うステップで、前記ターミネーターが、その多型部位に存在する択一的ヌクレオチドに対して相補的であるもの；及び

(e) 伸張遺伝子型化オリゴヌクレオチド内のターミネーターの存在とその同定をするステップ。

【請求項18】 ある個体に存在するIGERA 遺伝子の一つのコピーについて、PS 1～22のそれぞれにおけるヌクレオチドを決定することを含んで成る、個体の免疫グロブリンE受容体 I Alpha サブユニット (IGERA) 遺伝子をハプロタイプ化する方法。

【請求項19】 請求項18に記載の方法で、決定ステップが以下の項目を含むもの：

(a) 個体から、その個体に存在するIGERA 遺伝子あるいはその断片の二つのコピーの一つのみから成る核酸分子を単離するステップ；

(b) その核酸分子から、少なくとも一つの多型部位を含む標的領域を増幅するステップ；

(c) プライマー伸張オリゴヌクレオチドをその増幅標的領域の一つの対立遺伝子に対してハイブリダイゼーションさせるステップ；

(d) 核酸テンプレート依存性プライマー伸張反応を、ハイブリダイゼーションされた遺伝子型決定オリゴヌクレオチド上で、少なくとも二つの異なる反応ターミネーターが存在する状態で行うステップで、前記ターミネーターが、その多型部位に存在する択一的ヌクレオチドに対して相補的であるもの；及び

(e) 伸張遺伝子型化オリゴヌクレオチド内のターミネーターの存在とその同定をするステップ。

【請求項20】 ある個体の免疫グロブリンE受容体IAlphaサブユニット(IGERA)遺伝子に対するハプロタイプペアを予測する方法で、以下のステップを含んでなるもの：

(a) PS1~22のそれぞれにおける、その個体に対するIGERA遺伝子型を同定するステップ；

(b) その遺伝子型と矛盾しない全ての可能なハプロタイプペアを列記するステップ；

(c) 前記可能なハプロタイプペアを第4表中のデータと比較するステップ；及び

(d) その個体に対して、第4表中のデータと矛盾しないハプロタイプペアを割り当てるステップ。

【請求項21】 ある形質と免疫グロブリンE受容体IAlphaサブユニット(IGERA)遺伝子の少なくともひとつのハプロタイプあるいはハプロタイプペア間の関連性を同定する方法であって、その形質を呈しているある個体群のハプロタイプあるいはハプロタイプペアの頻度を参照個体群のハプロタイプあるいはハ

プロタイプペアの頻度と比較することを含んで成り、前記ハプロタイプは第5表に示されるハプロタイプ1~20から選択され、そして前記ハプロタイプペアは第4表に示されるハプロタイプペアから選択され、参照個体群に比べて形質個体群におけるハプロタイプあるいはハプロタイプペアの頻度がより高い場合に、その形質がハプロタイプあるいはハプロタイプペアに関連性があることにする前記同定方法。

【請求項22】 請求項21に記載の方法で、形質が、IGERA を標的とした薬剤に対する臨床応答であるもの。

【請求項23】 免疫グロブリンE受容体IAlphaサブユニット遺伝子に対する多型データを保存または分析するコンピュータシステムで、以下の項目を含んでなるもの：

- (a) 中央処理装置 (CPU) ；
- (b) コミュニケーションインターフェース ；
- (c) 表示装置 ；
- (d) 入力装置 ；及び
- (e) 多型データを含むデータベース ；

更に、多型データが、第4表に表示されている遺伝子型及びハプロタイプ、及び第5表に表示されているハプロタイプから成るもの。

【請求項24】 第5表に表示されているハプロタイプ1~20によって定義されるIGERA同質遺伝子から成る、免疫グロブリンE受容体IAlphaサブユニット遺伝子に対するゲノム集。

【請求項25】 個体が第5表に示される1または複数のハプロタイプを有するか否かを決定することを含んで成る、個体の免疫グロブリンE受容体IAlphaサブユニット (IGERA) 遺伝子のハプロタイプの決定方法。

【國際調查報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US00/21097
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
IPC(7) : C12N 15/00, 15/04, 15/13; C07H 21/04; C12Q 1/70 US CL : 436/5, 69.1, 320.1, 440; 536/23.1, 24.1 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : 436/5, 69.1, 320.1, 440; 536/23.1, 24.1		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) US Patents, WPIDS, JAPIO, MEDLINE, CA Plus Terms: IgE, polymorphism, cDNA, polynucleotide		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	PANG, J et al. Characterization of the Gene for the Human High Affinity IgE Receptor (FcεRI) α-Chain. Journal of Immunology. 01 December, 1993. Vol. 151, No. 11, pages 6166-6174. See Entire Document, and GenBank Sequence L14075 which has at least one of the recited polymorphisms: "C at PS2, position 943 of SEQ ID NO: 1."	1-9
X	WO 98/04718 A1 (NOVARTIS AG) 05 February, 1998, see page 56, disclosing a sequence having "A at polymorphic site 741 of SEQ ID NO: 2."	1-9
Y	US 5,770,396 A (KINET) 23 June 1998, see SEQ ID NO: 10, identical to SEQ ID NO: 2.	1-9
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention	
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone	
"E" earlier document published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art	
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"G" document member of the same patent family	
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search 22 JANUARY 2001	Date of mailing of the international search report 08 FEB 2001	
Name and mailing address of the ISA/US Commissioner of Patents and Trademarks Box PCT Washington, D.C. 20231 Facsimile No. (703) 305-3250	Authorized officer <i>Carol Bridges</i> MARY K ZEMAN Telephone No. (703) 308-0195	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No. PCT/US00/21097

C (Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 93/21317 (KINET, J-P) 28 October, 1993, See Claim 5, Fig 1, identity to SEQ ID NO: 2 and 3.	1-9
Y	US 5,639,660 A (KINET et al.) 17 June 1997, See Claim 7, Fig 1, identity to SEQ ID NO: 3.	1-9
Y	Database GenBank on STN, AN Z29585. UNGER et al. 'Expression of the human high affinity IgE receptor alpha chain on monocytic cell lines' 09 February 1994. Disclosure of "T at PS1 of SEQ ID NO: 1."	1-9
Y	Database GenBank on STN, AN X06948, KOCHAN, J.P. 'Direct Submission'. 21 March 1995. Disclosure of "T at PS20 of SEQ ID NO: 1."	1-9
X, P	US 5,945,294 A (FRANK et al.) 31 August 1999, see entire document.	1-9

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US00/21097

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international 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:

2. Claims Nos.:
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:

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:

Please See Extra Sheet.

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.:
1-9

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US00/21097

BOX II. OBSERVATIONS WHERE UNITY OF INVENTION WAS LACKING

This ISA found multiple inventions as follows:

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be searched, the appropriate additional search fees must be paid.

Group I, claim(s) 1-9, drawn to isolated polynucleotides encoding IgE receptor subunit alpha variants, and recombinant organisms comprising those polynucleotides.

Group II, claim(s) 10, 12, drawn to isolated polypeptides of the IgE receptor subunit and a first method of use; screening for drugs targeting the IgE receptor subunit.

Group III, claim(s) 11, drawn to an antibody to the polypeptides of the IgE receptor subunit.

Group IV, claim(s) 13-20, drawn to oligonucleotides and methods of using those oligonucleotides for genotyping and haplotyping.

Group V, claim(s) 21-28, drawn to computer based methods for predicting associations of traits with polymorphisms of the IgE receptor subunit.

The inventions listed as Groups I-V do not relate to a single inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons: isolated polynucleotides encoding the IgE receptor subunit alpha are known in the art. Kinet et al. (USP 5,698,660) discloses DNA encoding the IgE receptor subunit alpha wherein the PS1 is guanosine, and wherein the PS2 is cytosine (See Figure 1A coding region). Leder et al. (USP 4,962,055) also disclose an IgE receptor alpha subunit encoding polynucleotide wherein PS1 is guanosine and PS2 is cytosine, see Figure 4A. Therefore, the isolated polynucleotides encoding the IgE receptor alpha subunit, and its complement, wherein PS1 is guanosine or wherein PS2 is cytosine is not a novel contribution over the art, and those sequences are not a special technical feature so linking all of the inventions.

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マ-コ-ト' (参考)	
C 1 2 Q	1/68	G 0 1 N	33/50	Z
G 0 1 N	33/15		33/53	M
	33/50		33/566	
	33/53	C 1 2 N	15/00	A
	33/566			X

(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

- (72)発明者 デューダ, エイミー
 アメリカ合衆国, コネチカット 06515,
 ニュー ヘブン, マーベル ロード 93
- (72)発明者 クリーム, ステファニー イー.
 アメリカ合衆国, コネチカット 06473,
 ノース ヘブン, ハートフォード ターン
 パイク 1298
- (72)発明者 ランズ, エリザベス エム.
 アメリカ合衆国, コネチカット 06511,
 ニュー ヘブン, ナンバー 54, パーク
 ストリート 111
- (72)発明者 ナンダバラ, クリッシュナン
 アメリカ合衆国, コネチカット 06437,
 ギルフォード, ビレッジ ボンド ロード
 228
- (72)発明者 スティーブンス, ジョエル クレイボーン
 アメリカ合衆国, コネチカット 06437,
 ギルフォード, クラブアップル レーン
 46

Fターム(参考) 2G045 AA40 DA12 DA13 DA14 FB02
4B024 AA01 AA11 BA63 CA01 CA09
CA11 DA02 HA12
4B063 QA01 QA17 QA18 QQ42 QQ52
QR08 QR42 QR55 QR62 QS25
QS31
4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10
CA40 DA50 DA76 EA20 EA50
FA72 FA74

专利名称(译)	药物靶异构体：免疫球蛋白E受体IALPHA亚基基因的多态性		
公开(公告)号	JP2003506074A	公开(公告)日	2003-02-18
申请号	JP2001515799	申请日	2000-08-02
[标]申请(专利权)人(译)	Jenessa ANCE制药公司雷开球德		
申请(专利权)人(译)	Jenessa ANCE制药股份有限公司雷开球德		
[标]发明人	チューアン デントンアールレックス デューダエイミー クリームステファニーイー ランズエリザベスエム ナンダバラクリッシュナン スティーブンスジョエルクレイボーン		
发明人	チュー,アン デントン,アール.レックス デューダ,エイミー クリーム,ステファニー イー. ランズ,エリザベス エム. ナンダバラ,クリッシュナン スティーブンス,ジョエル クレイボーン		
IPC分类号	A01K67/027 C07H21/04 C07K14/705 C07K14/735 C07K16/28 C12N5/06 C12N15/01 C12N15/09 C12P21/02 C12Q1/68 C12Q1/6883 G01N33/15 G01N33/50 G01N33/53 G01N33/566		
CPC分类号	C07K14/70535 C12Q1/6883 C12Q2600/156 C12Q2600/172		
FI分类号	A01K67/027 C07K14/705 C07K16/28 C12Q1/68.A G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.M G01N33/566 C12N15/00.A C12N15/00.X		
F-TERM分类号	2G045/AA40 2G045/DA12 2G045/DA13 2G045/DA14 2G045/FB02 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA63 4B024/CA01 4B024/CA09 4B024/CA11 4B024/DA02 4B024/HA12 4B063/QA01 4B063/QA17 4B063/QA18 4B063/QQ42 4B063/QQ52 4B063/QR08 4B063/QR42 4B063/QR55 4B063/QR62 4B063/QS25 4B063/QS31 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA50 4H045/DA76 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA72 4H045/FA74		
优先权	60/147860 1999-08-09 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

已经描述了由人免疫球蛋白E受体Iα亚基 (IGERA) 基因中22个新的单核苷酸多态性中的一个或多个组成的多核苷酸。还公开了用于检测一个或多个这些多态性的组合物和方法。此外，已经描述了该种群中存在的IGERA基因的各种基因型和单倍型。

個体群	個体群サブグループ	個体数
アフリカ系子孫		20
	シエラレオネ	1
アジア系		20
	ビルマ	1
	中国	3
	日本	6
	韓国	1
	フィリピン	5
	ベトナム	4
白人		22
	イギリス諸島	3
	イギリス諸島／中央	4
	イギリス諸島／東部	1
	中央／東部	1
	東部	3
	中央／地中海	1
	地中海	2
	スカンジナビア	2
ヒスパニック系／ラテンアメリカ系		17
	カリブ系	7
	カリブ系（スペイン系子孫）	2
	中央アメリカ（スペイン系子孫）	1
	メキシコ系アメリカ人	4
	南アメリカ系（スペイン系子孫）	3