

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2015-517801  
(P2015-517801A)

(43) 公表日 平成27年6月25日(2015.6.25)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>C12Q 1/68 (2006.01)</b>	C12Q 1/68	Z N A A 2 G O 4 5
<b>G01N 33/50 (2006.01)</b>	G01N 33/50	P 4 B O 2 4
<b>G01N 33/53 (2006.01)</b>	G01N 33/53	D 4 B O 6 3
<b>G01N 33/15 (2006.01)</b>	G01N 33/15	Z 4 C O 8 4
<b>A61K 38/00 (2006.01)</b>	G01N 33/15	Z

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 151 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2014-561056 (P2014-561056)  
 (86) (22) 出願日 平成25年3月5日 (2013.3.5)  
 (85) 翻訳文提出日 平成26年10月29日 (2014.10.29)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2013/029201  
 (87) 国際公開番号 W02013/134315  
 (87) 国際公開日 平成25年9月12日 (2013.9.12)  
 (31) 優先権主張番号 61/606,935  
 (32) 優先日 平成24年3月5日 (2012.3.5)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 512235921  
 バーグ エルエルシー  
 アメリカ合衆国 37210 テネシー州  
 , ナッシュビル, エルム ヒル パイク  
 1845  
 (74) 代理人 100091096  
 弁理士 平木 祐輔  
 (74) 代理人 100118773  
 弁理士 藤田 節  
 (74) 代理人 100122389  
 弁理士 新井 栄一  
 (74) 代理人 100111741  
 弁理士 田中 夏夫  
 (74) 代理人 100169971  
 弁理士 菊田 尚子

最終頁に続く

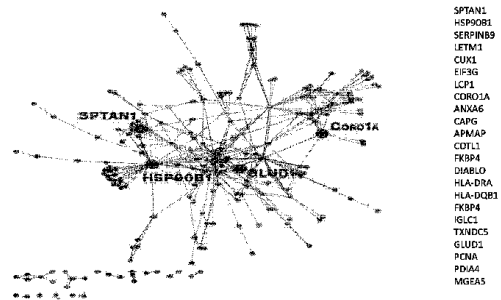
(54) 【発明の名称】 広汎性発達障害の診断および治療のための組成物および方法

(57) 【要約】

ヒトにおける広汎性発達障害の治療および診断のための方法が記載される。

【選択図】 図 1 0

Global Differential Network  
Hubs/Nodes Unique in Autism Versus Normal



**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

被験体が広汎性発達障害に罹患しているかどうかを評価する方法であって、

(1) 前記被験体から得られた生体サンプルにおいて、表 2 ~ 6 に挙げられたマーカーのうち 1 以上の発現レベルを、前記マーカーを前記マーカーが検出できるように変換する試薬を用いて決定すること；

(2) 前記被験体から得られた生体サンプルにおける 1 以上のマーカーの発現レベルを、対照サンプルにおける 1 以上のマーカーの発現レベルと比較すること；および

(3) 前記被験体が広汎性発達障害に罹患しているかどうかを評価し、前記対照サンプルにおける 1 以上のマーカーの発現レベルに比べての、前記被験体から得られた生体サンプルにおける 1 以上のマーカーの発現レベルの変調が、前記被験体が広汎性発達障害に罹患しているという指標となること、  
を含む、方法。

10

**【請求項 2】**

被験体が広汎性発達障害を発症する素因を持つかどうかを予測する方法であって、

(1) 前記被験体から得られた生体サンプル中に存在する、表 2 ~ 6 に挙げられたマーカーのうち 1 以上の発現レベルを、前記マーカーを前記マーカーが検出できるように変換する試薬を用いて決定すること；

(2) 前記被験体から得られた生体サンプル中に存在する 1 以上のマーカーの発現レベルを、対照サンプル中に存在する 1 以上のマーカーの発現レベルと比較すること；および

(3) 前記被験体が広汎性発達障害を発症する素因を持つかどうかを予測し、前記対照サンプルにおける 1 以上のタンパク質の発現レベルに比べての、前記被験体から得られた生体サンプルにおける 1 以上のタンパク質の発現レベルの変調が、前記被験体が広汎性発達障害を発症する素因を持つという指標となること、  
を含む、方法。

20

**【請求項 3】**

被験体において広汎性発達障害の重症度を予測する方法であって、

(1) 前記被験体から得られた生体サンプルにおいて、表 2 ~ 6 に挙げられたマーカーのうち 1 以上の発現レベルを、前記マーカーを前記マーカーが検出できるように変換する試薬を用いて決定すること；

(2) 前記被験体から得られた生体サンプルにおける 1 以上のマーカーの発現レベルを、対照サンプルにおける 1 以上のマーカーの発現レベルと比較すること；および

(3) 前記広汎性発達障害の重症度を評価し、前記対照サンプルにおける 1 以上のマーカーの発現レベルに比べての、前記被験体から得られた生体サンプルにおける 1 以上のマーカーの発現レベルの変調が、前記被験体における広汎性発達障害の重症度の指標となること  
を含む、方法。

30

**【請求項 4】**

被験体において広汎性発達障害または広汎性発達障害の症状の進行をモニタリングするための方法であって、

(1) 第 1 の時点で前記被験体から得られた第 1 の生体サンプル中に存在する、表 2 ~ 6 に挙げられたマーカーのうち 1 以上の発現レベルを、前記マーカーを前記マーカーが検出できるように変換する試薬を用いて決定すること；

(2) その後の第 2 の時点で前記被験体から得られた第 2 の生体サンプル中に存在する、表 2 ~ 6 に挙げられたマーカーのうち 1 以上の発現レベルを、前記マーカーを前記マーカーが検出できるように変換する試薬を用いて決定すること；および

(3) 第 1 の時点で前記被験体から得られた第 1 のサンプル中に存在する、表 2 ~ 6 に挙げられた 1 以上のマーカーの発現レベルを、その後の第 2 の時点で前記被験体から得られた第 2 のサンプル中に存在する 1 以上のマーカーの発現レベルと比較すること；および

(4) 広汎性発達障害の進行をモニタリングし、第 1 のサンプルに比べて第 2 のサン

40

50

ルにおける 1 以上のマーカーの発現レベルの変調が、前記被験体における広汎性発達障害または広汎性発達障害の症状の進行の指標となることを含む、方法。

【請求項 5】

広汎性発達障害に罹患しているまたは広汎性発達障害を発症する素因を持つと同定された被験体のために治療計画を選択することをさらに含む、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

広汎性発達障害に罹患しているまたは広汎性発達障害を発症する素因を持つと同定された被験体に治療計画を投与することをさらに含む、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 7】

広汎性発達障害の進行が軽減、遅延または緩和されると判定された被験体に対して実施中の治療計画の投与を継続することをさらに含む、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 8】

被験体において広汎性発達障害または広汎性発達障害の症状を治療するための治療計画の有効性を評価するための方法であって、

(1) 前記被験体に治療計画の少なくとも一部を投与する前に被験体から得られた第 1 の生体サンプル中に存在する、表 2 ~ 6 に挙げられたマーカーのうち 1 以上の発現レベルを、前記マーカーを前記マーカーが検出できるように変換する試薬を用いて決定すること

20

;

(2) 前記被験体に治療計画の少なくとも一部を投与した後に被験体から得られた第 2 の生体サンプル中に存在する、表 2 ~ 6 に挙げられたマーカーのうち 1 以上の発現レベルを、前記マーカーを前記マーカーが検出できるように変換する試薬を用いて決定すること

;

(3) 前記被験体に治療計画の少なくとも一部を投与する前に被験体から得られた第 1 のサンプル中に存在する、表 2 ~ 6 に挙げられた 1 以上のマーカーの発現レベルを、治療計画の少なくとも一部を投与した後に被験体から得られた第 2 のサンプル中に存在する前記 1 以上のマーカーの発現レベルと比較すること; および

(4) 前記治療計画が広汎性発達障害または広汎性発達障害の症状を治療するために有効であるかどうかを評価し、第 1 のサンプルに比べての第 2 のサンプルにおける前記 1 以上のマーカーの発現レベルの変調が、前記治療計画が前記被験体における広汎性発達障害または広汎性発達障害の症状を治療するために有効であるという指標となること、を含む、方法。

30

【請求項 9】

前記治療計画が広汎性発達障害または広汎性発達障害の症状を治療するために有効であると判定された被験体に対して治療計画の投与を継続すること、または前記治療計画が広汎性発達障害または広汎性発達障害の症状を治療するために有効でないと判定された被験体に対して治療計画の投与を中止することをさらに含む、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

被験体において広汎性発達障害または広汎性発達障害の症状を治療するための化合物を同定する方法であって、

(1) 生体サンプルと試験化合物を接触させること;

(2) 前記生体サンプル中に存在する、表 2 ~ 6 に挙げられた 1 以上のマーカーの発現レベルを決定すること;

(3) 前記生体サンプルにおける 1 以上のマーカーの発現レベルを試験化合物に接触させていない対照サンプルのレベルと比較すること; および

(4) 前記生体サンプルにおける 1 以上のマーカーの発現レベルを変調する試験化合物を選択し、

40

それにより、被験体において広汎性発達障害または広汎性発達障害の症状を治療するた

50

めの化合物を同定すること

を含む、方法。

【請求項 1 1】

前記広汎性発達障害が自閉症スペクトラム障害である、請求項 1 ~ 1 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 2】

前記広汎性発達障害が自閉症障害である、請求項 1 ~ 1 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 3】

前記広汎性発達障害がアルツハイマー病である、請求項 1 ~ 1 0 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 1 4】

前記広汎性発達障害が自閉症およびアルツハイマー病である、請求項 1 ~ 1 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 5】

前記広汎性発達障害がアスペルガー症候群である、請求項 1 ~ 1 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 6】

前記広汎性発達障害が特定不能広汎性発達障害である、請求項 1 ~ 1 0 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 1 7】

前記被験体が広汎性発達障害に罹患している、請求項 1 ~ 1 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 8】

前記被験体が広汎性発達障害の亜症候群性発現を示す、請求項 1 ~ 1 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 9】

前記被験体が広汎性発達障害に罹患している疑いがある、または広汎性発達障害を発症する素因を持つ疑いがある、請求項 1 ~ 1 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 0】

前記 1 以上のマーカーの発現レベルが核酸レベルで決定される、請求項 1 ~ 1 9 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 2 1】

前記 1 以上のマーカーの発現レベルが R N A を検出することにより決定される、請求項 2 0 に記載の方法。

【請求項 2 2】

前記 1 以上のマーカーの発現レベルが m R N A、m i R N A、または h n R N A を検出することにより決定される、請求項 2 0 に記載の方法。

【請求項 2 3】

前記 1 以上のマーカーの発現レベルが D N A を検出することにより決定される、請求項 2 0 に記載の方法。

40

【請求項 2 4】

前記 1 以上のマーカーの発現レベルが c D N A を検出することにより決定される、請求項 2 0 に記載の方法。

【請求項 2 5】

前記 1 以上のマーカーの発現レベルが、ポリメラーゼ連鎖反応 ( P C R ) 増幅反応、逆転写酵素 P C R 解析、定量的逆転写酵素 P C R 解析、ノーザンプロット解析、R N A ーゼ保護アッセイ、デジタル R N A 検出 / 定量、およびそれらの組合せまたは部分的組合せからなる群から選択される技術を使用することにより決定される、請求項 2 0 に記載の方法。

50

## 【請求項 26】

1 以上のマーカーの発現レベルの決定が、抗体を用いてイムノアッセイを行うことを含む、請求項 20 に記載の方法。

## 【請求項 27】

前記 1 以上のマーカーがタンパク質を含む、請求項 1 ~ 19 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 28】

前記タンパク質が前記 1 以上のマーカーのうち少なくとも 1 つと結合する結合タンパク質を用いて検出される、請求項 27 に記載の方法。

## 【請求項 29】

前記結合タンパク質が、前記タンパク質と特異的に結合する抗体またはその抗原結合フラグメントを含む、請求項 27 に記載の方法。

## 【請求項 30】

前記抗体またはその抗原結合フラグメントが、マウス抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、二重特異性抗体、キメラ抗体、Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、scFv、SMIP、アフィボディ、アビマー、パーサボディ、ナノボディ、ドメイン抗体、および上記のいずれかの抗原結合フラグメントからなる群から選択される、請求項 29 に記載の方法。

## 【請求項 31】

前記抗体またはその抗原結合フラグメントが標識を含む、請求項 29 に記載の方法。

## 【請求項 32】

前記標識が放射性標識、ビオチン標識、発色団、蛍光団、および酵素からなる群から選択される、請求項 31 に記載の方法。

## 【請求項 33】

前記 1 以上のマーカーのうち少なくとも 1 つの発現レベルが、イムノアッセイ、ウエスタンブロット解析、ラジオイムノアッセイ、免疫蛍光測定、免疫沈降、平衡透析、免疫拡散、電気化学発光イムノアッセイ (ECLIA)、ELISA アッセイ、ポリメラーゼ連鎖反応、免疫ポリメラーゼ連鎖反応、およびそれらの任意の組合せまたは部分的組合せからなる群から選択される技術を使用することにより決定される、請求項 1 ~ 32 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 34】

前記イムノアッセイが、電気化学発光、化学発光、蛍光化学発光、蛍光偏光、および時間分解蛍光からなる群から選択される溶液に基づくイムノアッセイを含む、請求項 33 に記載の方法。

## 【請求項 35】

前記イムノアッセイが、電気化学発光、化学発光、および蛍光化学発光からなる群から選択されるサンドイッチイムノアッセイを含む、請求項 33 に記載の方法。

## 【請求項 36】

前記サンプルが前記被験体から得られた流体またはその成分を含む、請求項 1 ~ 35 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 37】

前記流体が、血液、血清、滑液、リンパ液、血漿、尿、羊水、眼房水、硝子体液、胆汁、母乳、脳脊髄液、耳垢、乳び、囊胞液、内リンパ液、糞便、胃酸、胃液、粘液、乳頭穿刺液、心膜液、外リンパ液、腹腔液、胸膜液、膿、唾液、皮脂、精液、汗、血清、痰、涙、腔分泌物、および生検から回収された流体からなる群から選択される、請求項 36 に記載の方法。

## 【請求項 38】

前記サンプルが前記被験体から得られた組織もしくは細胞、またはそれらの成分を含む、請求項 1 ~ 37 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 39】

被験体において広汎性発達障害を治療する、その症状を緩和する、その進行を阻害する

10

20

30

40

50

、または予防するための方法であって、それを必要とする被験体に、表 2 ~ 6 に挙げられたマーカーのうち 1 以上を含む医薬組成物の治療上有効な量を投与することを含む、方法。

【請求項 4 0】

被験体において広汎性発達障害を治療する、その症状を緩和する、その進行を阻害する、または予防するための方法であって、それを必要とする被験体に、表 2 ~ 6 に挙げられたマーカーのうち 1 以上の発現または活性を変調する薬剤を含む医薬組成物の治療上有効な量を投与することを含む、方法。

【請求項 4 1】

前記薬剤が表 2 ~ 6 に挙げられたマーカーのうち 1 以上の発現または活性を阻害する、請求項 4 0 に記載の方法。

10

【請求項 4 2】

前記薬剤が表 2 ~ 6 に挙げられたマーカーのうち 1 以上の発現または活性を増強する、請求項 4 0 に記載の方法。

【請求項 4 3】

表 2 ~ 6 に挙げられたマーカーのうち 1 以上の発現または活性を変調する薬剤を同定する方法であって、

- ( 1 ) 前記 1 以上のマーカーと試験薬剤を接触させること、
  - ( 2 ) 前記試験薬剤と接触させた 1 以上のマーカーの発現または活性を検出すること、
  - ( 3 ) 前記試験薬剤と接触させた 1 以上のマーカーの発現または活性を、前記試験薬剤と接触させていない 1 以上のマーカーの発現または活性と比較すること、および
  - ( 4 ) 前記 1 以上のマーカーの発現または活性を変調する薬剤を同定すること
- を含む、方法。

20

【請求項 4 4】

前記薬剤が、表 2 ~ 6 に挙げられた 1 以上のマーカーのうち少なくとも 1 つを下方調節する、請求項 4 3 に記載の方法。

【請求項 4 5】

前記薬剤が、表 2 ~ 6 に挙げられた 1 以上のマーカーのうち少なくとも 1 つを上方調節する、請求項 4 4 に記載の方法。

【請求項 4 6】

被験体において広汎性発達障害を治療する、その症状を緩和する、その進行を阻害する、または予防するための方法であって、それを必要とする被験体に、請求項 4 3 に記載の方法に従って同定された薬剤を含む医薬組成物の治療上有効な量を投与することを含む、方法。

30

【請求項 4 7】

前記被験体がヒト被験体である、請求項 1 ~ 4 6 のいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本願は、ヒトにおける広汎性発達障害の治療および診断のための方法が記載される。

40

【0002】

関連出願の相互参照

本願は、2012年3月5日に提出された「広汎性発達障害の診断および治療のための組成物および方法」という名称の米国仮出願第 61 / 606935 号の優先権を主張するものであり、その全内容は参照により本明細書に組み入れられる。

【0003】

配列表

本願は、E F S - W e b を介して A S C I I フォーマットで提出され、参照によりその全内容が本明細書に組み入れられる配列表を含む。前 2013 年 2 月 28 に作成された A S C I I コピーは、ファイル名 119992-05920\_SL.txt であり、サイズは 1 , 1 4 4 , 0

50

66バイトである。

【背景技術】

【0004】

発明の背景

広汎性発達障害は、重大な公衆衛生問題である。特に自閉症およびアスペルガー症候群などの自閉症スペクトラム障害がこれに当てはまり、これらは広く見られ、幼児期に発症する消耗状態であり、効果的な治療が必要とされる。これらの障害は、よく理解されていない複雑な病因を持つ。

【0005】

自閉症スペクトラム障害は遺伝性が高いが、環境的原因も重要な役割を果たす。一致率は、一卵性双生児では約90%であり、二卵性双生児では約10%である。自閉症スペクトラム障害に関連する特定の遺伝子が同定されているが、自閉症スペクトラム障害が既知の遺伝的素因に関連する場合は原因のうちの約10~15%に過ぎない(Levy, S.E., et al. Lancet 374(9701): 1627-1638 (2010), 以下、Levy et al.とする)。さらに、これらの遺伝的素因に広汎性発達障害の発生に特異的なものはない。

10

【0006】

自閉症スペクトラム障害には、様々な神経学的異常が観察されている。これらの障害は、大頭症；皮質白質の肥大と、前頭葉、側頭葉、および扁桃体などの辺縁構造の異常な成長パターン；ならびに皮質のミニ円柱および小脳における細胞構築上の異常を特徴とする。最近の発見では、自閉症患者の脳がアポトーシスに、ならびに正常な層形成および脳のシナプスの可塑性の維持に、関与するタンパク質の調節不全を示すことが示されている。

20

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0007】

【非特許文献1】Levy, S.E., et al. Lancet 374(9701): 1627-1638 (2010)

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

当技術分野には、広汎性発達障害の治療、予防、軽減、診断および予測の方法の必要性がある。

30

【課題を解決するための手段】

【0009】

発明の概要：

本発明は、少なくとも一部には、表2~6に挙げられたタンパク質が、自閉症またはアルツハイマー病に罹患している被験体に由来する細胞において、正常な対照細胞、例えば、自閉症またはアルツハイマー病に罹患していない被験体に由来する細胞(例えば、罹患被験体の罹患していない兄弟または親に由来する細胞)に比べて変調されている、例えば、上方調節または下方調節されているという発見に基づく。よって、本発明(the prevent invention)は、表2~6に挙げられたタンパク質のうち1以上を含む被験体において広汎性発達障害を治療する、その症状を緩和する、その進行を阻害する、または予防する、診断する、または予測するための方法を提供する。

40

【0010】

具体的には、一態様において、本発明は、被験体が広汎性発達障害に罹患しているかどうかを評価する方法であって、(1)前記被験体から得られた生体サンプルにおいて、表2~6に挙げられたマーカーのうち1以上の発現レベルを、前記マーカーを前記マーカーが検出できるように変換する試薬を用いて決定すること；(2)前記被験体から得られた生体サンプルにおける1以上のマーカーの発現レベルを、対照サンプルにおける1以上のマーカーの発現レベルと比較すること；および(3)前記被験体が広汎性発達障害に罹患しているかどうかを評価し、前記対照サンプルにおける1以上のマーカーの発現レベルに比べての、前記被験体から得られた生体サンプルにおける1以上のマーカーの発現レベル

50

の変調が、前記被験体が広汎性発達障害に罹患しているという指標となることを含む方法を提供する。

【0011】

別の態様において、本発明は、被験体が広汎性発達障害を発症する素因を持つかどうかを予測する方法であって、(1)前記被験体から得られた生体サンプル中に存在する、表2～6に挙げられたマーカーのうち1以上の発現レベルを、前記マーカーを前記マーカーが検出できるように変換する試薬を用いて決定すること；(2)前記被験体から得られた生体サンプル中に存在する1以上のマーカーの発現レベルを、対照サンプル中に存在する1以上のマーカーの発現レベルと比較すること；および(3)前記被験体が広汎性発達障害を発症する素因を持つかどうかを予測し、前記対照サンプルにおける1以上のタンパク質の発現レベルに比べての、前記被験体から得られた生体サンプルにおける1以上のタンパク質の発現レベルの変調が、前記被験体が広汎性発達障害を発症する素因を持つという指標となることを含む方法を提供する。

10

【0012】

別の態様において、本発明は、被験体において広汎性発達障害の重症度を予測する方法であって、(1)前記被験体から得られた生体サンプルにおいて、表2～6に挙げられたマーカーのうち1以上の発現レベルを、前記マーカーを前記マーカーが検出できるように変換する試薬を用いて決定すること；(2)前記被験体から得られた生体サンプルにおける1以上のマーカーの発現レベルを、対照サンプルにおける1以上のマーカーの発現レベルと比較すること；および(3)前記広汎性発達障害の重症度を評価し、前記対照サンプルにおける1以上のマーカーの発現レベルに比べての、前記被験体から得られた生体サンプルにおける1以上のマーカーの発現レベルの変調が、前記被験体における広汎性発達障害の重症度の指標となることを含む方法を提供する。

20

【0013】

いくつかの実施形態では、被験体由来のサンプルにおける1以上のマーカーの発現レベルの、対照サンプルの発現レベルから遠ざかる変調が、例えば少なくとも2倍、3倍、4倍、5倍、10倍、15倍、10倍、30倍、40倍、50倍、100倍またはそれを超えることが、被験体の広汎性発達障害が重症であるという指標となる。いくつかの実施形態では、被験体由来のサンプルにおける1以上のマーカーの発現レベルの変調が、非重症型広汎性発達障害に罹患している被験体由来のサンプルにおける発現レベルよりも対照サンプルにおける発現レベルから遠いことが、被験体の広汎性発達障害が重症であるという指標となる。

30

【0014】

いくつかの実施形態では、被験体由来のサンプルにおける1以上のマーカーの発現レベルの対照サンプルの発現レベルに近づく変調が、例えば少なくとも2倍、3倍、4倍、5倍、10倍、15倍、10倍、30倍、40倍、50倍、100倍またはそれを超えることが、被験体の広汎性発達障害が重症でないという指標となる。いくつかの実施形態では、被験体由来のサンプルにおける1以上のマーカーの発現レベルの変調が、重症型広汎性発達障害に罹患している被験体由来のサンプルにおける発現レベルよりも対照サンプルにおける発現レベルに近いことが、被験体の広汎性発達障害が重症でないという指標となる。

40

【0015】

別の態様において、本発明は、被験体において広汎性発達障害または広汎性発達障害の症状の進行をモニタリングするための方法であって、(1)第1の時点で前記被験体から得られた第1の生体サンプル中に存在する、表2～6に挙げられたマーカーのうち1以上の発現レベルを、前記マーカーを前記マーカーが検出できるように変換する試薬を用いて決定すること；(2)その後の第2の時点で前記被験体から得られた第2の生体サンプル中に存在する、表2～6に挙げられたマーカーのうち1以上の発現レベルを、前記マーカーを前記マーカーが検出できるように変換する試薬を用いて決定すること；および(3)第1の時点で前記被験体から得られた第1のサンプル中に存在する、表2～6に挙げられ

50

た 1 以上のマーカーの発現レベルを、その後の第 2 の時点で前記被験体から得られた第 2 のサンプル中に存在する 1 以上のマーカーの発現レベルと比較すること；および (4) 広汎性発達障害の進行をモニタリングし、第 1 のサンプルに比べて第 2 のサンプルにおける 1 以上のマーカーの発現レベルの変調が、前記被験体における広汎性発達障害または広汎性発達障害の症状の進行の指標となることを含む方法を提供する。

【0016】

一実施形態では、第 2 のサンプルにおける発現レベルの、対照サンプルにおける発現レベルから遠ざかる変調が、例えば第 1 の時点での第 1 のサンプルにおける発現レベルよりも正常または対照発現レベルから遠いことが、被験体における広汎性発達障害または広汎性発達障害の症状の進行の指標となる。

10

【0017】

一実施形態では、第 1 のサンプルに比べて第 2 のサンプルにおける発現レベルに変調がないこと（例えば、第 1 のサンプルと第 2 のサンプルにおける発現レベルがほぼ同じこと）が、被験体において広汎性発達障害または広汎性発達障害の症状が進行していないという指標となる。一実施形態では、第 2 のサンプルにおける発現レベルの、対照サンプル (control samle) における発現レベルに近づく変調、例えば、第 1 の時点での第 1 のサンプルにおける発現レベルよりも正常または対照発現レベルに近いことが、被験体において広汎性発達障害または広汎性発達障害の症状が進行していないという指標となる。

【0018】

一実施形態では、本方法は、広汎性発達障害に罹患しているまたは広汎性発達障害を発症する素因を持つと同定された被験体のために治療計画を選択することをさらに含む。

20

【0019】

一実施形態では、本方法 (methodd) は、広汎性発達障害に罹患しているまたは広汎性発達障害を発症する素因を持つと同定された被験体に治療計画を投与することをさらに含む。

【0020】

一実施形態では、本方法 (methodd) は、広汎性発達障害の進行が軽減、遅延または緩和されると判定された被験体に対して実施中の治療計画の投与を継続することをさらに含む。

【0021】

別の態様において、本発明は、被験体において広汎性発達障害または広汎性発達障害の症状を治療するための治療計画の有効性を評価するための方法であって、

30

(1) 前記被験体に治療計画の少なくとも一部を投与する前に被験体から得られた第 1 の生体サンプル中に存在する、表 2 ~ 6 に挙げられたマーカーのうち 1 以上の発現レベルを、前記マーカーを前記マーカーが検出できるように変換する試薬を用いて決定すること；

(2) 前記被験体に治療計画の少なくとも一部を投与した後に被験体から得られた第 2 の生体サンプル中に存在する、表 2 ~ 6 に挙げられたマーカーのうち 1 以上の発現レベルを、前記マーカーを前記マーカーが検出できるように変換する試薬を用いて決定すること；

40

(3) 前記被験体に治療計画の少なくとも一部を投与する前に被験体から得られた第 1 のサンプル中に存在する、表 2 ~ 6 に挙げられた 1 以上のマーカーの発現レベルを、治療計画の少なくとも一部を投与した後に被験体から得られた第 2 のサンプル中に存在する前記 1 以上のマーカーの発現レベルと比較すること；および

(4) 前記治療計画が広汎性発達障害または広汎性発達障害の症状を治療するために有効であるかどうかを評価し、第 1 のサンプルに比べて第 2 のサンプルにおける前記 1 以上のマーカーの発現レベルの変調が、前記治療計画が前記被験体における広汎性発達障害または広汎性発達障害の症状を治療するために有効であるという指標となることを含む方法を提供する。

【0022】

50

一実施形態では、本方法は、前記治療計画が広汎性発達障害または広汎性発達障害の症状を治療するために有効であると判定された被験体に対して治療計画の投与を継続すること、または前記治療計画が広汎性発達障害または広汎性発達障害の症状を治療するために有効でないと判定された被験体に対して治療計画の投与を中止することをさらに含む。

【0023】

別の態様において、本発明は、被験体において広汎性発達障害または広汎性発達障害の症状を治療するための化合物を同定する方法であって、

(1) 生体サンプルと試験化合物を接触させること；

(2) 前記生体サンプル中に存在する、表2～6に挙げられた1以上のマーカーの発現レベルを決定すること；

(3) 前記生体サンプルにおける1以上のマーカーの発現レベルを試験化合物に接触させていない対照サンプルのレベルと比較すること；および

(4) 前記生体サンプルにおける1以上のマーカーの発現レベルを変調する試験化合物を選択し、それにより、被験体において広汎性発達障害または広汎性発達障害の症状を治療するための化合物を同定すること

を含む方法を提供する。

【0024】

一実施形態では、前記広汎性発達障害は自閉症スペクトラム障害である。

【0025】

一実施形態では、前記広汎性発達障害は自閉症障害である。

【0026】

一実施形態では、前記広汎性発達障害はアルツハイマー病である。

【0027】

一実施形態では、前記広汎性発達障害は自閉症およびアルツハイマー病である。一実施形態では、前記広汎性発達障害は自閉症およびアルツハイマー病であり、前記マーカーは表3に挙げられたマーカーのうち1以上である。

【0028】

一実施形態では、前記広汎性発達障害はアスペルガー症候群である。

【0029】

一実施形態では、前記広汎性発達障害は特定不能広汎性発達障害である。

【0030】

一実施形態では、前記被験体は広汎性発達障害に罹患している。

【0031】

一実施形態では、前記被験体は広汎性発達障害の重症候群性発現を示す。

【0032】

一実施形態では、前記被験体は広汎性発達障害に罹患している疑いがあるか、または広汎性発達障害を発症する素因を持つ疑いがある。

【0033】

一実施形態では、前記被験体から得られたサンプルが、そのサンプルが変換されて表2～6に挙げられたマーカーのうち1以上の発現レベルの決定が可能となるように処理される。

【0034】

一実施形態では、1以上のマーカーの発現レベルは核酸レベルで決定される。

【0035】

一実施形態では、1以上のマーカーの発現レベルは、RNAを検出することにより決定される。一実施形態では、1以上のマーカーの発現レベルは、mRNA、miRNA、またはhnRNAを検出することにより決定される。一実施形態では、1以上のマーカーの発現レベルは、DNAを検出することにより決定される。一実施形態では、1以上のマーカーの発現レベルはcDNAを検出することにより決定される。

【0036】

10

20

30

40

50

一実施形態では、1以上のマーカーの発現レベルは、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)増幅反応、逆転写酵素PCR解析、定量的逆転写酵素PCR解析、ノーザンブロット解析、RNAアーゼ保護アッセイ、デジタルRNA検出/定量化、およびそれらの組合せまたは部分的組合せからなる群から選択される技術を使用することにより決定される。

【0037】

一実施形態では、1以上のマーカーの発現レベルの決定は、抗体を用いてイムノアッセイを行うことを含む。

【0038】

一実施形態では、1以上のマーカーはタンパク質を含む。

【0039】

一実施形態では、前記タンパク質は、1以上のマーカーのうち少なくとも1つと結合する結合タンパク質を用いて検出される。

【0040】

一実施形態では、前記結合タンパク質は、前記タンパク質と特異的に結合する抗体、またはその抗原結合フラグメントを含む。

【0041】

一実施形態では、前記抗体またはその抗原結合フラグメントは、マウス抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、二重特異性抗体、キメラ抗体、Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、scFv、SMIP、アフィボディ、アビマー、バーサボディ(versabody)、ナノボディ、ドメイン抗体、および上記のいずれかの抗原結合フラグメントからなる群から選択される。

【0042】

一実施形態では、前記結合タンパク質は、多重特異性結合タンパク質を含む。

【0043】

一実施形態では、前記多重特異性結合タンパク質は、二重可変ドメイン免疫グロブリン(DVD-IgTM)分子、ハーフハーフボディDVD-Ig(hDVD-Ig)分子、三重可変ドメイン免疫グロブリン(TVD-Ig tDVD-Ig)分子、および受容体可変ドメイン免疫グロブリン(rDVD-Ig)分子を含む。一例として、多重特異性結合タンパク質(例えば、多価DVD-Ig(pDVD-Ig)分子)、モノボディDVD-Ig(mDVD-Ig)分子、クロスオーバー(codDVD-Ig)分子、血液脳関門(bbbDVD-Ig)分子、切断可能リンカーDVD-Ig(clDVD-Ig)分子、またはリダイレクトド(redirected)細胞傷害性DVD-Ig(rcDVD-Ig)分子がある。

【0044】

一実施形態では、前記抗体またはその抗原結合フラグメントは標識を含む。

【0045】

一実施形態では、前記標識は、放射性標識、ビオチン標識、発色団、蛍光団、および酵素からなる群から選択される。

【0046】

一実施形態では、1以上のマーカーのうち少なくとも1つの発現レベルが、イムノアッセイ、ウエスタンブロット解析、ラジオイムノアッセイ、免疫蛍光測定、免疫沈降、平衡透析、免疫拡散、電気化学発光イムノアッセイ(ECLIA)、ELISAアッセイ、ポリメラーゼ連鎖反応、免疫ポリメラーゼ連鎖反応、それらの任意の組合せまたは部分的組合せからなる群から選択される技術を使用することにより決定される。

【0047】

一実施形態では、前記イムノアッセイは、電気化学発光、化学発光、蛍光化学発光、蛍光偏光、および時間分解蛍光からなる群から選択される溶液に基づくイムノアッセイを含む。

【0048】

一実施形態では、前記イムノアッセイは、電気化学発光、化学発光、および蛍光化学発光からなる群から選択されるサンドイッチイムノアッセイを含む。

10

20

30

40

50

## 【0049】

一実施形態では、前記サンプルは、前記被験体から得られた流体、またはその成分を含む。一実施形態では、前記流体は、血液、血清、滑液、リンパ液、血漿、尿、羊水、眼房水、硝子体液、胆汁、母乳、脳脊髄液、耳垢、乳び、囊胞液、内リンパ液、糞便、胃酸、胃液、粘液、乳頭穿刺液、心膜液、外リンパ液、腹腔液、胸膜液、膿、唾液、皮脂、精液、汗、血清、痰、涙、膈分泌物、および生検から回収された流体からなる群から選択される。

## 【0050】

一実施形態では、前記サンプルは、前記被験体から得られた組織もしくは細胞、またはその成分を含む。

10

## 【0051】

別の態様において、本発明は、被験体において広汎性発達障害を治療する、その症状を緩和する、その進行を阻害する、または予防するための方法であって、それを必要とする被験体に、表2～6に挙げられたマーカーのうち1以上を含む医薬組成物の治療上有効な量を投与することを含む方法を提供する。

## 【0052】

別の態様において、本発明は、被験体において広汎性発達障害を治療する、その症状を緩和する、その進行を阻害する、または予防するための方法であって、それを必要とする被験体に、表2～6に挙げられたマーカーのうち1以上の発現または活性を変調する薬剤を含む医薬組成物の治療上有効な量を投与することを含む方法を提供する。

20

## 【0053】

一実施形態では、前記薬剤は、表2～6に挙げられたマーカーのうち1以上の発現または活性を阻害する。

## 【0054】

一実施形態では、前記薬剤は、表2～6に挙げられたマーカーのうち1以上の発現または活性を増強する。

## 【0055】

別の態様において、本発明は、表2～6に挙げられたマーカーのうち1以上の発現または活性を変調する薬剤を同定する方法であって、前記1以上のマーカーと試験薬剤を接触させること、前記試験薬剤と接触させた1以上のマーカーの発現または活性を検出すること、前記試験薬剤と接触させた1以上のマーカーの発現または活性を、対照の活性、例えば、前記試験薬剤と接触させていない1以上のマーカーの発現または活性と比較すること、および前記1以上のマーカーの発現または活性を変調する薬剤を同定することを含む方法を提供する。

30

## 【0056】

一実施形態では、前記薬剤は、表2～6に挙げられた1以上のマーカーのうち少なくとも1つを下方調節する。

## 【0057】

一実施形態では、前記薬剤は、表2～6に挙げられた1以上のマーカーのうち少なくとも1つを上方調節する。

40

## 【0058】

別の態様において、本発明は、被験体において広汎性発達障害を治療する、その症状を緩和する、その進行を阻害する、または予防するための方法であって、それを必要とする被験体に、以上の方法に従って同定された薬剤を含む医薬組成物の治療上有効な量を投与することを含む方法を提供する。

## 【0059】

以上の態様の全ての一実施形態において、被験体はヒト被験体である。

## 【0060】

本発明に記載の発明は、少なくとも一部には、ネットワークバイオロジー、ゲノミクス、プロテオミクス、メタボロミクス、トランスクリプトミクス、およびバイオインフォマ

50

ティクスのツールおよび方法論の新規な協調的利用に基づき、これらを組み合わせた場合、自閉症およびアルツハイマー病などの広汎性発達障害を含む選択された病態を、システムバイオロジー的アプローチを用いて研究するために使用可能である。このプラットフォームテクノロジーの第一段階では、例えば自閉症を含む広汎性発達障害などの疾患過程を調べるために、場合により様々な疾患に関連する環境刺激（例えば、高血糖、低酸素、免疫ストレス、および脂質の過酸化）に曝された疾患関連細胞を含む、細胞モデル系を開発する。いくつかの実施形態では、この細胞モデル系は、様々な相互作用細胞種間の細胞間クロストーク機構を含む。第二段階では、例えば、質量分析（LC/MSMS）、フローサイトメトリー、細胞に基づくアッセイ、および機能アッセイを含む技術の組合せを使用することにより、細胞モデル系からハイスループットバイオロジカルリードアウトを得る。第三段階では、これらのハイスループットバイオロジカルリードアウトに対してバイオインフォマティクス解析を行い、*in vitro*、*in vivo*、および *in silico* モデリングにより一致するデータ傾向を調べる。結果として得られるマトリックスにより相互に関連づけられたデータマイニングが可能となり、ここで、線形および非線形回帰分析を行って、決定的な圧力点（すなわち「ハブ」）を特定する。これらの「ハブ」は、本明細書で示す場合、創薬の候補である。特に、これらのハブは、広汎性発達障害の潜在的薬物標的および/または生物学的マーカーに相当する。

10

#### 【0061】

疾患（例えば、広汎性発達障害）と正常表現型との間の違いの分子シグネチャーは、疾患の発症および進行に至る機序への洞察を可能とする。これらのことを考え合わせると、上記のプラットフォームテクノロジーと戦略的細胞モデリングの組合せにより、臨床面で標準治療を増強し得るバイオマーカーライブラリーと薬物候補を同時に創出するとともに、この疾患のさらなる理解に利用することができるロバストな知能が見込める。

20

#### 【0062】

本発明のプラットフォームの重要な特徴は、AIベースシステムが、生物学的プロセスに関して、既知の生物学的関係などの当技術分野のいずれの既存の知識にも頼らず、または考慮することなく（すなわち、人工的なデータ点が全くない）、細胞モデル系から得られたデータセットに基づくということである。よって、プラットフォームから生成された結果としての統計モデルには偏りが無い。本発明のプラットフォームおよびその構成要素、例えば、細胞モデル系およびそれから得られるデータセットのもう1つの重要な特徴は、広汎性発達障害、例えば自閉症に関して細胞モデルから生成した最初の「第一世代」コンセンサス因果関係ネットワークが、細胞モデルそれ自体の進化とともに複数世代因果関係ネットワーク（およびそれから得られるデルタまたはデルタ-デルタネットワーク）へと進化できるように、細胞モデルでの経時的な継続的構築を可能とする（例えば、新たな細胞および/または条件の導入による）ということである。このように、両細胞モデル、前記細胞モデルからのデータセット、および本プラットフォームテクノロジー法を使用することにより前記細胞モデルから生成した因果関係ネットワークは絶えず進化し、本プラットフォームテクノロジーから得られたそれまでの知識の上に構築することができる。

30

#### 【0063】

よって、一態様において、本発明は、疾患過程、例えば、広汎性発達障害の調節因子を同定するための方法であって、（1）疾患過程、例えば、広汎性発達障害の特徴的様相を呈するように、疾患関連細胞、例えば、広汎性発達障害に関連する細胞を用いて、疾患過程、例えば、広汎性発達障害の疾患モデルを確立すること；（2）疾患モデルから第1のデータセットを得ること、ここで、第1のデータセットは疾患関連細胞における複数の遺伝子の発現レベルを表す、；（3）任意選択により、疾患モデルから第2のデータセットを得ること、ここで、第2のデータセットは疾患関連細胞の機能活性または細胞応答を表す；（4）プログラムされたコンピューターデバイスを用い、第1のデータセットおよび任意選択により第2のデータセットだけに基づく複数の遺伝子の発現レベルおよび/または機能活性もしくは細胞応答間のコンセンサス因果関係ネットワークを生成すること、ここで、前記コンセンサス因果関係ネットワークの生成は、第1のデータセットおよび第2

40

50

のデータセット以外のいずれの既知の生物学的関係にも基づかない；(5)前記コンセンサス因果関係ネットワークから、疾患過程(例えば、広汎性発達障害)にユニークな因果関係を特定すること、ここで、ユニークな因果関係に関連する遺伝子は疾患過程(例えば、広汎性発達障害)の調節因子として同定される、を含む方法を提供する。

【0064】

特定の実施形態では、前記疾患過程は広汎性発達障害である。

【0065】

特定の実施形態では、前記疾患過程は自閉症または自閉症スペクトラム障害である。

【0066】

特定の実施形態では、前記調節因子は前記疾患過程を刺激または促進する。

10

【0067】

特定の実施形態では、前記調節因子は前記疾患過程を阻害する。

【0068】

特定の実施形態では、前記調節因子は、特に罹患細胞におけるエネルギー代謝経路を解糖経路から酸化的リン酸化経路に転じる。

【0069】

特定の実施形態では、前記疾患モデルは、罹患細胞の *in vitro* 培養物を含み、任意選択により、対照または正常細胞のマッチング *in vitro* 培養物をさらに含む。

【0070】

特定の実施形態では、罹患細胞の *in vitro* 培養物は環境摂動に曝され、マッチング対照細胞の *in vitro* 培養物は、環境摂動に曝されない同一の罹患細胞である。

20

【0071】

特定の実施形態では、環境摂動は、薬剤との接触、培養条件の変更、遺伝子改変/突然変異の導入、および遺伝子改変/突然変異を引き起こす伝達体(例えば、ベクター)のうち1以上を含む。

【0072】

特定の実施形態では、第1のデータセットは、複数の遺伝子のタンパク質および/または mRNA 発現レベルを含む。

30

【0073】

特定の実施形態では、第1のデータセットは、リポミクスデータ、メタボロミクスデータ、トランスクリプトミクスデータ、および一塩基多型(SNP)データのうち1以上をさらに含む。

【0074】

特定の実施形態では、第2のデータセットは、生体エネルギー論的プロファイリング、細胞増殖、アポトーシス、オルガネラ機能、ならびに ATP、ROS、OXPHOS、および Seahorse アッセイから選択される機能モデルにより具現化される遺伝子型と表現型の関連のうち1以上を含む。

【0075】

特定の実施形態では、工程(4)は、人工知能(AI)ベースのインフォマティクスプラットフォームにより行われる。

40

【0076】

特定の実施形態では、AIベースインフォマティクスプラットフォームは REFS(TM)を含む。

【0077】

特定の実施形態では、AIベースインフォマティクスプラットフォームは、統計的カットオフ点を設けずに、第1のデータセットおよび第2のデータセットからの全データ入力を受け取る。

【0078】

50

特定の実施形態では、工程（４）で確立されたコンセンサス因果関係ネットワークは、コンセンサス因果関係ネットワーク内の１以上の因果関係に関する予測の信頼水準を得るために、工程（５）の前に、入力データに基づく *in silico* シミュレーションによってシミュレーション因果関係ネットワークへとさらに精密化される。

【００７９】

特定の実施形態では、ユニークな因果関係は、罹患細胞中にユニークに存在するがマッチング対照細胞には存在しないディファレンシャル因果関係ネットワークの一部として同定される。

【００８０】

特定の実施形態では、本方法は、同定されたユニークな因果関係を生物学的システムにおいてバリデートすることをさらに含む。

10

【００８１】

別の態様において、本発明は、プラットフォーム法において使用するための広汎性発達障害の疾患モデルを提供するための方法であって、広汎性発達障害の特徴的様相を呈するように、疾患関連細胞、例えば、広汎性発達障害に関連する細胞を用いて、広汎性発達障害の疾患モデルを確立すること、ここで、前記広汎性発達障害の疾患モデルは、本プラットフォーム法において使用される疾患モデルデータセットを生成するために有用である；それにより、プラットフォーム法において使用するための広汎性発達障害の疾患モデルを提供することを含む方法に関する。

【００８２】

20

別の態様において、本発明は、プラットフォーム法において使用するための広汎性発達障害の疾患モデルから第１のデータセットおよび第２のデータセットを得るための方法であって、（１）プラットフォーム法において使用するための広汎性発達障害の疾患モデルから第１のデータセットを得ること、ここで、前記疾患モデルは、疾患関連細胞、例えば、広汎性発達障害に関連する細胞を含み、かつ、第１のデータセットは疾患関連細胞における複数の遺伝子の発現レベルを表す；（２）任意選択により、プラットフォーム法において使用するための疾患モデルから第２のデータセットを得ること、ここで、第２のデータセットは、疾患関連細胞の機能活性または細胞応答を表す；それにより、広汎性発達障害の疾患モデルから第１のデータセットおよび第２のデータセットを得ること；それにより、プラットフォーム法において使用するための広汎性発達障害の疾患モデルから第１の

30

【００８３】

別の態様において、本発明は、広汎性発達障害の調節因子を同定するための方法であって、（１）プログラムされたコンピューターデバイスを用いて、広汎性発達障害の疾患モデルから得られた第１のデータセットおよび任意選択により第２のデータセット間のコンセンサス因果関係ネットワークを生成すること、ここで、前記広汎性発達障害の疾患モデルは、罹患細胞、例えば、広汎性発達障害に関連する細胞を含み、かつ、第１のデータセットは疾患関連細胞における複数の遺伝子の発現レベルを表し、第２のデータセットは疾患関連細胞の機能活性または細胞応答を表し、またここで、前記コンセンサス因果関係ネットワークの生成は、第１のデータセットおよび第２のデータセット以外のいずれの既知の生物学的関係にも基づかない；（２）前記コンセンサス因果関係ネットワークから、広汎性発達障害においてユニークな因果関係を同定すること、ここで、ユニークな因果関係と関連づけられた遺伝子は、広汎性発達障害の調節因子と同定される；それにより、広汎性発達障害の調節因子を同定することを含む方法に関する。

40

【００８４】

別の態様において、本発明は、広汎性発達障害の調節因子を同定するための方法であって、１）広汎性発達障害の疾患モデルから生成したコンセンサス因果関係ネットワークを準備すること；２）前記コンセンサス因果関係ネットワークから、広汎性発達障害においてユニークな因果関係を同定すること、ここで、ユニークな因果関係と関連づけられた遺伝子は広汎性発達障害の調節因子と同定される；それにより、広汎性発達障害の調節因子

50

を同定することを含む方法に関する。

【0085】

特定の実施形態では、前記コンセンサス因果関係ネットワークは、プログラムされたコンピュータデバイスを用いて、広汎性発達障害の疾患モデルから得られた第1のデータセットおよび第2のデータセット間で生成され、ここで、前記疾患モデルは、罹患細胞、例えば、広汎性発達障害に関連する細胞を含み、かつ、第1のデータセットは疾患関連細胞における複数の遺伝子の発現レベルを表し、第2のデータセットは疾患関連細胞の機能活性または細胞応答を表し、またここで、前記コンセンサス因果関係ネットワークの生成は、第1のデータセットおよび第2のデータセット以外のいずれの既知の生物学的関係にも基づかない。

10

【0086】

特定の実施形態では、前記疾患過程は広汎性発達障害である。

【0087】

特定の実施形態では、前記疾患過程は自閉症または自閉症スペクトラム障害である。

【0088】

特定の実施形態では、前記調節因子は前記疾患過程を刺激または促進する。

【0089】

特定の実施形態では、前記調節因子は前記疾患過程を阻害する。

【0090】

特定の実施形態では、前記調節因子は、特に罹患細胞におけるエネルギー代謝経路を解糖経路から酸化的リン酸化経路に転じる。

20

【0091】

特定の実施形態では、前記疾患モデルは、罹患細胞の *in vitro* 培養物を含み、任意選択により、対照または正常細胞のマッチング *in vitro* 培養物をさらに含む。

【0092】

特定の実施形態では、罹患細胞の *in vitro* 培養物は環境摂動に曝され、マッチング対照細胞の *in vitro* 培養物は、環境摂動に曝されない同一の罹患細胞である。

【0093】

特定の実施形態では、環境摂動は、薬剤との接触、培養条件の変更、遺伝子改変/突然変異の導入、および遺伝子改変/突然変異を引き起こす伝達体(例えば、ベクター)のうち1以上を含む。

30

【0094】

特定の実施形態では、第1のデータセットは、複数の遺伝子のタンパク質および/または mRNA 発現レベルを含む。

【0095】

特定の実施形態では、第1のデータセットは、リピドミクスデータ、メタボロミクスデータ、トランスクリプトミクスデータ、および一塩基多型(SNP)データのうち1以上をさらに含む。

40

【0096】

特定の実施形態では、第2のデータセットは、生体エネルギー論的プロファイリング、細胞増殖、アポトーシス、オルガネラ機能、ならびに ATP、ROS、OXPHOS、および Seahorse アッセイから選択される機能モデルにより具現化される遺伝子型と表現型の関連のうち1以上を含む。

【0097】

特定の実施形態では、工程(4)は、人工知能(AI)ベースインフォマティクスプラットフォームにより行われる。

【0098】

特定の実施形態では、AIベースインフォマティクスプラットフォームは REFS (T

50

M)を含む。

【0099】

特定の実施形態では、AIベースインフォマティクスプラットフォームは、統計的カットオフ点を設けずに、第1のデータセットおよび第2のデータセットからの全データ入力を受け取る。

【0100】

特定の実施形態では、工程(4)で確立されたコンセンサス因果関係ネットワークは、コンセンサス因果関係ネットワーク内の1以上の因果関係に関する予測の信頼水準を得るために、工程(5)の前に、入力データに基づくin silicoシミュレーションによってシミュレーション因果関係ネットワークへとさらに精密化される。

10

【0101】

特定の実施形態では、ユニークな因果関係は、罹患細胞中にユニークに存在するがマッチング対照細胞には存在しないディファレンシャル因果関係ネットワークの一部として同定される。

【0102】

特定の実施形態では、本方法は、同定されたユニークな因果関係を生物学的システムにおいてバリデートすることをさらに含む。

【0103】

特定の実施形態では、「環境摂動」(本明細書では「外部刺激成分」とも呼ばれる)は、治療薬である。特定の実施形態では、外部刺激成分は、低分子(例えば、5 kDa、4 kDa、3 kDa、2 kDa、1 kDa、500ダルトン、または250ダルトンを超えない低分子)である。特定の実施形態では、外部刺激成分は生物製剤である。特定の実施形態では、外部刺激成分は化学物質である。特定の実施形態では、外部刺激成分は細胞に対して内因性または外因性である。特定の実施形態では、外部刺激成分はMIMまたはエピシフター(epishifter)である。特定の実施形態では、外部刺激成分は、低酸素状態、高血糖状態、高脂血症状態、高インスリン血症状態、および/または乳酸富化状態などの、細胞系にとってのストレス因子である。

20

【0104】

特定の実施形態では、外部刺激成分は、化学療法薬、タンパク質に基づく生物製剤、抗体、融合タンパク質、低分子薬、脂質、多糖、核酸などを含む、病態を治療するための治療薬または候補治療薬を含み得る。

30

【0105】

特定の実施形態では、外部刺激成分は、in vivoにおいて低酸素状態、高血糖状態、酸性環境(乳酸処置により模倣できる)などを含む様々な病態下で一般に直面するものなどの1以上のストレス因子であり得る。

【0106】

他の実施形態では、外部刺激成分は、本明細書の以下に定義されるように、1以上のMIMおよび/またはエピシフターを含み得る。MIMおよびエピシフターは、米国特許出願第12/777902号、同第12/778029号、同第12/778054号、および同第12/778010号にさらに記載されており、これらの全内容は参照により本明細書に明示的に組み入れられる。例示的なMIMとしては、補酵素Q10(本明細書ではCoQ10とも呼ばれる)、ビタミンB群の化合物、またはビタミンB群の化合物を含むヌクレオシド、モノヌクレオチドもしくはジヌクレオチド、ビタミンD2、ビタミンD3、1,25-(OH)<sub>2</sub>-ビタミンD2および1,25-(OH)<sub>2</sub>-ビタミンD3が挙げられる。

40

【0107】

細胞出力(例えば、タンパク質発現)の測定を行うにあたっては、絶対量(例えば、発現量)または相対レベル(例えば、相対発現レベル)のいずれかを使用できる。一実施形態では、絶対量(例えば、発現量)が使用される。一実施形態では、相対レベルまたは量(例えば、相対発現レベル)が使用される。例えば、細胞系の相対的タンパク質発現レベ

50

ルを決定するためには、細胞系に外部刺激を加えた場合または加えない場合の、その細胞系の任意のあるタンパク質の量を、好適な対照細胞株または細胞株混合物（同じ実験に使用した全細胞など）と比較し、増加倍率または減少倍率の値を得ればよい。当業者ならば、絶対量または相対量は、本明細書に記載のように、遺伝子および/またはRNA転写レベル、脂質レベル、あるいは任意の機能的アウトプット、例えば、アポトーシスレベル、毒性レベル、またはECARもしくはOCRなどの任意の細胞出力測定に使用可能であることを認識するであろう。増加倍率に関する所定の閾値レベル（例えば、少なくとも1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、50、75または100またはそれを超える倍率での増加）または減少倍率に関する所定の閾値レベル（例えば、少なくとも0.9、0.8、0.75、0.7、0.6、0.5、0.45、0.4、0.35、0.3、0.25、0.2、0.15、0.1もしくは0.05倍への減少、または90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%または5%もしくはそれ未満への減少）を用いて有意差を選択することができ、次に、これらの有意差に対する細胞出力データを発明のプラットフォームテクノロジー法に用いるデータセット（例えば、第1および第2のデータセット）に含めることができる。当業者ならば、前記のリストに示された全ての値が、例えば、1.5～5倍の間、5～10倍の間、2～5倍の間、または0.9～0.7倍の間、0.9～0.5倍の間、もしくは0.7～0.3倍の間などといったように、範囲の上限にも下限にもなり得、これらは本発明の一部であると見なされることを認識するであろう。

#### 【0108】

本願を通して、リストに示されている全ての値（例えば、上記のもの）は、本発明の一部と見なされる範囲の上限にも下限にもなり得る。

#### 【0109】

本発明の方法の一実施形態では、因果関係ネットワークにおいて見られた因果関係の全てが生物学的に有意であり得るわけではない。主題のインタロガティブ・バイオリジカル・アセスメント(interrogative biological assessment)が適用される任意のある生物学的システムに関して、因果関係（およびそれに関連づけられた遺伝子）のうちのいくつか（あるいは全てかもしれない）が、検討中の特定の生物学的課題に関する「決定因」となり得、例えば、病態を引き起こす原因（治療介入の潜在的標的）であるか、または病態のバイオマーカー（潜在的診断因子または予測因子）であるかのいずれかである。一実施形態では、その生物学的システムにおいて見られたユニークな因果関係は、検討中の特定の生物学的課題に関する決定因である。一実施形態では、その生物学的システムにおいて見られたユニークな因果関係の全てが、検討中の特定の課題に関する決定因となるわけではない。

#### 【0110】

このような決定的因果関係は主題の方法のエンドユーザーにより選択されてもよいし、またはREFS、DAVID対応比較経路解析プログラム、またはKEGG経路解析プログラムなどのバイオインフォマティクスソフトウェアプログラムにより選択されてもよい。特定の実施形態では、2つ以上のバイオインフォマティクスソフトウェアプログラムが使用され、2つ以上のバイオインフォマティクスソフトウェアプログラムからコンセンサス結果が得られることが好ましい。

#### 【0111】

本明細書で使用する場合、細胞出力の「差異」は、細胞出力の任意の1以上のパラメータにおける違い（例えば、レベルの上昇または低下）を含む。特定の実施形態では、これらの差異はそれぞれ独立に、mRNA転写、タンパク質発現、タンパク質活性、代謝産物/中間体レベル、および/またはリガンドと標的の相互作用における差異からなる群から選択される。例えば、タンパク質発現レベルに関しては、外部刺激成分による処理前後の細胞系と関連づけられた出力などの2つの細胞出力間の差異を、質量分析に基づくアッ

セイ（例えば、i T R A Q、2 D - L C - M S M S など）のような、当技術分野において承認されている技術を使用することにより測定および定量することができる。

【図面の簡単な説明】

【0112】

【図1】「オミクス(Omics)」カスケードの例示。

【図2】インタロガティブ・バイオロジー（登録商標）プラットフォームの例示。

【図3】インタロガティブ・バイオロジー（登録商標）プラットフォームの例示。

【図4】A～Dは例示的实施形態とともに使用可能なAIベースインフォマティクスシステムの構成要素およびプロセスの高レベル概略図。

【図5】いくつかの例示的实施形態とともに使用可能なAIベースインフォマティクスシステムのプロセスのフローチャート。

【図6】本明細書で教示される例示的实施形態の実施に好適な例示的コンピューター環境を表す概略図。

【図7】いくつかの実施形態に従う例示的方法のコレベルフローチャート。

【図8】自閉症の新規バイオマーカーの同定のための実験アプローチの例示。

【図9】自閉症の新規バイオマーカーの同定のための実験サンプルの供給源の例示。

【図10】正常サンプルに対して自閉症にユニークなハブ/ノードを有するグローバルデファイレンシャルネットワーク。

【図11】自閉症およびアルツハイマー病に共通の「病態」により駆動される分子実体のネットワーク。

【図12】自閉症における例示的原因分子相互作用ネットワーク。

【図13】自閉症相互作用ネットワークにおける決定的なハブとしてのSPTAN1を有する例示的サブネットワーク。

【図14】自閉症相互作用ネットワークにおける決定的なハブとしてのGLUD1を有する例示的サブネットワーク。

【図15】自閉症相互作用ネットワークにおける決定的なハブとしてのCORO1Aを有する例示的サブネットワーク。

【発明を実施するための形態】

【0113】

発明の詳細な説明

自閉症スペクトラム障害（ASD）は、一群の重篤かつ不可解な神経行動障害を含む広汎性発達障害である。自閉症は、複雑な神経発達障害である。この疾患の主な特徴は、社会的スキルの障害、コミュニケーション困難、および限定的/反復的行動である。現在、自閉症は3番目に多い発達障害である。自閉症と診断された小児の数は劇的に増えており、今や流行と見なされ、現在の罹患率は小児110人に1人であり、男女比は4：1である。自閉症は患者の寿命に影響を及ぼすわけではないが、生涯にわたる障害となり得る。ASDは、遺伝子の突然変異および/または欠失、ミトコンドリア機能不全、免疫、食事、水銀中毒およびウイルス感染を含む、多くの疑わしい原因を持つ。興味深いことに、ミトコンドリア機能不全は、疾患の病態生理学に重要な役割を果たすことが示されている。多因子性疾患として、自閉症は1つのスペクトラム下でも極めて多様な患者集団を持つ。疾患の基礎にある分子機構の理解が不十分なために、現行の診断は観察行動変数に基づいており、特に自閉症を治療するために承認された薬物は無い。現在、診断のために臨床状況で使用される、確立された分子シグネチャーまたはエンドポイントは無い。個々の患者の自閉症を確実に診断するためにバリデートされた生物学的マーカーも無い。従って、ASDに関する生物学的マーカーが存在しないことが、診断を仲介するため、また、この障害の治療および/または予防用の薬物を開発するための主要なボトルネックとなる。

【0114】

これまでに、自閉症のゲノミクス/ジェネティクス研究には多大な努力がなされて来た。しかしながら、現在のところ、パ利用可能なリデートされたバイオマーカーは無く、臨床家を助けるために行える客観的な臨床検査も無く、自閉症の小児とその家族を助ける有

10

20

30

40

50

望な治療も無い。このように進展が無いのは、単にジェネティクス/ゲノミクス研究を行うだけでは、この疾患の基礎にある分子機構の全体的な理解が失われるという事実のためであると思われる。自閉症表現型の背後にある生物学のシステムの包括的理解を得るためには、インタラクトームを含め、あらゆるオミクスレベル（例えば、ゲノミクス、プロテオミクスなど）で示差的な分子変化を調べる必要があり得る。

#### 【0115】

よって、出願者らは、本明細書で、インタロガティブ・ディスカバリー・プラットフォーム・テクノロジー(Interrogative Discovery Platform Technology)において細胞生物学の力とマルチオミクスプラットフォーム(multi-omics platforms)を組み合わせた新規なアプローチを記載し、使用する。インタロガティブ・プラットフォーム・テクノロジーは、データマイニングを行い、バイオモデルを構築するために、データ駆動型推論に基づく人工知能(AI)を用い、*in vitro*研究および/または*in vivo*研究/臨床研究からデータを統合する。プラットフォームテクノロジーに使用される様々な「オミクス」カスケードを表す概略図を図1に示す。インタロガティブ・ディスカバリー・プラットフォーム・テクノロジーの概略図を図2~3に示す。このインタロガティブ・プラットフォーム・テクノロジーは出願第PCT/US2012/027615号にさらに記載され、その全内容は参照により明示的に本明細書に組み入れられる。本プラットフォームテクノロジーを広汎性発達障害の細胞モデル系に適用したところ、広汎性発達障害の病態生理学の機序に洞察が得られ、候補バイオマーカーならびに潜在的治療標的および/または療法/薬物が作製された。このプラットフォームテクノロジーを使用することにより同定された候補薬物/薬物標的は天然にヒト身体に存在し、従って、外因性治療薬の毒性作用が避けられる。

10

20

#### 【0116】

##### I. 定義

本明細書で使用する場合、本節においてそれと関連づけられている意味を有する。

#### 【0117】

冠詞「a」および「an」は、本発明では、1または2以上(すなわち、少なくとも1つ)の、その冠詞の文法上の目的語を意味して使用される。例として、「an element」は、1つの要素または2以上の要素を意味する。

#### 【0118】

「含む」という用語は、本明細書において、「限定されるものではない~を含む」を意味して使用され、その句と互換的に使用される。

30

#### 【0119】

「または」という用語は、本明細書において、文脈がそれではないことを明示しない限り、「および/または」を意味して使用され、その用語を互換的に使用される。

#### 【0120】

「などの」という用語は、本明細書において、「限定されるものではないが~など」を意味して使用され、その句と互換的に使用される。

#### 【0121】

本明細書で使用する場合、「被験体」または「患者」という用語は、ヒトおよび非ヒト動物のいずれか、例えば、獣医学的患者、好ましくは、哺乳動物を意味する。「非ヒト動物」という用語には、脊椎動物、例えば、非ヒト霊長類、マウス、齧歯類、ウサギ、ヒツジ、イヌ、ネコ、ウマ、ウシ、ヒツジ、イヌ、ネコ、ウマまたはウシ種などの哺乳動物が含まれる。一実施形態では、被験体はヒト(例えば、広汎性発達障害を有するヒト)である。本明細書記載の臨床所見はヒト被験体で得られたことを注記しておくべきであり、少なくともいくつかの実施形態では、被験体はヒトである。

40

#### 【0122】

「治療上有効な量」とは、疾患を治療するために患者に投与した際に、そのような疾患の治療を果たすのに十分な化合物の量、例えば、いずれの治療にも適用可能な合理的利益/リスク比で望ましい何らかの局所または全身作用をもたらす、そのような物質の量を意

50

味する。疾患を予防するために投与する場合、この量は疾患の発症を回避するまたは遅延させるのに十分なものである。「治療上有効な量」は、化合物、その治療係数、溶解度、疾患およびその重症度、ならびに治療される患者の年齢、体重などによって異なる。例えば、本発明の方法により発見された特定の化合物は、このような治療に適用可能な合理的利益/リスク比をもたらすのに十分な量で投与することができる。

【0123】

「予防する」または「予防」とは、疾患または障害を獲得するリスクの軽減（すなわち、その疾患に曝された可能性があるか、または素因を持ち得るが、まだその疾患を被っていないか、またはその症状を呈していない患者においてその疾患の臨床症状のうちの少なくとも1つを発症させないこと）を意味する。

10

【0124】

「予防的」または「治療的」処置という用語は、被験体への1以上の対象組成物の投与を意味する。それが望ましくない病態（例えば、宿主動物の疾患またはその他の望ましくない状態）の臨床発現前に投与される場合には、その処置は予防であり、すなわち、それは望ましくない病態の発症から宿主を保護し、一方、望ましくない病態の発現後に投与される場合には、その処置は治療である（すなわち、既存の望ましくない病態またはそれからの副作用を軽減、改善または維持することが意図される）。

【0125】

「治療効果」という用語は、動物、特に哺乳動物、より詳しくは、ヒトにおいて、薬理的に活性な物質により引き起こされる局所的または全身的な効果を意味する。よって、この用語は、動物またはヒトにおいて、疾患の診断、治療、緩和、治療もしくは予防、または望ましい身体的もしくは精神的発達および状態の増進における使用を意図したいずれの物質も意味する。

20

【0126】

「患者」とは、ウマ、イヌ、ネコ、ブタ、ヤギ、ウサギ、ハムスター、サル、モルモット、ラット、マウス、トカゲ、ヘビ、ヒツジ、ウシ、魚類、および鳥類を含む、いずれの動物（例えば、ヒトまたは非ヒト哺乳動物）も意味する。

【0127】

「マーカー」または「バイオマーカー」という用語は、本明細書において、生物学的状態の指標として使用される物質、例えば、遺伝子、メッセンジャーRNA（mRNA）、マイクロRNA（miRNA）；異種核RNA（hnRNA）、およびタンパク質、またはそれらの一部を意味して互換的に使用される。

30

【0128】

「発現レベル」または「発現パターン」とは、標品または対照との比較など、被験体における1以上のマーカーまたはバイオマーカーの発現の定量的または定性的一覧を意味する。

【0129】

「より高い発現レベル」、「より高い活性レベル」、「発現レベルの増強」または「活性レベルの増強」とは、試験サンプルにおける発現レベルおよび/または活性が、発現および/または活性を評価するために用いたアッセイの標準誤差よりも大きいこと、好ましくは、対照サンプル（例えば、広汎性発達障害に罹患していない健常な被験体由来のサンプル）におけるマーカーの発現レベルおよび/または活性の、好ましくは、複数の対照サンプルにおけるマーカーの平均発現レベルおよび/または活性の、少なくとも2倍、より好ましくは、3倍、4倍、5倍もしくは10倍またはそれを超える倍率であることを意味する。

40

【0130】

「より低い発現レベル」、「低い活性レベル」、「発現レベルの低下」または「活性レベルの低下」とは、試験サンプルの発現レベルおよび/または活性が、発現および/または活性を評価するために用いたアッセイの標準誤差よりも大きいこと、好ましくは、対照サンプル（例えば、マーカーの予測能のパリテーション標準として用いる、追跡調査情報

50

を有する広汎性発達障害パネルに対して直接または間接的に較正されたサンプル)におけるマーカーの発現レベル、好ましくは、複数の対照サンプルにおけるマーカーの平均発現レベルおよび/または活性の、せいぜい2分の1、より好ましくは、3分の1、4分の1、5分の1もしくは10分の1またはそれより小さい分数であることを意味する。

#### 【0131】

本明細書で使用する場合、「抗体」とは、例として、天然型の抗体(例えば、IgG、IgA、IgM、IgE)および組換え抗体、例えば、一本鎖抗体、キメラおよびヒト化抗体および多重特異性抗体、ならびに上記のもの全てのフラグメントおよび誘導体(これらのフラグメントおよび誘導体は少なくとも抗原結合部位を有する)が挙げられる。抗体誘導体は、抗体に結合されたタンパク質または化学部分を含み得る。

10

#### 【0132】

遺伝子としては、被験体に見られ得る、遺伝子の野生型、多型または対立遺伝子変異体または突然変異体(例えば、生殖細胞系突然変異、体細胞突然変異)を含む、天然型または内在型の遺伝子を包含する。ある実施形態では、バイオマーカー遺伝子の配列は、表2~6に挙げられたマーカーの配列と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%同一である。配列同一性は、例えば、NCBI BLAST(例えば、デフォルトパラメーターを用いたMegaBLAST)を用いて配列を比較することにより決定することができる。

20

#### 【0133】

ある実施形態では、前記マーカーのうち1以上の発現レベルが、対照サンプル、例えば、正常組織におけるそのマーカーの発現レベル(例えば、正常組織サンプルにおいて観測されたそのマーカーの発現レベルから決定された範囲)と比較して決定される。ある実施形態では、マーカーの発現レベルは、対照サンプル、例えば、罹患被験体の健常な親もしくは兄弟由来のサンプルにおけるそのマーカーの発現レベル、または他の健常な被験体由来のサンプルにおけるそのマーカーの発現レベルと比較して決定される。別の実施形態では、1以上のマーカーの発現レベルは、対照サンプル、例えば、広汎性発達障害に罹患している他の被験体由来のサンプルにおけるその1以上のマーカーの発現レベルと比較して決定される。例えば、他の被験体由来のサンプルにおける表2~6の1以上のマーカーの発現レベルを決定して、特定の処置に対する感受性と相関する発現レベルを定義することができ、対象とする被験体由来のサンプルにおける1以上のマーカーの発現レベルがこれらの発現レベルと比較される。

30

#### 【0134】

「既知の標準レベル」または「対照レベル」という用語は、被験体に由来するサンプルにおける1以上のマーカーの発現レベルを比較するために用いる、1以上のマーカー、例えば、表2~6に挙げられた1以上のマーカーの容認されている、または予め決定された発現レベルを意味する。一実施形態では、マーカーの対照発現レベルは、被験体集団に由来するサンプルにおけるそのマーカーの平均発現レベル、例えば、広汎性発達障害を有する被験体集団におけるそのマーカーの平均発現レベルである。別の実施形態では、前記集団は、特定の処置に応答しない被験体群、または個々のマーカーを高レベルもしくは正常レベルで発現する被験体群を含む。別の実施形態では、対照レベルは、正常組織におけるマーカーの一定範囲の発現である。別の実施形態では、対照レベルは、広汎性発達障害を有する多様な被験体由来の細胞または血漿におけるマーカーの一定範囲の発現である。別の実施形態では、「対照レベル」とは、被験体の処置前レベルも意味する。

40

#### 【0135】

本明細書に記載される方法の通常のパフォーマンスの結果としてさらなる情報が利用可能となるので、本発明のマーカーの「対照」発現レベルの集団平均値が使用可能である。別の実施形態では、マーカーの「対照」発現レベルは、被験体において広汎性発達障害の発症が疑われる前の被験体、保管されている被験体サンプル、罹患被験体の健常な親または兄弟などが

50

ら得られた対象サンプルにおける個々のマーカーの発現レベルを決定することにより決定され得る。

【0136】

本発明のマーカーの対照発現レベルは、公開データベースから入手可能である。さらに、Universal Reference Total RNA (Clontech Laboratories) および Universal Human Reference RNA (Stratagene) なども対照として使用可能である。例えば、qPCRを用いてマーカーの発現レベルを決定することができ、被験体由来のサンプルにおけるマーカーの発現を検出するために必要とされたサイクル数が、そのような対照を用いて検出するために必要とされたサイクル数よりも多いことが、そのマーカーの発現レベルが低いことの指標となる。

10

【0137】

「サンプル」という用語は、被験体から得られたまたは単離された細胞、組織または流体、ならびに被験体無いに存在する細胞、組織または流体を意味する。「サンプル」という用語には、被験体由来の任意の体液、組織または一細胞もしくは細胞の集合体、ならびにそれらの任意の成分例えば、画分または抽出物を含む。一実施形態では、組織または細胞は被験体から取り出される。別の実施形態では、組織または細胞は被験体内に存在する。ある実施形態では、流体は、羊水、眼房水、硝子体液、胆汁、血液、母乳、脳脊髄液、耳垢、乳び、囊胞液、内リンパ液、糞便、胃酸、胃液、リンパ液、粘液、乳頭穿刺液、心膜液、外リンパ液、腹腔液、血漿、胸膜液、膿、唾液、皮脂、精液、汗、血清、痰、滑液、涙、尿、腔分泌物、または生検から回収された流体を含む。一実施形態では、サンプルは、被験体由来のタンパク質（例えば、タンパク質またはペプチド）を含有する。別の実施形態では、サンプルは、被験体由来のRNA（例えば、mRNA）または被験体由来のDNA（例えば、ゲノムDNA分子）を含有する。

20

【0138】

「一次治療」とは、本明細書で使用する場合、広汎性発達障害に罹患している被験体の最初の治療を意味する。

【0139】

広汎性発達障害は、広汎性発達障害の少なくとも1つの症状が緩和、終結、緩徐化または予防が予想されるか、または緩和、終結、緩徐化または予防されれば、「治療される」という。本明細書で使用する場合、広汎性発達障害はまた、広汎性発達障害の再発または重症度が軽減、緩徐化、遅延または予防されれば、「治療される」という。

30

【0140】

キットは、本発明のマーカーを特異的に検出するための少なくとも1つの試薬、例えば、プローブを含む任意の製品（例えば、パッケージまたはコンテナ）であり、この製品は本発明の方法を実施するためのユニットとして商品化、配送または販売される。

【0141】

「代謝経路」とは、ある化合物を別の化合物に変換し、中間体と細胞機能のためのエネルギーを提供する、酵素を介した一連の反応を意味する。代謝経路は線形または環状であり得る。

40

【0142】

「代謝状態」とは、ある時点での、特定の細胞環境、多細胞環境または組織環境の分子含量（健康状態または疾患状態に関連する場合には、様々な化学指標および生物学的指標により測定される）。

【0143】

「マイクロアレイ」という用語は、ペーパー、ナイロンまたは他のタイプの膜、フィルター、チップ、スライドガラスまたは他の任意の好適な固相支持体などの基板上に合成された異なるポリヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、ポリペプチド（例えば抗体）またはペプチドのアレイを意味する。

【0144】

50

本発明の1以上のマーカーの発現レベルを決定するためにイムノアッセイで使用される抗体は、検出可能な標識で標識されてよい。「標識される」という用語は、プローブまたは抗体に関しては、標識（例えば、放射性原子）の組み込み、検出可能な物質とプローブまたは抗体のカップリング（すなわち、物理的連結）によるプローブまたは抗体の直接標識、ならびに直接標識される別の試薬との反応性によるプローブまたは抗体の間接的標識を包含するものとする。直接標識の例としては、蛍光標識二次抗体を用いた一次抗体の検出、およびビオチンによるDNAプローブの末端標識（ビオチンは、蛍光標識ストレプトアビジンで検出することができる）が挙げられる。

【0145】

一実施形態では、抗体は、標識された、例えば、放射性標識、発色団標識、蛍光団標識、または酵素標識された抗体である。別の実施形態では、抗体誘導體、例えば、基質と、またはタンパク質-リガンド対（例えば、ビオチン-ストレプトアビジン）のタンパク質もしくはリガンドとコンジュゲートされた抗体、またはバイオマーカーと特異的に結合する抗体フラグメント（例えば、一本鎖抗体、または単離された抗体超可変ドメイン）が使用される。

10

【0146】

「障害」および「疾患」という用語は、包含的に使用され、身体の任意の部分、器官または系（またはそれらの任意の組合せ）の正常な構造または機能からのいずれの逸脱も意味する。特定の疾患は、生物学的、化学的および物理的变化を含む、特徴的な症状および徴候によって発現され、限定されるものではないが、人口統計学的因子、環境因子、職業因子、遺伝因子および病歴因子を含む、様々な他の因子と関連している場合が多い。特定の特徴的な徴候、症状、および関連の因子を様々な方法によって定量して重要な診断情報を得ることができる。

20

【0147】

「発現」という用語は、DNAからポリペプチドが産生されるプロセスを意味して本明細書で使用される。このプロセスは、遺伝子のmRNAへの転写とこのmRNAのポリペプチドへの翻訳を含む。用いられる文脈によって、「発現」は、RNA、タンパク質またはその両方の産生を意味し得る。

【0148】

「遺伝子の発現レベル」または「遺伝子発現レベル」という用語は、細胞内の遺伝子によりコードされている、mRNAならびにmRNA前駆体新生転写産物、転写産物プロセッシング中間体、成熟mRNAおよび分解産物のレベル、またはタンパク質のレベルを意味する。

30

【0149】

「変調」という用語は、応答の上方調節（すなわち、活性化または刺激）、下方調節（すなわち、阻害または抑制）、またはこの2つを組み合わせ、または個々に意味する。「調節因子」は変調を行う化合物または分子であり、例えば、アゴニスト、アンタゴニスト、アクチベーター、スティミュレーター、サブレッサー、またはインヒビターであり得る。

【0150】

「ゲノム」という用語は、生物学的実体（細胞、組織、器官、系、生物体）の遺伝情報全体を意味する。ゲノムは、DNAまたはRNA（例えば、特定のウイルスの場合）のいずれかでコードされている。ゲノムは遺伝子とDNAの非コード配列の両方を含む。

40

【0151】

「プロテオーム」という用語は、ある時点で、ゲノム、細胞、組織または生物体により発現されたタンパク質の全セットを意味する。より具体的には、プロテオームは、定義された条件下で、ある時点である細胞種または生物体において発現されたタンパク質の全セットを意味し得る。プロテオームは、例えば、遺伝子の選択的スプライシングおよび/または翻訳後修飾（例えば、グリコシル化またはリン酸化）によるタンパク質変異体を含み得る。

50

## 【0152】

「トランスクリプトーム」という用語は、ある時点で一細胞または細胞集団において産生された mRNA、rRNA、tRNA、および他の非コード RNA を含む、転写された RNA 分子の全セットを意味する。この用語は、ある生物体における転写産物の全セット、または特定の細胞種に存在する転写産物の特定のサブセットにも当てはまり得る。ある細胞株に関してほぼ固定されている（突然変異は除く）ゲノムとは異なり、トランスクリプトームは外的環境条件によって異なり得る。トランスクリプトームは、細胞内の全 mRNA 転写産物を含むので、転写減衰などの mRNA 分解現象を除き、任意の時点で活発に発現される遺伝子を反映する。

## 【0153】

トランスクリプトミクス（発現プロファイリングとも呼ばれる）研究は、多くの場合、DNA マイクロアレイ技術に基づくハイスループット技術を用いて、ある細胞集団における mRNA の発現レベルを調べる。

## 【0154】

「メタボローム」という用語は、ある条件下、ある時点で一個体の生物体などの生体サンプル内に見られる低分子代謝産物（例えば、代謝中間体、ホルモンおよび他のシグナル伝達分子、ならびに二次代謝産物）の完全なセットを意味する。メタボロームは動的であり、秒単位で変化し得る。

## 【0155】

「インタラクトーム」という用語は、試験下の生物学的システム（例えば、細胞）における分子相互作用の全セットを意味する。インタラクトームは、有向グラフとして表示することができる。分子相互作用は、異なる生化学ファミリー（タンパク質、核酸、脂質、炭水化物など）に属す分子間で、およびあるファミリー内でも起こり得る。プロテオミクスに関して言えば、インタラクトームは、タンパク質 - タンパク質相互作用ネットワーク（PPI）、またはタンパク質相互作用ネットワーク（PIN）を意味する。鋭意研究されている別のタイプのインタラクトームが、タンパク質 - DNA インタラクトーム（転写因子（および DNA またはクロマチン調節タンパク質）とそれらの標的遺伝子により形成されるネットワークである。

## 【0156】

「細胞出力」という用語は、細胞の状態に関するパラメーター、好ましくは測定可能なパラメーターの集合体を含み、（限定されるものではないが）1 以上の遺伝子の転写レベル（例えば、RT-PCR、qPCR、マイクロアレイなどにより測定できる）、1 以上のタンパク質の発現レベル（例えば、質量分析またはウエスタンブロットにより測定できる）、1 以上の酵素またはタンパク質の絶対活性（例えば、基質変換速度として測定できる）または相対活性（例えば、最大活性に対する % 値として測定できる）、1 以上の代謝産物または中間体のレベル、酸化的リン酸化のレベル（例えば、酸素消費速度すなわち OCR により測定できる）、解糖のレベル（例えば、細胞外酸性化速度すなわち ECAR により測定できる）、リガンド - 標的結合または相互作用の程度、細胞外分泌分子の活性などが含まれる。細胞出力は、所定の数の標的遺伝子またはタンパク質などに関するデータを含んでもよいし、あるいは検出可能な全遺伝子またはタンパク質の総合評価を含んでもよい。例えば、あるサンプルまたは細胞集団で特定のタンパク質が発現し得るかどうかが予め分かっているなくても、質量分析を用いて、そのサンプルまたは細胞集団で発現される検出可能な全タンパク質を同定および / または定量することができる。

## 【0157】

本明細書で使用する場合、「細胞系」は、ホモまたはヘテロな細胞の集団を含む。系内の細胞は、*in vivo* において天然もしくは生理学的環境下で増殖しているものであっても、または *in vitro* において、例えば、制御された組織培養環境で増殖しているものであってもよい。系内の細胞は、比較的ホモ（例えば、70%、80%、90%、95%、99%、99.5%、99.9% 以上のホモ）であっても、または 2 種類以上の細胞種、例えば、*in vivo* において近接して増殖するのが通常見られる細胞種、

10

20

30

40

50

または *in vivo* において、例えば、パラ分泌または他の長距離細胞間コミュニケーションを介して互いに相互作用し得る細胞種を含んでもよい。細胞系内の細胞は、広汎性発達障害細胞株、不死細胞株、もしくは正常細胞株を含む、樹立細胞株に由来してもよく、または一次細胞もしくは生組織または器官から新たに単離された細胞であってもよい。

【0158】

細胞系の細胞を一般には、細胞挙動に影響を及ぼす条件を定義し得る栄養素、ガス（酸素または  $\text{CO}_2$  など）、化学物質、またはタンパク質性/非タンパク質性の刺激剤を提供し得る「細胞環境」と接触させる。この細胞環境は、定義された化学成分および/または十分定義されていない組織抽出物または血清成分を含む化学媒体であってよく、細胞が増殖する特定の pH、 $\text{CO}_2$  含量、圧力、および温度を含んでよい。あるいは、細胞環境は、特定の細胞系に関して *in vivo* で見られる天然または生理学的環境であってもよい。

10

【0159】

特定の実施形態では、特定の細胞系の細胞環境はまた、細胞表面上の受容体またはリガンドのタイプおよびそれらの個々の活性、糖鎖または脂質分子の構造、膜極性または流動性、特定の膜タンパク質のクラスタリングの状態などの細胞系の特定の細胞表面特徴も含む。これらの細胞表面特徴は、異なる細胞系に属す細胞などの近傍細胞の機能に影響を及ぼし得る。しかしながら、他の特定の実施形態では、細胞系の細胞環境には、細胞系の細胞表面特徴を含まない。

【0160】

細胞環境は、変更されて「改変された細胞環境」となってもよい。変更は、細胞環境に対する1以上の「外部刺激成分」の添加を含む、細胞環境に見られる任意の1以上の成分の変化（例えば、増加または低下）を含み得る。外部刺激成分は細胞環境に内在していてもよく（例えば、細胞環境は刺激剤をいくらかのレベルで含有し、その刺激剤をさらに追加してそのレベルを高める）、または細胞環境に対して外的であってもよい（例えば、刺激剤は変更前の細胞環境には主として存在しない）。細胞系により細胞環境中に分泌される分子を含め、外部刺激成分は細胞系の細胞出力を変化させ得るので、外部刺激成分を加えることから起こる二次的变化により細胞環境はさらに変更され得る。

20

【0161】

本明細書で使用する場合、「外部刺激成分」は、細胞機能に影響を及ぼし得る任意の外部からの物理的および/または化学的刺激を含む。これには、任意の大または小有機または無機分子、天然または合成化学物質、温度移行、pH変化、放射線、光（UVA、UVBなど）、マイクロ波、音波、電流、変調または非変調磁場などが含まれ得る。

30

【0162】

単に例示であるが、対象とする外部刺激成分は、化学療法薬、タンパク質に基づく生物薬、抗体、融合タンパク質、低分子薬、脂質、多糖、核酸などを含む、病態を治療するための治療薬または候補治療薬を含み得る。

【0163】

他の実施形態では、外部刺激成分は、低酸素、高血糖条件、酸性環境（乳酸処置により模倣され得る）を含め、一般に *in vivo* において様々な病態下で直面するものなどの1以上のストレス因子であり得る。

40

【0164】

特定の状況において、2以上の細胞系間の相互作用を検討したい場合、例えば、第1の細胞系の変調された細胞環境を第2の細胞系と接触させて第2の細胞系の細胞出力に影響を与えることによる「クロストーク細胞系」を形成することができる。

【0165】

本明細書で使用する場合、「クロストーク細胞系」は2以上の細胞系を含み、この場合、少なくとも1つの細胞系の細胞環境が第2の細胞系と接触され、これにより第2の細胞系における少なくとも1つの細胞出力が変化するかまたは影響を受ける。特定の実施形態では、クロストーク細胞系内の細胞系は、互いに直接接触させてよい。他の実施形態では

50

、前記細胞系はいずれも互いに直接接触されない。

【0166】

例えば、特定の実施形態では、クロストーク細胞系はトランスウェルの形態であってよく、この場合、第1の細胞系はインサート内で増殖し、第2の細胞系は対応するウェルコンパートメント内で増殖している。これら2つの細胞系は同じまたは異なる培地と接触させてよく、培地成分の一部または全部を交換してもよい。一方の細胞系に加えた外部刺激成分は、一方の細胞系によって実質的に吸収され、かつ/または他方の細胞系に拡散する機会を持つ前に分解されてもよい。あるいは、外部刺激成分は、やがて2つの細胞系の間で平衡に近づく、または平衡に達してもよい。

【0167】

特定の実施形態では、クロストーク細胞系は、別個に培養された細胞系の形態を採用してもよく、この場合、各細胞系は、その固有の培地および/もしくは培養条件(温度、CO<sub>2</sub>含量、pHなど)を持ってよいし、または類似もしくは同一の培養を持ってよい。2つの細胞系は例えば、一方の細胞系からの細胞馴化培地を採取し、それをもう一方の細胞系と接触させることにより接触させてよい。所望により、2つの細胞系間の直接的細胞-細胞接触を行うこともできる。例えば、所望により、任意の時点で2つの細胞系の細胞を共培養してもよく、後に、これらの共培養細胞系は、少なくとも1つの細胞系の細胞がソーティング可能なマーカーまたは標識(例えば、安定発現する蛍光マーカータンパク質GFP)を持つ場合には、例えば、FACSソーティングによって分離することができる。

【0168】

同様に、特定の実施形態では、クロストーク細胞系は単に共培養してもよい。一方の細胞系の細胞の選択処理は、まずその細胞系の細胞を処理した後に、処理済みの細胞を別の細胞系の細胞との共培養として培養することによって行うことができる。この共培養クロストーク細胞系の設定は、例えば、外部刺激成分による第1の細胞系の刺激後に第1の細胞系の細胞表面変化により引き起こされる第2の細胞系に対する影響を検討したい場合に役立ち得る。

【0169】

本発明のクロストーク細胞系は、一方または両方の細胞系の細胞出力に対するある所定の外部刺激成分の作用を調べるために特に好適である。第1の細胞系に対するこのような刺激の主要な影響(刺激を直接接触させる場合)は、第1の細胞系を外部刺激と接触させた前後で細胞出力(例えば、タンパク質発現レベル)を比較することによって決定することができ、これを本明細書で使用する場合、「(有意な)細胞出力差異」と呼ぶ場合がある。第1の細胞系の細胞環境の変調によって媒介される第2の細胞系に対するこのような刺激の二次的影響(例えば、セクレトーム)も同様に測定することができる。その場合、例えば、第2の細胞系のプロテオームにおける比較は、第1の細胞系に対する外部刺激処理有りの第2の細胞系のプロテオームと、第1の細胞系に対する外部刺激処理無しの第2の細胞系のプロテオームとの間で行うことができる。(プロテオームまたは対象とする他の任意の細胞出力に)有意な変化が見られれば、「有意な細胞間クロストーク差異」といえる。

【0170】

細胞出力(例えば、タンパク質発現)の測定を行うにあたって、絶対発現量または相対発現レベルのいずれか(either absolute expression amount of relative expression level)を使用可能である。例えば、第2の細胞系の相対タンパク質発現レベルを決定するためには、第1の細胞系への外部刺激が有る場合または無い場合の、第2の細胞系における、ある任意のタンパク質の量を、好適な対照細胞株および細胞株の混合物と比較し、増加倍率値または減少倍率値を得ればよい。このような増加倍率(例えば、少なくとも1.5倍増)または減少倍率(例えば、少なくとも0.75倍または75%への減少)の所定の閾値レベルを用いて、有意な細胞間クロストーク差異を選択することができる。

【0171】

10

20

30

40

50

例を示せば、心血管性疾患モデルの様相を模倣するために樹立された1つの例示的な二細胞系では、心臓平滑筋細胞株（第1の細胞系）を低酸素条件（外部刺激成分）で処理し、腎臓細胞を前記心臓平滑筋の細胞馴化培地と接触させることから生じた腎臓細胞株（第2の細胞系）におけるプロテオーム変化を、従来の定量的質量分析を用いて測定すればよい。これらの腎臓細胞における有意な細胞間クロストレーキング差異は、適当な対照（例えば、同様に培養した腎臓細胞を、同様に培養したが低酸素条件での処理を行わなかった心臓平滑筋細胞からの細胞馴化培地と接触させたもの）での比較に基づいて決定することができる。

#### 【0172】

観測された有意な細胞間クロストレーキング差異の全てが生物学的に有意であるわけではない。主題のインタロガティブ・バイオロジカル・アセスメントが適用されるある任意の生物学的システムに関して、有意な細胞間クロストレーキング差異のいくつか（あるいは全てかもしれない）が、検討中の特定の生物学的課題に関する「決定因」となり得、例えば、病態を引き起こす原因（治療介入の潜在的標的）であるか、または病態のバイオマーカー（潜在的診断因子または予測因子）であるかのいずれかである。

10

#### 【0173】

このような決定的クロストレーキング差異は主題の方法のエンドユーザーにより選択されてもよいし、またはDAVID対応比較経路解析プログラム、またはKEGG経路解析プログラムなどのバイオインフォマティクスソフトウェアプログラムにより選択されてもよい。特定の実施形態では、2つ以上のバイオインフォマティクスソフトウェアプログラムが使用され、2つ以上のバイオインフォマティクスソフトウェアプログラムからコンセンサス結果が得られることが好ましい。

20

#### 【0174】

本明細書で使用する場合、細胞出力の「差異」は、細胞出力の任意の1以上のパラメータにおける違い（例えば、レベルの上昇または低下）を含む。例えば、タンパク質発現レベルに関しては、外部刺激成分による処理前後の細胞系と関連づけられた出力などの2つの細胞出力間の差異を、質量分析に基づくアッセイ（例えば、iTRAQ、2D-LC-MSMSなど）のような、当技術分野において承認されている技術を使用することにより測定および定量することができる。

#### 【0175】

本明細書で使用する場合、「インタロガティブ生物学的評価」は、外部刺激成分に関連する1以上の決定的細胞間クロストレーキング差異（例えば、生物学的経路の活性の増減、またはその経路の重要なメンバー、またはその経路のメンバーに対する重要なレギュレーター）の同定を含み得る。それは、同定された決定的細胞間クロストレーキング差異が最初の外部刺激成分に関連する下流事象に必要なかつ/または十分であるかどうかを試験または確認するように設計された付加的工程（*in vivo*動物モデルおよび/または*in vitro*組織培養実験を含む）をさらに含み得る。

30

#### 【0176】

以下、本発明の例示的实施形態を詳細に示す。本発明を例示的实施形態に関して記載するが、本発明をこれらの実施形態に限定することを意図するものではないと理解される。対照的に、添付の特許請求の範囲により定義される本発明の趣旨および範囲内に含まれ得るような変更、改変および均等物は包含することを意図する。

40

#### 【0177】

### II. インタロガティブ・バイオロジー・プラットフォーム・テクノロジーの概要

本発明の例示的实施形態は、疾患の病態生理学などの多様な生物学的プロセス、およびこのような生物学的プロセスの基礎にある重要な分子ドライバー（疾患過程を可能とする因子を含む）を理解するためのツールであるインタロガティブ・バイオロジー・プラットフォーム（「プラットフォーム」）を用いて行える方法を組み込んでいる。いくつかの例示的实施形態は、本プラットフォームの少なくとも一部または全部を組み込み得るシステムを含む。いくつかの例示的方法は、本プラットフォームの少なくとも一部または全部を

50

使用し得る。本プラットフォームを含むいくつかの例示的实施形態の目標および目的は、例示目的で以下に概略を示す：

i) 疾患過程（例えば、広汎性発達障害）の決定的成分のドライバーとしての特定の分子シグネチャーを創出すること（それらが疾患過程の病態生理学全体に関連する場合）；

ii) 疾患状態とそれとは異なる状態（例えば、正常状態）とを識別し、シグネチャーまたは分子実体の理解を進めるディファレンシャル分子シグネチャーを同定する助けとなり得る、疾患過程、例えば、広汎性発達障害に関係する分子シグネチャーまたはディファレンシャルマップを作成すること（それらが2つの状態間の変化（例えば、正常状態から疾患状態へ）の機序を仲介する場合）；および

iii) 疾患、例えば、広汎性発達障害の外部管理のための潜在的介入標的としての（例えば、潜在的治療標的としてハブを使用するため）、または対象とする疾患、例えば、広汎性発達障害の潜在的バイオマーカー（例えば、予測および/または治療的診断用途における疾患特異的バイオマーカー）としての、分子活性の「ハブ」の役割を調べるため。

【0178】

本プラットフォームを含むいくつかの例示的方法は下記の特徴のうち1以上を含み得る。

【0179】

1) 生物学的プロセスに関連する細胞を用い、1以上のモデル、好ましくは *in vitro* モデルにおいて、生物学的プロセス（例えば、疾患過程）および/または生物学的プロセスの構成要素（例えば、疾患の生理学および病態生理学）をモデル化すること。例えば、前記細胞は、対象とする生物学的プロセスに通常関与するヒト由来細胞であり得る。このモデルは、生物学的プロセス（例えば、疾患）に特異的な様々な細胞合図/条件/摂動を含み得る。理想的には、このモデルは、生物学的（疾患）条件の静的評価ではなく、様々な（疾患）状態および流動構成要素を表す。

【0180】

2) 当技術分野で承認されている任意の手段を用いて、mRNAおよび/またはタンパク質シグネチャーをプロファイリングすること。例えば、定量的ポリメラーゼ連鎖反応（qPCR）およびプロテオミクス解析ツール、例えば、質量分析（MS）。このようなmRNAおよびタンパク質データセットは、環境/摂動への生体反応を表す。適用でき、可能であれば、リポミクス、メタボロミクス、およびトランスクリプトミクスデータを、対象とする生物学的プロセスの補助的または代替指標として組み込んでよい。SNP解析は、本プロセスに場合により使用可能なもう1つの構成要素である。SNP解析は、例えば、SNPまたは特定の突然変異がその生物学的プロセスに何らかの影響を持つかどうかを調べるのに役立つ。これらの変数は、生物学的プロセスを、静的「スナップショット(snapshot)」としてまたは動的プロセスの提示として記述するために使用可能である。

【0181】

3) 限定されるものではないが、生体エネルギー論的プロファイリング、細胞増殖、アポトーシス、およびオルガネラ機能を含む、合図および摂動に対する1以上の細胞応答に関してアッセイすること。真の遺伝子型-表現型の関係は、ATP、ROS、OXPHOS、 Seahorse アッセイなどの機能モデルの利用によって実現することができる。このような細胞応答は、対応するmRNA/タンパク質発現状態および上記2)の他の任意の関連する状態に応答した、生物学的プロセス（またはそのモデル）における細胞の反応を表す。

【0182】

4) このようにして3)で得られた機能アッセイデータを2)で得られたプロテオミクスおよび他のデータと統合し、人工知能に基づく(AIベースの)インフォマティクスシステムまたはプラットフォームを使用することにより、タンパク質の会合が因果関係によって駆動されると決定すること。このようなAIベースシステムは、生物学的プロセスに関する既存の知識に頼らなくとも、2)および/または3)で得られたデータセットに、

10

20

30

40

50

好ましくは、そのデータセットのみに基づく。統計的または人為的にカットオフされるデータ点がないことが好ましい。その代わりに、得られた全てのデータが、タンパク質会合を決定するためにAIシステムに供給される。この統合プロセスの1つの目標または出力は、異なる生物学的状態間（例えば、疾患状態と正常状態）での1以上のディファレンシャルネットワーク（本明細書では、それ以外に「デルタネットワーク」または、場合に応じて、あるケースには、「デルタ-デルタネットワーク」と呼ばれることもある）である。

【0183】

5) AIベースに基づくインフォマティクスプラットフォームからの出力をプロファイリングして、潜在的治療標的および/またはバイオマーカーとしての各活性ハブを探すこと。このようなプロファイリングは、実際のウェットラボ実験に頼ること無く、得られたデータセットに基づいて完全に*in silico*で行うことができる。

10

【0184】

6) 分子技術および細胞技術を用いることにより活性のハブをバリデートすること。このようなウェットラボ細胞実験を用いた、出力の事後情報バリデーションは任意選択であるが、それらはインタロゲーションのフルサークルを作り出すのに役立つ。

【0185】

上記で概略を示したアプローチのいずれかまたは全ては、少なくとも一部には特定の適用の性質に応じて、いずれかの生物学的プロセスに関する任意の特定の適用で使用可能である。すなわち、上記で概略を示した1以上のアプローチは、特定の適用に応じて、省かれても変更されてもよく、1以上の付加的アプローチが用いられてもよい。

20

【0186】

データ収集、データ統合、およびデータマイニングを含むプラットフォームの構成要素の概略図を図2に示す。「オミクス」カスケードからの応答データの系統的インタロゲーションおよび収集の概略図を図1に示す。

【0187】

図7は、例示的方法の高レベルフローチャートであり、この例示的方法を行うために使用可能な例示的システムの構成要素が示される。最初に、生物学的プロセスに通常関連する細胞を用いて、生物学的プロセス（例えば、疾患過程）および/または生物学的プロセスの構成要素（例えば、疾患生理学および病態生理学）のモデル（例えば、*in vitro*モデル）が確立される（工程12）。例えば、これらの細胞は、生物学的プロセス（例えば、疾患）に通常関与するヒト由来細胞であり得る。細胞モデルは、生物学的プロセス（例えば、疾患）に特異的な様々な細胞合図、条件、および/または変動を含み得る。理想的には、この細胞モデルは、生物学的プロセスの静的評価ではなく、生物学的プロセス（例えば、疾患）の様々な（疾患）状態および流動構成要素を表す。この比較細胞モデルは、対照細胞または正常（例えば、非罹患）細胞を含み得る。これらの細胞モデルのさらなる説明は以下の第IV.A.節に示す。

30

【0188】

第1のデータセットは、生物学的プロセスの細胞モデルから得られ、これには、任意の既知の方法またシステム（例えば、定量的ポリメラーゼ連鎖反応（qPCR）およびプロ

40

【0189】

第3のデータセットは、生物学的プロセスの比較細胞モデルから得られる（工程18）。第3のデータセットには、比較細胞モデルからの比較細胞における複数の遺伝子の発現レベルを表す情報が含まれる。

【0190】

本発明の方法の特定の実施形態では、これらの第1および第3のデータセットは、本明細書では、ひとまとめにして、生物学的システムに関連する細胞（全ての細胞が比較細胞

50

を含む)における複数の遺伝子の発現レベルを表す「第1のデータセット」と呼ばれる。

【0191】

第1のデータセットおよび第3のデータセットは、1以上のmRNAおよび/またはタンパク質シグネチャー解析系から得ることができる。第1および第3のデータセットのmRNAおよびタンパク質データは、環境および/または変動に対する生体反応を表し得る。適用でき、可能であれば、リピドミクス、メタボロミクス、およびトランスクリプトミクスデータは、生物学的プロセスの補助的または代替指標として組み込んでもよい。SNP解析は、本プロセスに場合により使用可能なもう1つの構成要素である。SNP解析は、例えば、一塩基多型(SNP)または特定の突然変異がその生物学的プロセスに何らかの影響を持つかどうかを調べるのに役立つ。これらのデータ変数は、生物学的プロセスを、静的「スナップショット」としてまたは動的プロセスの提示として記述するために使用可能である。細胞における複数の遺伝子の発現レベルを表す情報取得に関するさらなる説明は以下の第IV.B.節に示す。

10

【0192】

特定の実施形態では、第2のデータセットは生物学的プロセスの細胞モデルから得られ、これには細胞の機能活性または応答を表す情報が含まれる(工程20)。同様に、特定の実施形態では、第4のデータセットは生物学的プロセスの比較細胞モデルから得られ、これには比較細胞の機能活性または応答を表す情報が含まれる(工程22)。

【0193】

本発明の方法の特定の実施形態では、これらの第2および第4のデータセットは、本明細書では、ひとまとめにして、生物学的システムに関連する細胞(全ての細胞が比較細胞を含む)の機能活性または細胞応答を表す「第2のデータセット」と呼ばれる。

20

【0194】

1以上の機能アッセイ系を用いて、細胞または比較細胞の機能活性または応答に関する情報を得てもよい。合図および変動に対する機能的細胞応答に関する情報としては、限定されるものではないが、生体エネルギー論的プロファイリング、細胞増殖、アポトーシス、およびオルガネラ機能を含み得る。プロセスおよび経路(例えば、アデノシン三リン酸(ATP)、反応性酸素種(ROS)、酸化リン酸化(OXPHOS)、Seahorseアッセイなど)の機能モデルを用いて、真の遺伝子型-表現型関係を得ることができる。機能活性または細胞応答は、対応するmRNA/タンパク質発現状態および他の任意の関連する適用条件または変動に応答した生物学的プロセス(またはそのモデル)における細胞の反応を表す。細胞の機能活性または応答を表す情報取得に関するさらなる情報は以下の第IV.B.節に示される。

30

【0195】

本方法はまた、細胞および対照細胞における生物学的プロセスのコンピューター実装モデルを作成することも含む。例えば、複数の遺伝子の発現レベルと機能活性または細胞応答の間の因果関係の1以上の(例えば、アンサンプルの)ベイジアンネットワークを、前記細胞モデルに関して第1のデータセットおよび第2のデータセットから生成してもよい(「生成細胞モデルネットワーク」)(工程24)。この生成細胞モデルネットワークは、個々にまたは集合として、因果関係に関する定量的確率的有向情報を含む。生成細胞モデルネットワークは、第1のデータセットおよび第2のデータセットからの情報以外の遺伝子発現および/または機能活性もしくは細胞応答の間の既知の生物学的関係には基づかない。1以上の生成細胞モデルネットワークは、ひとまとめにしてコンセンサス細胞モデルネットワークと呼ぶ場合がある。

40

【0196】

複数の遺伝子の発現レベルと機能活性または細胞応答の間の因果関係の1以上の(例えば、アンサンプルの)ベイジアンネットワークを、前記比較細胞モデルに関して第1のデータセットおよび第2のデータセットから生成してもよい(「生成比較細胞モデルネットワーク」)(工程26)。この生成比較細胞モデルネットワークは、個々にまたは集合として、因果関係に関する定量的確率的有向情報を含む。生成細胞ネットワークは、第1の

50

データセットおよび第2のデータセットの情報以外の遺伝子発現および/または機能活性もしくは細胞応答の間の既知の生物学的関係には基づかない。1以上の生成比較細胞モデルネットワークは、ひとまとめにしてコンセンサス細胞モデルネットワークと呼ぶ場合がある。

【0197】

生成細胞モデルネットワークおよび生成比較細胞モデルネットワークは、人工知能に基づく(AIベースの)インフォマティクスプラットフォームを用いて作出してもよい。生成細胞モデルネットワークの作出、生成比較細胞モデルネットワークの作出およびAIベースインフォマティクスシステムに関してさらに詳しくは、以下の第IV.C.節に示す。

10

【0198】

定量的確率的有向情報を含む因果関係のベイジアンネットワークを生成するためには、多くの異なるAIベースプラットフォームまたはシステムが使用可能であることを注しておくべきであろう。本明細書に記載の特定の例では、GNS(ケンブリッジ、MA)からのある特定の市販のシステム、すなわち、REFS(商標)(Reverse Engineering/Forward Simulation)を使用するが、実施形態は限定されない。いくつかの実施形態を実施するために好適なAIベースシステムまたはプラットフォームは、潜在的、確立された、および/または確認された生物学的関係についてのいずれの既存の知識も考慮することなく、入力データのみに基づいて入力変数(例えば、第1および第2のデータセット)間の因果関係を確立するために数学アルゴリズムを用いる。

20

【0199】

例えば、REFS(商標)AIベースインフォマティクスプラットフォームは、実験的に導き出された生(オリジナル)のまたは最小限に加工された入力生物学的データ(例えば、ジェネティクス、ゲノミクス、エピジェネティクス、プロテオミクス、メタボロミクス、および臨床データ)を用い、完全な系で分子がどのように互いに相互作用するか決定するための何兆もの計算を迅速に実行する。REFS(商標)AIベースインフォマティクスプラットフォームは、入力データに基づいて、基礎にある生物学的システムを定量的に表すin silicoコンピューター実装細胞モデル(例えば、生成細胞モデルネットワーク)を作出することをねらいとするリバース・エンジニアリング・プロセスを実行する。さらに、基礎にある生物学的システムについての仮説を立て、その仮説に関する予測に関連の信頼水準を伴って得るために、コンピューター実装細胞モデルに基づいて迅速にシミュレーションを行うことができる。

30

【0200】

このアプローチを用いれば、生物学的システムは定量的コンピューター実装細胞モデルで表され、このモデルでは、「介入」は、生物学的システム(例えば、疾患)の詳細な機序、有効な介入戦略、および/またはどの患者が与えられた治療計画に奏功するかを決定する臨床バイオマーカーを学習するためにシミュレートされる。従来のバイオインフォマティクスおよび統計的アプローチ、ならびに既知の生物学のモデル化に基づくアプローチは一般に、これらのタイプの洞察を提供することができない。

40

【0201】

生成細胞モデルネットワークおよび生成比較細胞モデルネットワークが作出された後、それらは比較される。生成細胞モデルネットワークの少なくとも一部に存在するか、生成比較細胞モデルネットワークに存在しないか、または比較細胞モデルネットワークに少なくとも1つの有意に異なるパラメーターを有する1以上の因果関係が同定される(工程28)。このような比較の結果、ディファレンシャルネットワークが作出され得る。比較、同定、および/またはディファレンシャル(デルタ)ネットワークの作出は、ディファレンシャルネットワーク作出モジュールを用いて行うことができ、これは以下の第IV.D.節にさらに詳しく記載される。

【0202】

50

いくつかの実施形態では、入力データセットは1つの細胞種および1つの比較細胞種に由来し、その1つの細胞種に基づく細胞モデルネットワークのアンサンブルと、その1つの比較対照細胞種に基づく比較細胞モデルネットワークの別のアンサンブルを作出する。差異は、この1つの細胞種のネットワークのアンサンブルと比較細胞種のネットワークのアンサンブルの間で採ることができる。

#### 【0203】

他の実施形態では、入力データセットは複数の細胞種および複数の比較細胞種に由来する。細胞モデルネットワークのアンサンブルは各細胞種および各比較細胞種に関して個々に生成されてもよく、かつ/または複数の細胞種および複数の比較細胞種からのデータは、合わせて個々の複合データセットとしてもよい。これらの複合データセットは、複数の細胞種に対応するネットワークのアンサンブル(複合データ)および複数の比較細胞種に対応する別のアンサンブル(比較複合データ)を作り出す。差異は、複合データのネットワークアンサンブルに対して、比較複合データのネットワークアンサンブルと比較して採ることができる。

10

#### 【0204】

いくつかの実施形態では、差異は2つの異なるディファレンシャルネットワーク間で採ることができる。この出力はデルタ-デルタネットワークと呼ぶことができる。

#### 【0205】

定量的関係情報は、生成細胞モデルネットワークにおける各関係に関して同定することができる(工程30)。同様に、生成比較細胞モデルネットワークにおける各関係の定量的関係情報も同定可能である(工程32)。この関係に関する定量的情報は、因果関係を示す方向、その関係に関する統計的不確実性の指標(例えば、曲線下面積(AUC)の統計的測定)、および/またはその関係の強さの量的大きさの表現(例えば、倍率)を含み得る。生成細胞モデルネットワークにおける様々な関係を、この定量的関係情報を用いてプロファイリングすれば、潜在的治療標的および/またはバイオマーカーとしての、そのネットワークにおける活性の各ハブを探ることができる。このようなプロファイリングは、実際のウェットラボ実験に頼ることなく、生成細胞モデルネットワークからの結果に基づいて完全に*in silico*で行うことができる。

20

#### 【0206】

いくつかの実施形態では、ネットワークにおける活性のハブは、分子のおよび細胞的技術を使用することによってバリデートすることができる。このような、実験に基づくウェットラボ細胞を用いた出力のポストインフォマティックバリデーションは行う必要がないが、フルサークルのインタロゲーションを作出する助けとなり得る。図4は、例示的AIベースインフォマティクスシステム(例えば、REFS(商標)AIベースインフォマティクスシステム)の機能性およびAIベースシステムとインタロガティブ・バイオロジー・プラットフォーム(「プラットフォーム」)の他の要素または部分の間の相互作用の簡略化した高レベル表示を模式的に示す。図4Aでは、生物学的プロセス(例えば、疾患モデル)のモデルから得られた様々なデータセット、例えば、薬物用量、治療用量、タンパク質発現、mRNA発現、および関連する多くの機能指標のいずれか(例えば、OCR、ECAR)を、AIベースシステムに送る。図4Bに示されるように、AIシステムは、入力データセットから、ベイジアンフラグメントの列挙と呼ばれるプロセスにおいて、生物学的プロセス(例えば、疾患)において分子機構を駆動する変数(タンパク質、脂質および代謝産物)を含む「ネットワークフラグメント」のライブラリーを作出する(図4B)。

30

40

#### 【0207】

図4Cでは、AIベースシステムは、ライブラリー内のネットワークフラグメントのサブセットを選択し、それらのフラグメントからイニシャルトリアルネットワークを構築する。AIベースシステムはまた、ライブラリー内のネットワークフラグメントのまた別のサブセットを選択して別のイニシャルトリアルネットワークも構築する。最終的には、ライブラリー内のネットワークフラグメントの種々のサブセットからイニシャルトリアル

50

アルネットワークのアンサンブルが作出される（例えば、1000ネットワーク）。このプロセスはパラレル・アンサンブル・サンプリングと呼ぶことができる。アンサンブル内の各トライアルネットワークは、そのライブラリーに由来するネットワークフラグメントの不可、除去および/または置換によって進化または最適化される。追加のデータが得られれば、その追加データはライブラリー内のネットワークフラグメントに組み込んでよく、各トライアルネットワークの進化を経てトライアルネットワークのアンサンブルに組み込んでよい。最適化/進化プロセスの完了後、トライアルネットワークのアンサンブルは、生成細胞モデルネットワークとして記述することができる。

【0208】

図4Dに示されるように、生成細胞モデルネットワークのアンサンブルは、生物学的システムの挙動をシミュレーションするために使用可能である。このシミュレーションは、ウェットラボ細胞系または動物系実験を用いて実験的に確認できる条件の変化に対するその生物学的システムの挙動を予測するために使用することができる。また、生成細胞モデルネットワークにおける関係の定量的パラメータは、シミュレーション機能を用い、個々に各ノードにシミュレーションされた変動をかけたとともに生成細胞モデルネットワーク(networks)内の他のノードへの影響を観察することによって抽出することができる。さらに詳しくは以下の第IV.C.節に示す。

【0209】

AIベースインフォマティクスシステムの自動リバース・エンジニアリング・プロセスは、細胞の不偏および系統的コンピューターモデルである、生成細胞モデルネットワークのアンサンブルを作出する。

【0210】

リバース・エンジニアリングは、データ内の分子測定値と着目する表現型結果の間の確率的有向ネットワーク接続を決定する。分子測定値の変動は、これらの実体とエンドポイントでの変化の間の確率的原因・結果関係の学習を可能とする。このプラットフォームの機械学習特性はまた、絶えず進化しているデータセットに基づくクロストレーニングと予測を可能とする。

【0211】

データ内の分子測定値間のネットワーク接続は、ある面では、その接続がコンピューターアルゴリズムにより「学習された」観測データセット間の相関に基づき得るので、「確率的」である。例えば、データセットの統計分析に基づき、タンパク質Xの発現レベルとタンパク質Yの発現レベルに正または負の相関がある場合、因果関係を割り当ててタンパク質XとYの間のネットワーク接続を確立することができる。このような推定因果関係の信頼性は、その接続の尤度によってさらに定義することができ、p値で評価することができる（例えば、 $p < 0.1$ 、 $0.05$ 、 $0.01$ など）。

【0212】

データ内の分子測定値間のネットワーク接続は、ある面では、リバース・エンジニアリング・プロセスで決定される、分子測定値間のネットワーク接続が接続された遺伝子/タンパク質の関係性を反映し、従って、その接続が刺激的か阻害的かによって、一方のタンパク質の発現レベルの上昇が他方の発現レベルを上昇または下降させ得るので、「有向性」である。

【0213】

データ内の分子測定値間のネットワーク接続は、ある面では、本プロセスで決定される分子測定値間のネットワーク接続が、既存のデータセットおよびそれと関連する確率的指標に基づき、*in silico*でシミュレーションできるので、「定量的」である。例えば、分子測定値間の確立されたネットワーク接続では、理論上、ある与えられたタンパク質（またはネットワークの「ノード」）の発現レベルを上昇または低下させ（例えば、1、2、3、5、10、20、30、50、100倍またはそれを超える）、ネットワーク内の他の接続タンパク質に対するその影響を定量的にシミュレーションすることが可能となり得る。

10

20

30

40

50

## 【0214】

データ内の分子測定値間のネットワーク接続は、少なくともある面では、統計的または人為的にカットオフされるデータ点が無いので、また、ある面では、ネットワーク接続が、着目する生物学的プロセスについての既存の知識を参照することなく、入力データのみに基づくので、「不偏」である。

## 【0215】

データ内の分子測定値間のネットワーク接続は、ある面では、全ての入力変数間の全ての潜在的接続が、例えば、対応形式で系統的に探査されているので、「系統的」かつ（不偏）である。入力変数の数が増えるにつれ、このような系統的探査を実行するためのコンピューター力への信頼度は高まる。

10

## 【0216】

一般に、測定した全ての実体間の確率的量的因果関係を予測するには、通常、約1,000ネットワークのアンサンプルで十分である。ネットワークのアンサンプルは、データ内の不確実性を捕捉し、各モデル予測に関する信頼測定基準の計算を可能とする。ネットワークのアンサンプルを一緒に用いて予測が生成され、アンサンプル内の個々のネットワークからの予測の違いがその予測の不確実性の程度を表す。この特徴により、モデルから生成される臨床応答の予測に関する信頼測定基準の割り当てが可能となる。

## 【0217】

ひと度、モデルのリバース・エンジニアリングが行われると、病態などの注目する生物学的プロセスに関する重要な分子ドライバーを決定するために、モデルのアンサンプルに対してさらなるシミュレーションクエリを実行することができる。

20

## 【0218】

III. プラットフォームテクノロジーの例示的工程および構成要素

単に例として、主題のプラットフォームテクノロジーの下記工程が、カスタム構築された広汎性発達障害モデルから得られたデータを統合するため、および広汎性発達障害の病因を駆動する新規なタンパク質/経路を同定するために記載され得る。この解析から得られた関係マップは、広汎性発達障害の治療標的、ならびに広汎性発達障害と関連づけられた診断/予測マーカーを提供する。ここに記載する方法はUS 13,411,460にさらに詳しく記載され、その内容は参照により本明細書に明示的に組み入れられる。

## 【0219】

さらに、以下の記載は別個の工程としていくつかの部分で示されるが、それは例示および簡略化のためであり、このような工程の厳密な順序および/または区分を意味するのではない。さらに、本発明の工程は別個に行ってもよく、本明細書で提供される発明は、主題のプラットフォームテクノロジーの個々の工程のそれぞれを別個に、ならびに1以上の工程（例えば、いずれか1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つまたは7つ全ての工程）の組合せを包含することが意図され、これらは残りの工程とは独立に行うことができる。

30

## 【0220】

本発明はまた、プラットフォームテクノロジーのあらゆる態様を本発明の別個の構成要素および実施形態として含むことが意図される。例えば、生成データセットは、本発明の実施形態であることが意図される。さらなる例として、生成因果関係ネットワーク、生成コンセンサス因果関係ネットワーク、および/または生成シミュレーション因果関係ネットワークも、本発明の実施形態であることが意図される。広汎性発達障害にユニークであると同定された因果関係は、本発明の実施形態であることが意図される。さらに、カスタム構築された広汎性発達障害のモデルも、本発明の実施形態であることが意図される。

40

## 【0221】

## A. カスタムモデルの構築

プラットフォームテクノロジーにおける第1の工程は、生物学的システムまたはプロセス、例えば、広汎性発達障害のモデルの構築である。広汎性発達障害の例は自閉症である。他の任意の複雑な生物学的プロセスまたはシステムとして、自閉症は複数のユニークな様相を特徴とする複雑な病態である。例えば、ミトコンドリア機能不全は、自閉症疾患の

50

病態生理学に重要な役割を果たし得る。結果として、自閉症細胞は、潜在的薬物による処理などのミトコンドリア機能と関連づけられた環境摂動に対して、同じ処理に応答した正常細胞による反応とは異なる反応を示し得る。従って、正常細胞の応答に比べた場合の薬物処理に対する自閉症細胞のユニークな応答を解釈することに関心が持たれるであろう。この目的で、カスタム自閉症モデルは、自閉症障害と関連づけられた細胞、例えば、リンパ芽細胞または自閉症患者由来の他の体液（例えば、血清または尿）サンプルの環境をシミュレートするために確立することができる。ミトコンドリア機能と関連づけられた環境摂動、例えば、C o Q 1 0 は、自閉症細胞を処理するために適用可能である。ミトコンドリア機能アッセイ、例えば、A T P および / または R O S を用いれば、インサイトフルなバイオリジカルリードアウトを提供することができる。

10

#### 【 0 2 2 2 】

広汎性発達障害の種々の様相または特徴を反映する個々の病態は、カスタム構築された広汎性発達障害モデルで別個に検討してもよく、かつ / または互いに組み合わせてもよい。一実施形態では、広汎性発達障害の種々の様相を反映またはシミュレートする少なくとも 2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、40、50 またはそれを超える病態の組合せがカスタム構築された広汎性発達障害モデルで検討される。一実施形態では、広汎性発達障害の種々の様相を反映またはシミュレートする個々の病態、さらに少なくとも 2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、40、50 またはそれを超える病態の組合せがカスタム構築された広汎性発達障害モデルで検討される。前記リストに示されている値は全て、範囲の上限または下限であってもよく、これらは、例えば、1 ~ 5、1 ~ 10、1 ~ 20、1 ~ 30、2 ~ 5、2 ~ 10、5 ~ 10、1 ~ 20、5 ~ 20、10 ~ 20、10 ~ 25、10 ~ 30 または 10 ~ 50 の間の異なる条件など、本発明の一部であることが意図される。

20

#### 【 0 2 2 3 】

対照として、1 以上の正常細胞株（例えば、正常な非罹患被験体、例えば、広汎性発達障害に罹患している被験体の家族員であり、かつ、広汎性発達障害と関連づけられた細胞が取得される正常な非罹患被、から得られた細胞）が、広汎性発達障害にユニークなタンパク質または経路を同定するために、同様の条件下で培養される（下記参照）。

#### 【 0 2 2 4 】

広汎性発達障害に罹患している (afflicted with or suffering from) 同じ被験体由来の複数の細胞種、例えばリンパ芽細胞および中枢神経系に由来する細胞、または広汎性発達障害に罹患している (afflicted with or suffering from) 複数の異なる被験体由来する細胞が広汎性発達障害モデルに含まれ得る。ある特定の状況では、広汎性発達障害と関連づけられた異なる細胞間のクロストーク試験または E C S 試験が、いくつかの相互に関連する目的のために行うことができる。

30

#### 【 0 2 2 5 】

クロストークを含むいくつかの実施形態では、細胞モデルで行われる実験は、任意選択により、定義された処理条件下で、ある細胞系または集団（例えば、リンパ芽細胞）の細胞の状態または機能の、別の細胞系または集団（例えば、中枢神経系に由来する細胞）による変調を決定するように設計される。典型的な状況によれば、第 1 の細胞系 / 集団を候補分子（例えば、小薬物分子、タンパク質）または候補病態（例えば、低酸素、高グルコース環境）などの外部刺激成分に接触させる。応答すると、第 1 の細胞系 / 集団はそのトランスクリプトーム、プロテオーム、メタボローム、および / またはインタラクトームを変化させ、細胞の内部および外部の両方で容易に検出できる変化をもたらす。例えば、トランスクリプトームの変化は複数の標的 m R N A の転写レベルにより測定することができ；プロテオームの変化は複数の標的タンパク質の発現レベルにより測定することができ；メタボロームの変化は、ある代謝産物に対して特異的に設計されたアッセイによって複数の標的代謝産物のレベルにより測定することができる。あるいは、少なくともある種の分泌代謝産物またはタンパク質に関する、上記に引用されるメタボロームおよび / またはプロテオームの変化は、第 2 の細胞系 / 集団のトランスクリプトーム、プロテオーム、メタ

40

50

ボローム、およびインタラクトームの変調を含む、第2の細胞系/集団に対するそれらの効果によって測定することもできる。従って、これらの実験は、種々の処理条件下で、第2の細胞系/集団に対する、第1の細胞系/集団により分泌された対象分子の効果を同定するために使用可能である。これらの実験はまた、例えば、プロテオミクスのディフアレシナルスクリーニングにより、第1の細胞系(部刺激成分処理に应答する)から別の細胞系へのシグナル伝達の結果として変調されるタンパク質を同定するためにも使用可能である。同じ実験設定を逆の設定に採用することもでき、これにより、2つの細胞系間の相互効果も評価可能である。一般に、この種の実験では、細胞株対の選択は、大きくは起源、疾病状態および細胞機能などの因子に基づく。

#### 【0226】

この種の実験設定には一般に2細胞系は含まれるが、例えば、異なる各細胞系を別個の固相支持体に固定することにより、3以上の細胞系向けに設計することもできる。

#### 【0227】

ひと度、カスタムモデルが構築されれば、そのシステムに、患者ごとの遺伝子変異、または特定の薬物またはプロドラッグにより処理の有無などの1以上の「変動」を適用することができる。広汎性発達障害関連細胞、および正常対照細胞に対する効果を含め、このシステムに対するこのような変動の効果は、以下の第IV.B節に記載のように、様々な当技術分野で承認されている手段または特許登録手段を用いて測定することができる。

#### 【0228】

例示的实施形態では、広汎性発達障害、例えば自閉症に罹患している1以上の被験体に由来する細胞株と、対照、例えば、正常細胞、例えば、広汎性発達障害に罹患している被験体に関係する1以上の非罹患家族員などの非罹患被験体に由来する細胞が使用される。一実施形態では、これらの細胞は、環境摂動(例えば、補酵素Q10での処理)で処理するか、または非処理とする。

#### 【0229】

カスタム構築広汎性発達障害モデルは、本明細書に記載の工程を実施することにより、最終的に広汎性発達障害にユニークな因果関係を同定するために、本発明のプラットフォームテクノロジーの工程を介して確立および使用することができる。しかしながら、当業者には、広汎性発達障害に関する最初の「第一世代」コンセンサス因果関係ネットワークを生成するために使用されるカスタム構築された広汎性発達障害モデルは、例えば、さらなる細胞株および/またはさらなる適当条件を導入することにより、経時的に絶えず進化または拡張させ得ることが理解されるであろう。広汎性発達障害の進化した細胞モデルからのさらなるデータ、すなわち、その細胞モデルの新た付加された部分からのデータは収集可能である。拡張または進化させた細胞モデルから、すなわち、細胞モデルの新たに付加された部分から収集された新たなデータは、次に、よりロバスタな「第二世代」コンセンサス因果関係ネットワークを生成することを目的に、「第一世代」コンセンサス因果関係ネットワークを生成するために従前に用いたデータセットに導入することができる。次に、この「第二世代」コンセンサス因果関係ネットワークから広汎性発達障害にユニークな新たな因果関係を同定することができる。このように、細胞モデルの進化はコンセンサス因果関係ネットワークの進化をもたらし、それにより、広汎性発達障害の調節因子への新たなおよび/またはより信頼性の高い洞察を提供する。

#### 【0230】

本発明は、細胞を環境影響因子で処理することを含む方法を提供する。「環境影響因子」(Env-影響因子)は、ヒトの病的環境の正常または健全な環境への移行、その正常または健全な環境の再構築または維持を可能として正常な状態をもたらす有益な様式でヒトの病的環境に影響を及ぼす、またはヒトの病的環境を変調する分子である。Env-影響因子は、以下に定義されるような多次元細胞内分子(Multidimensional Intracellular Molecule)(MIM)およびエピメタボリックシフター(Epimetabolic shifter)(Epi-shifter)の両方を含む。MIMおよびエピシフターは、US12/777,902(US2011-0110914)にさらに詳しく記載され、その全内容は参照によ

10

20

30

40

50

り本明細書に明示的に組み入れられる。

【0231】

「多次元細胞内分子(MIM)」という用語は、身体により天然に産生され、かつ/またはヒトの少なくとも1つの細胞中に存在する内因性分子の単離形態または合成生産された形態である。MIMは下記の機能のうちの1以上、2以上、3以上、または全てを特徴とする。MIMは細胞に侵入することができ、この細胞内への侵入には、その分子の生物学的に活性な部分が全体的に細胞に侵入する限り、細胞内への完全なまたは部分的な侵入が含まれる。MIMは、細胞内でシグナル伝達および/または遺伝子発現機構を誘導することができる。MIMは、これらの分子が治療薬および担体(例えば、薬物送達)の両方の効果を有するという点で多次元である。MIMはまた、これらの分子が疾患状態ではある様式で働き、正常状態では違った様式で働くという点で多次元である。MIMは疾患状態の細胞で選択的に働き、(適合する)正常状態の細胞には実質的に効果がないことが好ましい。MIMは選択的に疾患状態の細胞を正常状態の(適合する)細胞の表現型、代謝状態、遺伝子型、mRNA/タンパク質発現レベルなどに近づけることが好ましい。

10

【0232】

一実施形態では、MIMはまたエピシフターでもある。別の実施形態では、MIMはエピシフターでない。当業者ならば、本発明のMIMが2以上の内因性分子の混合物を包含することが意図され、この混合物が前述の機能のうちの1以上を特徴とすることを認識するであろう。前記混合物中の内因性分子は、その混合物がMIMとして機能するような比率で存在する。

20

【0233】

MIMは、脂質系分子であってもまたは非脂質系分子であってもよい。MIMの例としては、限定されるものではないが、CoQ10、アセチルCoA、パルミチルCoA、L-カルニチン、アミノ酸、例えば、チロシン、フェニルアラニン、およびシステインが挙げられる。一実施形態では、MIMは低分子である。本発明の一実施形態では、MIMはCoQ10ではない。MIMは、本明細書に詳しく記載されるアッセイのいずれかを用いて当業者が慣例的に同定することができる。

【0234】

本明細書で使用する場合、「エピメタボリックシフター」(エピシフター)は、健全(または正常)状態から疾患状態へ、またその逆にメタボリックシフトを変調し、それにより、ヒトにおける細胞、組織、器官、系および/または宿主の健康を維持または再構築する分子(内因性または外因性)である。エピシフターは、組織微小環境の正常化を果たし得る。例えば、エピシフターとしては、細胞に添加した場合または細胞から枯渇させた場合に、細胞の微小環境(例えば、代謝状態)に影響を及ぼし得るいずれの分子も含む。当業者ならば、本発明のエピシフターが2以上の分子の混合物を包含することも意図され、この混合物が前述の機能のうちの1以上を特徴とすることを認識するであろう。この混合物中の分子は、その混合物がエピシフターとして機能するような比率で存在する。

30

【0235】

いくつかの実施形態では、エピシフターは、クエン酸回路における1以上の反応の触媒に直接関与するか、またはクエン酸回路の中間体を産生する酵素など、その過剰量がクエン酸回路を駆動する酵素である。一実施形態では、この酵素は、シンターゼまたはリガーゼなどの、クエン酸回路を促進する成分酵素または酵素複合体である。例示的酵素としては、スクシニルCoAシンターゼ(クレブス回路酵素)またはピルビン酸カルボキシラーゼ(ピルビン酸の可逆的カルボキシル化を触媒してクレブス回路中間体であるオキサロ酢酸(OAA)を形成するリガーゼ)を含む。

40

【0236】

いくつかの実施形態では、本発明の酵素、例えば、本明細書に記載のMIMまたはエピシフターは、表2~6に挙げられたタンパク質を共通の活性を有する。本明細書で使用する場合、「表2~6に挙げられたタンパク質と共通の活性を有する」という句は、前記タンパク質と同一または類似の活性の少なくとも一部を示すタンパク質の能力を意味する。

50

いくつかの実施形態では、本発明のタンパク質は、前記タンパク質の活性の25%以上を示す。いくつかの実施形態では、本発明の化合物は、前記タンパク質の活性の最大約130%（含む）を示す。いくつかの実施形態では、本発明の化合物は、前記タンパク質の活性の約30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、100%、101%、102%、103%、104%、105%、106%、107%、108%、109%、110%、111%、112%、113%、114%、115%、116%、117%、118%、119%、120%、121%、122%、123%、124%、125%、126%、127%、128%、129%、または130%を示す。この段落に挙げられている値のそれぞれは、「約」という用語によって修飾されると理解されるべきである。さらに、この段落に挙げられている任意の2つの値によって定義される範囲は本発明により包含されることが意図されると理解されるべきである。例えば、いくつかの実施形態では、本発明のタンパク質は、前記タンパク質の活性の約50%～約100%の間を示す。

10

【0237】

20

#### B. データ収集

一般に、2つのデータタイプは、広汎性発達障害のいずれのカスタム構築モデル系から収集されてもよい。1つのデータタイプ（例えば、第1のデータセット、第3のデータセット）は通常、DNA、RNA、タンパク質、脂質などのある特定の高分子のレベルに関する。このカテゴリーの例示的データセットは、プロテオミクスデータ（例えば、サンプル由来の全てまたは実質的に全ての測定可能なタンパク質の発現に関する定性的および定量的データ）である。任意選択により収集され得る別のデータタイプは、第1のデータタイプの変化の結果生じる表現型変化を反映する機能データ（例えば、任意選択の第2のデータセット、第4のデータセット）である。

【0238】

30

第1のデータタイプに関して、いくつかの例示的実施形態では、定量的ポリメラーゼ連鎖反応（qPCR）およびプロテオミクスにより細胞のmRNAおよびタンパク質発現の変化をプロファイリングするために、定量的ポリメラーゼ連鎖反応（qPCR）およびプロテオミクスが行われる。全RNAは、市販のRNA単離キットを使用し、単離することができる。cDNA合成の後、血管新生、アポトーシス、および糖尿病などの罹患領域または細胞プロセスに対して特異的な市販のqPCRアレイ（例えば、SABiosciencesから得られるもの）を使用し、製造者の説明書に従うことにより、所定の遺伝子セットをプロファイリングすることができる。例えば、Biorad cfx-384増幅系が全ての転写プロファイリング実験に使用できる。データ収集（Ct）後に、対照に対する最終倍率変化を、製造者のプロトコールで概略が示されるようにCt法を決定することができる。プロテオミクスサンプル解析は、次の節に記載のとおり実施することができる。

40

【0239】

主題の方法は、類似の特徴の何百というサンプルの大規模ハイスループット定量的プロテオミクス解析を使用し、細胞出力差異を同定するために必要なデータを提供することができる。

【0240】

この目的に適した多くの当技術分野において承認されている技術が存在する。例示的技術として、質量分析と組み合わせたiTRAQ解析を以下に簡単に述べる。

【0241】

50

定量的プロテオミクスアプローチは、ペプチドの同定および定量のための8プレックスのiTRAQ試薬による安定な同位元素標識および2D-LC MALDI MS/MSに基づく。この技術による定量は相対的であって、ペプチドおよびタンパク質は参照サンプルに対する存在比を割り当てられる。マルチプルiTRAQ試験における共通の参照サンプルは、マルチプルiTRAQ試験間のサンプルの比較を容易にする。

#### 【0242】

例えば、この解析スキームを実施するために、製造者の示唆に従い、6つの主要サンプルと2つの対照プールサンプルを合わせて1つの8プレックスiTRAQ混合物とすることができる。次に、この8つのサンプルの混合物を二次元液体クロマトグラフィー、一次元での強力な陽イオン交換(SCX)および二次元での逆相HPLCにより分画することができ、その後、質量分析にかけることができる。

10

#### 【0243】

使用可能な例示的実験手順の概要が本明細書に示される。

#### 【0244】

タンパク質抽出：細胞を、プロテアーゼ阻害剤(Thermo Scientific Haltプロテアーゼ阻害剤EDTA不含)を含む8M尿素溶解バッファーで溶解し、氷上で30分間、10分ごとに5秒間ボルテックス(vertex)で攪拌しながらインキュベートすることができる。溶解は5秒パルスでの超音波処理によって完了させることができる。細胞溶解液を14000xgで15分間(4)遠心分離して細胞残渣を除去することができる。Bradfordアッセイを行ってタンパク質濃度を決定することができる。各サンプルから100μgのタンパク質を還元し(10mMジチオトレイトール(DTT)、55、1時間)、アルキル化し(25mMヨードアセトアミド、室温、30分)、トリプシン(1:25w/w、200mM炭酸水素トリエチルアンモニウム(TEAB)、37、16時間)で消化することができる。

20

#### 【0245】

セクレトームサンプルの調製：1)一実施形態では、細胞を無血清培地で培養することができ、細胞馴化培地を凍結乾燥機により濃縮し、還元し(10mMジチオトレイトール(DTT)、55、1時間)、アルキル化し(25mMヨードアセトアミド、室温で、30分間インキュベートする)、その後、アセトン沈殿(actone precipitation)により脱塩することができる。濃縮細胞馴化培地からの等量のタンパク質をトリプシン(1:25w/w、200mM炭酸水素トリエチルアンモニウム(TEAB)、37、16時間)で消化することができる。

30

#### 【0246】

一実施形態では、これらの細胞を血清含有培地で培養することができる。この培地の容量を、3k MWCO Vivaspinカラム(GE Healthcare Life Sciences)を用いて低減することができ、その後、1xPBS(Invitrogen)で再構成することができる。血清アルブミンは、培地適用条件に応じて最適化するためにバッファー交換を修正して製造者の説明書に従い、AlbuVoidカラム(Biotech Support Group、LLC)を用いて全サンプルから枯渇させた。

40

#### 【0247】

iTRAQ 8プレックス標識：各実験セットのトリプシン消化から得られたアリコートプールをプールして、プール対照サンプルを作製することができる。各サンプルからの等しいアリコートおよびプール対照サンプルは、iTRAQ 8プレックス試薬により、製造者のプロトコール(AB ScieX)に従って標識することができる。これらの反応物を合わせ、真空乾燥し、0.1%ギ酸を加えることによって再懸濁させ、LC-MS/MSにより分析することができる。

#### 【0248】

2D-NanoLC-MS/MS：全ての標識ペプチド混合物をオンライン2D-nanoLCにより分離し、エレクトロスプレータンデム質量分析により分析することができ

50

きる。実験はナノエレクトロスプレーイオン源 (Thermo Electron プレーメン、ドイツ) を備えた LTQ Orbitrap Velos 質量分析計につないだ Eksigent 2D Nano LC Ultra システムで行うことができる。

#### 【0249】

これらのペプチド混合物を流速  $4 \mu\text{L}/\text{分}$  で  $5 \text{ cm}$  SCX カラム ( $300 \mu\text{m}$  ID、 $5 \mu\text{m}$ 、PolySULFOETHYL Aspartamide カラム、PolyLC、コロンビア、MD から) に注入し、10 のイオン交換溶出セグメントとして C18 トラップカラム ( $2.5 \text{ cm}$ 、 $100 \mu\text{m}$  ID、 $5 \mu\text{m}$ 、300 ProteoPep II、New Objective、ウォーバーン、MA から) へ溶出させ、 $\text{H}_2\text{O}/0.1\% \text{ FA}$  で5分間洗浄した。次に、 $15 \text{ cm}$  溶融シリカカラム ( $75 \mu\text{m}$  ID、 $5 \mu\text{m}$ 、300 ProteoPep II、New Objective ウォーバーン、MA から) にて、 $2 \sim 45\% \text{ B}$  ( $\text{H}_2\text{O}/0.1\% \text{ FA}$  (溶媒A) および  $\text{ACN}/0.1\% \text{ FA}$  (溶媒B)) の勾配を用い、 $300 \text{ nL}/\text{分}$  で120分間さらに分離を行うことができる。

10

#### 【0250】

Orbitrap にて分解能  $30,000$  でフルスキャン MS スペクトル ( $m/z$   $300 \sim 2000$ ) を取得することができる。高エネルギー C トラップ解離 (HCD) を用いたフラグメンテーションのために最も強いイオン (最大10) を連続的に単離し、30秒間、動的に排除することができる。HCD は、 $1.2 \text{ Da}$  の単離幅で行うことができる。得られたフラグメントイオンを Orbitrap にて分解能  $7500$  でスキャンすることができる。LTQ Orbitrap Velos は、ファンデーション  $1.0.1$  を用いた Xcalibur  $2.1$  により制御することができる。

20

#### 【0251】

ペプチド/タンパク質の同定および定量: ペプチドおよびタンパク質は、SwissProt データベースに対する Mascot 検索エンジンとともに Proteosome Discoverer ソフトウェア (Thermo Electron) を用いる自動データベース検索によって同定することができる。検索パラメーターは、MS トレランスについては  $10 \text{ ppm}$ 、MS $^2$  トレランスについては  $0.02 \text{ Da}$ 、および切断の見逃しを2つまで許容する完全トリプシン消化を含み得る。カルバミドメチル化 (C) は、固定修飾として設定することができる。酸化 (M)、TMT6、および脱アミド化 (NQ) は、動的修飾として設定することができる。ペプチドおよびタンパク質の同定は、Mascot 有意閾値 ( $p < 0.05$ ) でフィルタリングすることができる。これらのフィルターはタンパク質同定の  $99\%$  信頼水準 ( $1\% \text{ FDA}$ ) を許容し得る。

30

#### 【0252】

Proteosome Discoverer ソフトウェアは、リポーターイオンに補正率を適用することができる。全ての定量化チャンネルが存在しない場合に全ての定量値を棄却することができる。相対的なタンパク質の定量は、平均強度でのノーマライゼーションによって達成することができる。

#### 【0253】

第2のデータタイプに関して、いくつかの例示的实施形態では、広汎性発達障害モデルおよび正常モデルの生体エネルギー論的プロファイリングは、解糖成分および酸化リン酸化成分の理解を可能とするために Seahorse (商標) XF24 アナライザーを使用することができる。

40

#### 【0254】

具体的には、細胞を Seahorse 培養プレートに最適で播種することができる。これらの細胞は  $100 \mu\text{l}$  の培地または処理液中に播種し、 $5\% \text{ CO}_2$  を含む  $37^\circ\text{C}$  のインキュベーターに置くことができる。2時間後、細胞が24ウェルプレートに接着したところで、 $150 \mu\text{l}$  の培地または処理液のいずれかを追加することができる。これらのプレートを培養インキュベーター内に一晩置くことができる。この二段階播種法により、培養プレート内での細胞の均一な分布が可能となる。酸素および pH センサーを含む Seaho

50

rs eカートリッジを、37 の非CO<sub>2</sub> インキュベーター内にてキャリブレーション液中で一晩水和させることができる。一般には、3種類のミトコンドリア剤をカートリッジの3つのポートに添加する。複合体III阻害剤としてのオリゴマイシン、脱共役剤としてのFCCP、および複合体I阻害剤としてのロテノンをカートリッジのそれぞれポートA、BおよびCに添加することができる。薬物原液は全て非緩衝DMEM培地に10倍濃度で調製することができる。これらのカートリッジをまず、アッセイ前の約15分間、非CO<sub>2</sub> インキュベーター内でミトコンドリア化合物とともにインキュベートすることができる。Seahorse培養プレートを、通常の増殖培地で見られる濃度でグルコースを含有するDMEM系非緩衝培地で洗浄することができる。これらの細胞を630μlの非緩衝培地で溶解させることができ、非CO<sub>2</sub> インキュベーター内で平衡化した後に、予め校正したカートリッジを備えたSeahorse装置に入れることができる。この装置は。ポートから薬物の注入を始める前に、ベースラインを得るために、混合、待機および測定サイクルを備えた3~4ループの間作動させることができる。次の薬物が導入されるまでに2ループが存在してよい。

#### 【0255】

OCR（酸素消費速度）およびECAR（細胞外酸性化速度）は、7μlチャンバー内の電極により記録することができ、カートリッジをseahorse培養プレートに押し当てて作り出すことができる。

#### 【0256】

#### C. データ統合およびin silicoモデル生成

ひと度、信頼性の適切なデータセットが得られれば、AIベースインフォマティクスシステムまたはプラットフォーム（例えば、REFS（商標）プラットフォーム）を用いて、データセットの統合およびコンピューター実装統計モデルの生成を行うことができる。例えば、例示的AIベースシステムシステムは、代謝エンドポイントの重要なドライバーとしてのタンパク質会合（ECAR/OCR）の、シミュレーションに基づくネットワークを生成し得る。図4参照。REFS（商標）システムに関するいくつかのバックグラウンドの詳細は、Xing et al., "Causal Modeling Using Network Ensemble Simulations of Genetic and Gene Expression Data Predicts Genes Involved in Rheumatoid Arthritis," PLoS Computational Biology, vol. 7, issue. 3, 1-19 (March 2011) (e100105) およびPeriwalに対する米国特許第7,512,497号に見出すことができ、これらのそれぞれの全内容は参照によりそのまま本明細書に明示的に組み入れられる。本質的に、先に述べたように、REFS（商標）システムは、入力変数（例えば、タンパク質発現レベル、mRNA発現レベル、および対応する機能データ、例えば、Seahorse培養プレートで測定されるOCR/ECAR値）の間の因果関係を確立するために数学的アルゴリズムを利用するAIベースシステムである。このプロセスは、潜在的、確立された、および/または確認されたいずれの生物学的関係に関する既存の知識も考慮することなく、入力データだけに基づく。

#### 【0257】

特に、本発明のプラットフォームの重要な利点は、そのAIベースシステムが、その生物学的プロセスに関する当技術分野のいずれの既存の知識にも頼らず、または考慮することなく、細胞モデルから得られたデータセットに基づくということである。さらに、好ましくは、統計的または人為的にカットオフされるデータ点が無く、代わりに、得られたデータが全て、タンパク質会合を決定するためにAIシステムに供給される。従って、結果としてプラットフォームから生成された統計モデルは、それらがいずれの既知の生物学的関係を考慮も考慮しないことから、不偏である。

#### 【0258】

具体的には、プロテオミクスおよびECAR/OCRからのデータをAIベース情報システムに入力することができ、これにより、上記のように、データの関連に基づく統計モデルが構築される。次に、下記の方法を使用し、処置および病態を含む通常のシナリオに対して各疾患の、シミュレーションに基づくタンパク質会合のネットワークが導かれる。

## 【0259】

生成された（例えば、最適化されたまたは進化した）ネットワークを構築するための例示的プロセスの詳細な説明は、以下で図5に関して示す。上記のように、プロテオミクスおよび任意選択による機能的細胞データからのデータが、AIベースシステムに入力される（工程210）。この入力データ（生データまたは最小限に加工されたデータであり得る）は前処理され、ノーマライゼーション（例えば、分位機能または内部標準を使用）を含み得る（工程212）。この前処理はまた、欠損データ値の補完（例えば、K近傍（K-NN）アルゴリズムの使用による）を含み得る（工程212）。

## 【0260】

前処理データは、ネットワークフラグメントライブラリーを構築するために使用される（工程214）。ネットワークフラグメントは、測定された変数（入力データ）の可能性のある全ての小セット（例えば、2～3メンバーセットまたは2～4メンバーセット）間の定量的な連続的關係を定義する。フラグメント内の変数間の關係は、直線的、ロジスティック、多項的、優性または劣性同型接合などであり得る。各フラグメント内の關係には、候補となる關係が入力データに与えられる可能性を反映するベイジアン確率スコアが割り当てられ、またその關係に、その数学的複雑性に関するペナルティーを科す。入力データから推論された、可能性のある2者關係および3者關係（いくつかの実施形態ではまた、4者關係）の全てをスコア化することにより、そのライブラリーにおいて最も可能性の高いフラグメント（ライクリーフラグメント）を同定することができる。また、その關係の量的パラメーターも入力データに基づいて計算され、各フラグメントに関して保存される。限定されるものではないが、線形回帰、ロジスティック回帰、（分散分析）ANOVAモデル、（共分散分析）ANCOVAモデル、非線形/多項式回帰モデル、さらにはノンパラメトリック回帰を含め、様々なモデルタイプがフラグメント列挙に使用され得る。モデルパラメーターに対する先行仮説は、モデルに用いられるパラメーター数に関するGull分布またはベイジアン情報量基準（BIC）ペナルティーを仮定し得る。ネットワーク推論プロセスでは、イニシャルトライアルネットワークのアンサンブルにおける各ネットワークは、フラグメントライブラリーのフラグメントのサブセットから構築される。イニシャルトライアルネットワークのアンサンブルにおける各イニシャルトライアルネットワークは、フラグメントライブラリー由来のフラグメントの異なるサブセットを用いて構築される（工程216）。

## 【0261】

ベイジアンネットワークおよびネットワークフラグメントの基礎にあるXing et al., "Causal Modeling Using Network Ensemble Simulations of Genetic and Gene Expression Data Predicts Genes Involved in Rheumatoid Arthritis," PLoS Computational Biology, vol. 7, issue. 3, 1-19 (March 2011) (e100105)に基づく数学的表現の概要を以下に示す。

## 【0262】

ランダム変数  $X = X_1, \dots, X_n$  をとる多変量系は、多変量確率分布関数  $P(X_1, \dots, X_n; \Theta)$ （大きな数のパラメーターを含む）を特徴とし得る。多変量確率分布関数は因数分解し、局所的条件付き確率分布の解によって表すことができる：

## 【数1】

$$P(X_1, \dots, X_n; \Theta) = \prod_{i=1}^n P_i(X_i | Y_{j_1}, \dots, Y_{j_{K_i}}; \Theta_i)$$

## 【0263】

式中、各変数  $X_i$  は、その  $K_i$  親変数（ $Y_{j_1}, \dots, Y_{j_{K_i}}$  である）が与えられた場合、その非子孫変数に依存しない。因数分解後、各局所的確率分布はその固有のパラメーター  $\Theta_i$  を有する。

## 【0264】

多変量確率分布機能は、種々の方法で因数分解可能であり、この場合の各特定の因数分

10

20

30

40

50

解および対応するパラメータは異なる確率モデルである。各特定の因数分解（モデル）は、各変数  $X_i$  の頂点と、局所的条件付き分布  $P_i(X_i | Y_{j_1}, \dots, Y_{j_{K_i}})$  における変数間の従属性を表す頂点間の有向辺とを有する有向無閉路グラフ（DAC）により表すことができる。それぞれ頂点と、関連の有向辺を含む、DAGのサブグラフがネットワークフラグメントである。

【0265】

モデルは、入力データが与えられた場合に最も可能性の高い因数分解と最も可能性の高いパラメータを決定することによって進化させられ、または最適化される。これは、「ベイジアンネットワークの学習」または言い換えれば、入力データのトレーニングセットが与えられた場合の、入力データと最もよく一致するネットワークの発見ということができる。これは、各ネットワークを入力データに関して評価するスコアリング関数を使用することにより達成される。

10

【0266】

ベイジアンフレームワークは、入力データが与えられた場合に因数分解の尤度を決定するために使用される。ベイズの法則は、データの確率  $P(D)$  がモデル間で一定であると仮定し、データ  $D$  が与えられた場合のモデル  $M$  の事後確率  $P(D|M)$  が、モデル仮説が与えられた場合のデータの事後確率の解  $P(D|M)$  に、そのモデルの事前確率  $P(M)$  をかけた積に比例することを示す。このことは下式で表される。

【数2】

$$P(M|D) = \frac{P(D|M) * P(M)}{P(D)}$$

20

【0267】

このモデルがパラメータの事前分布のデータ尤度の積分であると仮定した場合のデータの事後確率：

【数3】

$$P(D|M) = \int P(D|M(\Theta))P(\Theta|M)d\Theta$$

【0268】

全てのモデルが等しくあり得る（すなわち、 $P(M)$  が一定である）と仮定すれば、データ  $D$  が与えられた場合のモデル  $M$  の事後確率を因数分解すると、次のように、各ローカルネットワークフラグメント  $M_i$  のパラメータの積分の解が得られる。

30

【数4】

$$P(M|D) = \prod_{i=1}^n \int P_i(X_i | Y_{j_1}, \dots, Y_{j_{K_i}}; \Theta_i)$$

【0269】

上の式において、主定数項は省略されていることに留意されたい。いくつかの実施形態では、モデルの事後確率  $P(D|M)$  の負の対数をとるベイジアン情報量基準（BIC）を下記のように各モデルを「スコア化」するために使用可能である：

40

【数5】

$$S_{tot}(M) = -\log P(M|D) = \sum_{i=1}^n S(M_i),$$

【0270】

式中、モデル  $M$  の総スコア  $S_{tot}$  は、各ローカルネットワークフラグメントのローカルスコア  $S_i$  の合計である。BICはさらに、個々のネットワークフラグメントそれぞれのスコアを決定するための表現を与える：

## 【数 6】

$$S(M_i) \approx S_{BIC}(M_i) = S_{MLE}(M_i) + \frac{\kappa(M_i)}{2} \log N$$

## 【0271】

式中、 $(M_i)$  はモデル  $M_i$  におけるフィッティングパラメーターの数であり、 $N$  はサンプル（データ点）の数である。 $S_{MLE}(M_i)$  は、ネットワークフラグメントの尤度関数の負の対数であり、各ネットワークフラグメントに用いた機能関係から算出することができる。BICスコアについては、スコアが小さいほど、モデルが入力データに当てはまる可能性が高い。 10

## 【0272】

トライアルネットワークのアンサンプルにはグローバルな最適化が行われ、これはネットワークの最適化または進化とすることができる（工程218）。例えば、トライアルネットワークは、メトロポリス・モンテカルロ・サンプリング・アルゴリズムに従って進化および最適化することができる。シミュレーションアニーリングを用いて、ローカル変換によるアンサンプルの各トライアルネットワークを進化および最適化することができる。シミュレーションアニーリングプロセスの一例では、各トライアルネットワークは、ライブラリーからネットワークフラグメントを加えること、トライアルネットワークからネットワークフラグメントを削除すること、ネットワークフラグメントを置換すること、またはそうでなければネットワークポロジータを変化させることによって変化させ、その後、ネットワークの新しいスコアが計算される。一般に言って、スコアが改善していればその変化が維持され、スコアが悪くなっていればその変化は棄却される。「温度」パラメーターは、スコアを悪くするいくつかのローカル変化の維持を可能とし、いくつかの極小値の回避において最適化プロセスを助ける。「温度」パラメーターは、最適化/進化プロセスを収束させるために経時的に引き下げる。 20

## 【0273】

ネットワーク推論プロセスの全てまたは一部は、トライアル差異ネットワークに対して並行して行うことができる。各ネットワークは、セパレートプロセッサおよび/またはセパレートコンピューターデバイスで並行して最適化することができる。いくつかの実施形態では、最適化プロセスは、並行作動する何百～何千のプロセッサを組み込んだスーパーコンピューターで行うことができる。情報は並行プロセッサで行われる最適化プロセス間で共有することができる。 30

## 【0274】

最適化プロセスは、総スコアの閾値標準を満たすことができないネットワークをそのアンサンプルから落とすネットワークフィルターを含み得る。落とされたネットワークは、新たなイニシャルネットワークに置換され得る。さらに、「スケールフリー」でないネットワークもアンサンプルから落とされる。ネットワークのアンサンプルが最適化された、または進化した後、その結果は生成細胞モデルネットワークのアンサンプルと呼ぶことができ、これらはひとまとめにして生成コンセンサスネットワークと呼ぶことができる。 40

## 【0275】

D. 定量的関係情報の抽出および予測のためのシミュレーション

生成細胞モデルネットワークにおける各関係に関する定量的パラメーター情報を抽出するためには、シミュレーションを使用することができる（工程220）。例えば、定量的情報抽出のためのシミュレーションは、そのネットワークの各ノードを10倍だけ摂動（増加または減少）させること、およびそのモデルの他のノード（例えば、タンパク質）に関する事後分布を算出することを含み得る。エンドポイントは、1群当たり100サンプルおよび有意性カットオフ0.01のt検定により比較される。t検定統計量は100回のt検定の中央値である。このシミュレーション技術の使用により、予測の強度を表すAUC（曲線下面積）およびエンドポイントを駆動するノードのin silico規模を 50

表す倍率変化が、ネットワークのアンサンブルにおける各関係に関して生成される。

【0276】

ローカルコンピューターシステムの関係定量モジュールは、AIベースシステムに摂動を実行するよう、ならびにAUC情報および倍率情報を抽出するよう指示するために使用され得る。抽出された定量的情報は、親ノード(parent node)から子ノードへつながる各辺に関する倍率変化およびAUCを含み得る。いくつかの実施形態では、カスタム構築Rプログラムを用いて定量的情報を抽出することができる。

【0277】

いくつかの実施形態では、生成細胞モデルネットワークのアンサンブルを、シミュレーションにより使用して、条件変化に対する応答を予測することができ、後にこれをウェット細胞系または動物系実験により(through)確認することができる。

10

【0278】

AIベースシステムの出力は、定量的関係パラメーターおよび/または他のシミュレーション予測であり得る(222)。

【0279】

#### E. ディファレンシャル(デルタ)ネットワークの生成

生成細胞モデルネットワークと生成比較細胞モデルネットワークの間のディファレンシャル(デルタ)ネットワーク(例えば、広汎性発達障害と関連づけられた細胞から生成されたネットワークと対照細胞から生成されたネットワークの間のディファレンシャル(デルタ)ネットワーク)を生成するためには、ディファレンシャルネットワーク創出モジュールを使用することができる。上記のように、いくつかの実施形態では、ディファレンシャルネットワークは、生成細胞モデルネットワークおよび生成比較細胞モデルネットワークにおける関係の全ての定量的パラメーターを比較する。ディファレンシャルネットワークにおける各関係の定量的パラメーターは、この比較に基づく。いくつかの実施形態では、差異は、様々なディファレンシャルネットワーク間で採ることができ、これはデルタ-デルタネットワークと呼ぶことができる。ディファレンシャルネットワーク創出モジュールは、PERLで書かれたプログラムまたはスクリプトであり得る。

20

【0280】

#### F. ネットワークの可視化

ネットワークのアンサンブルに関する、およびディファレンシャルネットワークに関する関係値は、ネットワーク可視化プログラム(例えば、Cytoscapeコンソーシアムからの複雑ネットワーク解析および可視化のためのCytoscapeオープンソースプラットフォーム)を用いて可視化することができる。ネットワークのビジュアル表示では、各辺(例えば、タンパク質をつなぐ各直線)の厚さは、倍率変化の強度を表す。これらの辺は因果関係を示す有向性でもあり、各辺は関連の予測信頼水準を有する。

30

【0281】

#### G. 例示的コンピューターシステム

図6は、いくつかの実施形態で、AIベースインフォマティクスシステムと通信するため、ディファレンシャルネットワークを生成するため、ネットワークを可視化するため、データのセーブおよびストアのため、ならびに/またはユーザーと相互作用するために使用され得る例示的コンピューターシステム/環境を模式的に示す。上記で説明したように、AIベースインフォマティクスシステムに関する計算は、示的コンピューターシステムと直接的または間接的に相互作用する何百または何千のパラレルプロセッサを備えたサーバスーパーコンピューターで行うことができる。環境には、関連の周辺デバイスを備えたコンピューターデバイス100が含まれる。コンピューターデバイス100は、本明細書で教示される様々な方法または方法の一部を実行するための実行可能コード150を実装するようにプログラム可能である。コンピューターデバイス100は、ハードドライブ、CD-R、または他の非一時的コンピューター可読媒体などの保存デバイス116を含む。保存デバイス116は、オペレーティングシステム118および他の関連のソフトウェアを保存することができる。コンピューターデバイス100は、さらにメモリー

40

50

106を含み得る。メモリー106は、DRAM、SRAM、EDO RAMなどのコンピュータシステムメモリーまたはランダムアクセスメモリーを含み得る。メモリー106は、他のタイプのメモリーだけでなく、またはそれらの組合せも含み得る。コンピュータデバイス100は、保存デバイス116および/またはメモリー106に、実行可能コード150の各部分を実装および処理するための命令を保存し得る。

#### 【0282】

実行可能コード150は、AIベースインフォマティクスシステム190と通信するためのコード、ディファレンシャルネットワークを生成するためのコード（例えば、ディファレンシャルネットワーク創出モジュール）、AIベースインフォマティクスシステムからの定量的関係情報を抽出するためのコード（例えば、関係定量モジュール）、およびネットワークを可視化するためのコード（例えば、Cytoscape）を含み得る。

10

#### 【0283】

いくつかの実施形態では、コンピュータデバイス100は、AIベースインフォマティクスシステム190（例えば、REFSを実行するためのシステム）と直接的または間接的に通信し得る。例えば、コンピュータデバイス100は、ネットワークを介してAIベースインフォマティクスシステム190にデータファイル（例えば、データフレーム）を転送することによってAIベースインフォマティクスシステム190と通信することができる。さらに、コンピュータデバイス100は、AIベースインフォマティクスシステム190にインターフェースおよび命令を与える実行可能コード150を有してもよい。

20

#### 【0284】

いくつかの実施形態では、コンピュータデバイス100は、入力データセットにデータを供給する1以上の実験系180と直接的または間接的に通信することができる。データを生成するための実験系180は、質量分析に基づくプロテオミクス、マイクロアレイ遺伝子発現、qPCR遺伝子発現、質量分析に基づくメタボロミクス、および質量分析に基づくリポミクス、SNPマイクロアレイ、機能アッセイのパネル、ならびに他のin-vitroバイオロジープラットフォームおよび技術に関する系を含み得る。

#### 【0285】

コンピュータデバイス100はまたプロセッサ102も含み、メモリー106に保存されているソフトウェアを実行するための1以上の付加的プロセッサ102'ならびにシステムハードウェア、周辺デバイスおよび/または周辺ハードウェアを制御するための他のプログラムを含み得る。プロセッサ102およびプロセッサ102'はそれぞれシングルコアプロセッサまたはマルチコア（104および104'）プロセッサであり得る。コンピュータデバイス100には、コンピュータデバイスにおいてインフラとリソースが動的に共有され得るように仮想化が使用され得る。仮想化プロセッサはまた、実行可能コード150保存デバイス116の他のソフトウェアとも併用可能である。複数のプロセッサで実行中のプロセスを、そのプロセスが複数ではなくただ1つのコンピュータリソースを使用しているように見えるように取り扱うために仮想マシン114を設けてもよい。また、1つのプロセッサとともに複数の仮想マシンが使用されてもよい。

30

40

#### 【0286】

ユーザーは、コンピュータモニターなどの、ユーザーインターフェース124または他の任意のインターフェースを表示し得るビジュアルディスプレイデバイス122を介してコンピュータデバイス100と対話をすることができる。ディスプレイデバイス122のユーザーインターフェース124は、生データ、ネットワークのビジュアル表示を表示させるために使用することができる。ビジュアルディスプレイデバイス122はまた、例示的具体例の他のアспектまたはエレメント（例えば、保存デバイス116のアイコン）も表示し得る。コンピュータデバイス100は、ユーザーからの入力を受け取るためのキーボードまたはマルチポイントタッチインターフェース（例えば、タッチスクリーン）108およびポインティングデバイス110（例えば、マウス、トラックボールおよ

50

び/またはトラックパッド)などの他のI/Oデバイスを含み得る。キーボード108およびポインティングデバイス110は、ビジュアルディスプレイデバイス122および/またはコンピューターデバイス100にワイヤ接続および/またはワイヤレス接続で接続され得る。

【0287】

コンピューターデバイス100は、限定されるものではないが、標準電話線、LANまたはWANリンク(例えば、802.11、T1、T3、56kb、X.25)、ブロードバンド接続(例えば、ISDN、Frame Relay、ATM)、ワイヤレス接続、コントローラエリアネットワーク(CAN)、または上記のいずれかまたは全ての組合せを含む多様な接続によりローカルエリアネットワーク(LAN)、ワイドエリアネットワーク(WAN)またはインターネットを介してネットワークデバイス126に接続するためのネットワークインターフェース112を含み得る。ネットワークインターフェース112は、ビルトインネットワークアダプター、ネットワークインターフェースカード、PCMCIAネットワークカード、カードバスネットワークアダプター、ワイヤレスネットワークアダプター、USBネットワークアダプター、モデムまたはコンピューターデバイス100を、通信と本明細書に記載されるオペレーションの実行が可能な任意のタイプのネットワークと接続可能とするのに好適な他の任意のデバイスを含み得る。

10

【0288】

さらに、コンピューターデバイス100は、ワークステーション、デスクトップコンピューター、サーバー、ラップトップ、ハンドヘルドコンピューターまたは他の形態のコンピューターまたはテレコミュニケーションデバイスなど、通信が可能で、かつ、本明細書に記載されるオペレーションを実行するのに十分な処理力と記憶容量を備えたいずれのコンピューターシステムであってもよい。

20

【0289】

コンピューターデバイス100は、任意のバージョンのMICROSOFT WINDOWS(登録商標)オペレーティングシステム、種々のリリースのUnix(登録商標)およびLinux(登録商標)オペレーティングシステム、Macintoshコンピューター用の任意のバージョンのMACOS、任意の組み込みオペレーティングシステム、任意のリアルタイムオペレーティングシステム、任意のオープンソースオペレーティングシステム、任意の専有オペレーティングシステム、モバイルコンピューターデバイス用の任意のオペレーティングシステム、またはコンピューターデバイスで実行可能であり、かつ、本明細書に記載されるオペレーションを実行することができる他の任意のオペレーティングシステムなどの任意のオペレーティングシステム118を実行可能である。オペレーティングシステムはネイティブモードまたはエミュレーションモードで実行可能である。

30

【0290】

H. 広汎性発達障害の治療標的および/または診断マーカーとしてのタンパク質を同定するために使用される例示的細胞モデルおよびタンパク質解析

事実上全ての病態は、種々の細胞種および/または器官系間の複雑な相互作用を含む。ある細胞種または器官における決定的な機能の摂動は、相互作用している他の細胞種および器官に二次的な影響をもたらし得、このような下流変化は次に最初の変化へフィードバックされ、さらなる複雑性を生じ得る。

40

【0291】

よって、ある与えられた病態を細胞種または器官のペア間の相互作用などのその要素へ分解し、その病態のより完全な全貌を得るために、これらの要素間の相互作用を体系的に探ることが有用であり得る。

【0292】

この目的で、出願者らは、自閉症およびアルツハイマー病などの広汎性発達障害に関連するいくつかの病態において主題のディスカバリープラットフォームで使用するための細胞対の複数のセットを特定し、特定の病態に重要であり得る重要な決定的差異を解読するためにディスカバリープラットフォームを使用した実験を行った。以下に示される細胞株

50

を、本明細書に記載のように処理し、解析した。

【0293】

細胞株1	細胞株2	疾患モデル
自閉症個体由来の細胞	対照健常個体(例えば、自閉症に罹患していない親または兄弟)由来の細胞株	自閉症
アルツハイマー病罹患個体由来の細胞株	対照健常個体(例えば、アルツハイマー病に罹患していない兄弟または親)由来の細胞株	アルツハイマー病

10

【0294】

挙げられている各病態には、様々なストレス条件/ストレッサーを使用することができる。これらのストレッサー/条件は、細胞系の場合では外部刺激を構成し得る。例えば、これらの細胞を補酵素Q10で処理することができる。

【0295】

#### 1. プロテオミクスサンプル解析

特定の実施形態では、主題の方法は、類似の特徴の何百というサンプルの大規模ハイスループット定量的プロテオミクス解析を使用し、細胞出力差異を同定するために必要なデータを提供する。

20

【0296】

この目的に好適な当技術分野において承認されている技術が多数存在する。例示的技術であるiTRAQ解析と質量分析の併用を以下に簡単に述べる。

【0297】

iTRAQ技術を用いた相対的定量的ための参照サンプルを提供するために、複数のQCプールが作り出される。各サンプルのアリコートからなる2つの別個のQCプールが細胞#1および細胞#2サンプルから生成され、これらのサンプルはそれぞれ上清およびペレットについてQCS1とQCS2、およびQCP1とQCP2と呼ばれる。これら2つの細胞株間のタンパク質濃度の比較を可能とするために、上記のQCプールからの細胞ペレットアリコートを等量ずつ合わせ、参照サンプル(QCP)を作製する。

30

【0298】

定量的プロテオミクスアプローチは、8プレックスiTRAQ試薬による安定な同位元素標識と、ペプチドの同定および定量的ための2D-LC MALDI MS/MSに基づく。この技術による定量は相対的であり、ペプチドおよびタンパク質は、参照サンプルに対する存在比を割り当てられる。複数のiTRAQ実験において共通の参照サンプルが、複数のiTRAQ実験間のサンプル比較を容易にする。

【0299】

この解析スキームを実施するために、6つの一次サンプルと2つの対照プールサンプルを合わせて8プレックスiTRAQ混合物に入れる(なお、これらの対照プールサンプルは製造者の示唆に従って113および117試薬で標識する)。この8つのサンプルの混合物を次に、二次元液体クロマトグラフィー(一次元目は強陽イオン交換(SCX)、二次元目は逆相HPLC)により分画する。HPLC溶出液を直接MALDIプレートへ分画し、これらのプレートをMDS SCIE X/AB 4800 MALDI TOF/TOF質量分析計で分析する。

40

【0300】

付加的な情報がない場合、タンパク質発現の最も重要な変化は異なる処理条件下の同じ細胞種内にあると仮定される。このため、細胞#1および細胞#2由来の一次サンプルは

50

別個の i T R A Q 混合物で分析される。細胞 # 1 と細胞 # 2 のサンプルのタンパク質発現の比較を容易にするために、一次または細胞株特異的 Q C サンプル ( Q C 1 および Q C 2 ) により占有されていない、利用可能な「 i T R A Q スロット」で、ユニバーサル Q C P サンプルが分析される。

【 0 3 0 1 】

用いた実験手順の概要を本明細書に示す。

【 0 3 0 2 】

a . 細胞上清サンプルからのタンパク質抽出

細胞上清サンプル ( C S N ) では、培養培地由来のタンパク質は、培養細胞により分泌されたタンパク質よりも大過剰で存在する。このバックグラウンドを減らす試みにおいて、目立って存在量の多いタンパク質の除去を行った。ウシまたはウマ血清タンパク質に関しては特異的アフィニティーカラムが利用できないので、抗ヒト I g Y 1 4 カラムを用いた。これらの抗体はヒトタンパク質に対するものであるため、抗体のポリクローナル性によってもたらされる広い特異性が、使用した細胞培養培地中に存在するウシおよびウマの両方のタンパク質の除去を達成すると予想された。

10

【 0 3 0 3 】

2 0 0 μ l アリコートの C S N Q C 材料を 1 0 m L I g Y 1 4 除去カラムに添加した後、通過材料中の総タンパク質濃度を決定するための試験 ( ビシニコニン酸 ( B C A ) アッセイ ) を開始する。次に、およそ 4 0 μ g の総タンパク質を含有する除去済み画分を得るための添加容量を選択する。

20

【 0 3 0 4 】

b . 細胞ペレットからのタンパク質抽出

細胞 # 1 および細胞 # 2 のアリコートを、B G M において組織サンプルの分析に使用する「標準」溶解バッファーに溶解させ、総タンパク質含量を B C A アッセイにより測定する。これらの代表的細胞溶解液のタンパク質含量が確定されたところで、全ての細胞ペレットサンプル ( 第 1 . 1 節に記載の Q C サンプルを含む ) を処理して細胞溶解液を得た。総タンパク質およそ 4 0 g の溶解液量を処理ワークフローの次へ進めた。

【 0 3 0 5 】

c . 質量分析のためのサンプル調製

サンプル調製は標準的な操作手順に従い、下記からなる。

30

【 0 3 0 6 】

- ・タンパク質の還元およびアルキル化
- ・逆相カラムでのタンパク質の精製 ( 細胞ペレットのみ )
- ・トリプシンによる消化
- ・ i T R A Q 標識
- ・強陽イオン交換クロマトグラフィー - 6 画分の回収 ( A g i l e n t 1 2 0 0 システム )
- ・ H P L C 分画および M A L D I プレートへのスポット ( D i o n e x U l t i m a t e 3 0 0 0 / P r o b o t システム )

40

d . M A L D I M S および M S / M S

H P L C - M S は一般に、オンライン E S I M S / M S 戦略を用いる。B G M e d i c i n e は、同じサンプルを何度も注入する必要なく、一次サンプル間に観測したタンパク質のより良好な一致率をもたらすオフライン L C - M A L D I M S / M S プラットフォームを使用する。全ての i T R A Q 混合物で一次通過データを収集した後、これらのペプチド画分は M A L D I ターゲットプレート上に保持されるので、これらのサンプルは、1 回目の取得中に得られた知見から導かれたターゲット M S / M S 取得パターンを用いて 2 回目の分析を行うことができる。このようにして、同定されたタンパク質の全てで最大観察頻度が達成される ( 理想的には、全てのタンパク質が全ての i T R A Q 混合物で測定されるべきである ) 。

【 0 3 0 7 】

50

## e. データ処理

BGMプロテオミクスワークフロー内のデータ処理プロセスは、各iTRAQ混合物に関して個々に完了される事前のペプチド同定および定量などの手順（第1.5.1節）およびそのプロジェクトに関してデータ取得が完了するまで完了しないペプチドのタンパク質への最終的な割り当ておよびタンパク質の最終的定量などのプロセス（第1.5.2節）に分けることができる。

## 【0308】

BGMプロテオミクスワークフロー内の主要データ処理工程は次の通りである。

## 【0309】

・ Mascot (Matrix Sciences) データベース検索エンジンを用いたペプチド同定

・ Mascot IDの自動インハウスバリデーション

・ ペプチドの定量およびタンパク質の予備定量

・ 最終データセットのエキスパートキュレーション

・ 自動PVTツールを用いた各混合物由来のペプチドの、共通のタンパク質セットへの最終割り当て

・ 異常値の排除およびタンパク質の最終定量

## i. 個々のiTRAQ混合物のデータ処理

各iTRAQ混合物がワークフローにより処理される場合、ペプチドおよびタンパク質同定、ならびに定量情報の最初の評価のために専有BGMソフトウェアツールを用いてMS/MSスペクトルが解析される。この予備解析の結果に基づき、その混合物における各一次サンプルに関するワークフローの質がBGM性能測定基準セットに対して判断される。与えられたサンプル（または混合物）が特定の最小性能測定基準を通過せず、さらなる材料が利用できる場合には、そのサンプルはそのまま反復され、最終的なデータセットに統合されるのは、ワークフローのこの第2の実施からのデータである。

## 【0310】

## ii. ペプチド同定

MS/MSスペクトルを、ブタのトリプシンなどの共通混入配列により拡張されたヒト、ウシ、およびウマ配列を含有するUniProtタンパク質配列データベースで検索した。修飾の完全なリストを含むMascot検索パラメーターの詳細を表1に示す。

## 【表1】

Mascot検索パラメーター

前駆体質量許容差	100 ppm
フラグメント質量許容差	0.4 Da
可変修飾	N末端iTRAQ8 リシンiTRAQ8 Cysカルバミドメチル Pyro-Glu (N末端) Pyro-カルバミドメチルCys(N末端) 脱アミド化(Nのみ) 酸化(M)
酵素特異性	完全トリプシン型
許容されるトリプシン処理部位の見逃しの数	2
想定されるペプチドランク	1

10

20

30

40

50

## 【0311】

Mas cot 検索が完了した後、特定のMas cotペプチドマッチをプロモート（すなわち、バリデート）するためにオートバリデーション手順を用いる。有効マッチと無効マッチの間の区別は、予測されたMas cotスコアに対して得られたMas cotスコア、およびランク1ペプチドMas cotスコアとランク2ペプチドMas cotスコアの間の差異に基づく。バリデーションに必要な基準は、そのペプチドがiTRAQ混合物中の単一のタンパク質にマッチしたいくつかのうちの1つである場合、またはそのペプチドが従前にバリデートされたペプチドのカタログ中に存在する場合には、いくらか緩和される。

## 【0312】

## i i i . ペプチドおよびタンパク質の定量

各混合物についてバリデートされたペプチドのセットを、各混合物の予備的タンパク質定量測定基準を算出するために使用する。ペプチド比は、各バリデート済みペプチドのiTRAQ標識（すなわち、m/z 114、115、116、118、119、または121）からのピーク面積を参照プール（QC1またはQC2）のピーク面積を最もよく表すもので割ることによって算出される。このピーク面積は、両サンプルがQC許容基準を通過する場合には、113と117ピークの平均である。予備的タンパク質比は、そのタンパク質にマッチする全ての「有用な」バリデート済みペプチドの中央値比を算出することによって決定される。「有用な」ペプチドは、完全標識iTRAQ（全てのN末端がリシンまたはPyroGluのいずれかで標識されている）および完全標識システイン（すなわち、全てのCys残基がカルバミドメチルまたはN末端Pyro-cmcでアルキル化されている）である。

## 【0313】

## f . 取得後の処理

そのプロジェクトの全混合物についてMS/MSデータ取得の全てのパスがひと度完了されれば、以下に述べる、各一次サンプルからの結果を簡略化し、別の結果と有意義に比較可能とすることをねらいとする3つの工程を用いてデータを対照させる。

## 【0314】

## i . ペプチド配列のタンパク質へのグローバルアサインメント

ペプチド配列のタンパク質受託番号への最終的アサインメントは、専有タンパク質バリデーションツール（PVT）により行われる。このPVT手順は、そのプロジェクトで同定されたペプチドの全コレクションを記述するために最良の最小非冗長タンパク質セットを決定する。これは、均質な分類学からのデータを取り扱うために最適化された自動化手順である。

## 【0315】

上清実験のタンパク質アサインメントは、データベースにおいて混成された分類学の複雑性を取り扱うために手動で精選された。この自動プログラムはウシおよびウマ血清添加培地で増殖される細胞培養物に関してはバリデートされていないので、ある任意のタンパク質のソースのあいまいさを最小化するためには、大規模な手動精選が必要である。

## 【0316】

## i i . ペプチド比のノーマライゼーション

各サンプルのペプチド比は、Vandesompele et al. Genome Biology, 2002, 3(7), research 0034.1-11の方法に基づいてノーマライズされる。この手順は細胞ペレット測定にのみ適用される。上清サンプルについては、定量的データは、培地を起源とするペプチド同定への最大寄与を考慮してノーマライズされない。

## 【0317】

## i i i . タンパク質比の最終的計算

標準的な統計異常値排除手順を用いて、各タンパク質中央値比前後から、対数変換データセットにおいて1.96 レベルを超える異常値を排除する。この排除プロセスの後、タンパク質比の最終セットが（再）計算される。

10

20

30

40

50

## 【0318】

## I V . 広汎性発達障害

広汎性発達障害は、自閉症障害、アスペルガー症候群、特定不能広汎性発達障害（PDD-NOS）、レット症候群、および小児期崩壊性障害を含む神経発達障害である。これらの障害および診断基準は、Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 第4版(DSM-IV); International Classification of Diseases, 第10版; Levy et al.に示され、それらの直接関連のある内容は参照により本明細書に明示的に組み入れられる。自閉症スペクトラム障害は、自閉症障害（自閉症としても知られる）、アスペルガー症候群、およびPDD-NOSを含む。自閉症スペクトラム障害は、女性よりも男性で3～4倍多く見られる。米国および欧州では、自閉症スペクトラム障害の有病率は1960年代以来、劇的に増えてきた。有病率は150人中約1人と推計される。

10

## 【0319】

自閉症スペクトラム障害は、社会的役割およびコミュニケーションの質的障害を特徴とし、多くの場合、反復・常同パターンの行動および興味を伴う。自閉症または自閉症障害は、互惠的社会化における重篤かつ広汎性の障害を含む。アスペルガー症候群は、その言語発達および認知発達が比較的保全されていることで他の自閉症スペクトラム障害から区別される。診断には必要とされないが、身体の不器用さおよび言語の非定型使用が、アスペルガー症候群においてしばしば報告されている。特定不能広汎性発達障害（PDD-NOS、「非定型パーソナリティ発達」、「非定型PDD」または「非定型自閉症」としても知られる）は、社会的相互作用、コミュニケーションの著しい障害、および/または常同行動パターンもしくは興味は見られるが、別の広汎性発達障害の全特徴を満たさない症例を包含するためにDSM-IVに含まれる。PDD-NOSと診断された個体は、社会適応が困難であるか、反復性の行動を示すか、またはある種の刺激に過敏性を示し得る。他者との相互作用では、彼らはアイコンタクトの維持が困難であるか、無感情に見えるか、または会話ができないように見える場合がある。彼らはまた、ある活動から別の活動へ移るのが困難である。

20

## 【0320】

自閉症スペクトラム障害を有する個体はまた、強迫性障害と関連づけられた症状と一部重なる強迫性行動を示す。本発明により提供される方法は広汎性発達障害、ならびに類似の症状または原因を持つ強迫性障害などの他のタイプの障害を有する個体において強迫性症状を治療するために使用され得ることが企図される。

30

## 【0321】

自閉症スペクトラム障害は遺伝性が高く、家族および双生児の研究からの遺伝率の推定によれば、変動のおよそ90%が遺伝因子に帰属することが示唆される。罹患者の親および兄弟は、言語遅延、言語の社会面の困難、社会的発達地帯、親交の不在、および完全主義または厳密な人格を含む、自閉症の亜症候群性発現（「広範な自閉症表現型」）を示す場合が多い。しかしながら、これらの障害の遺伝的側面も複合病因も理解されていない。

## 【0322】

レット症候群は、主として女兒に見られ、小さな手足、反復性の手の動き、および頭部成長速度の減速を特徴とする神経発達障害である。レット症候群を有する女兒は、消化管障害を起こしやすく、最大80%が発作を有し、一般に言語能力が無く、約50%は歩行できない。また、脊柱側湾、成長障害、および便秘も極めて多い。

40

## 【0323】

小児期崩壊性障害（CDD）は、ヘラー症候群および崩壊性精神病としても知られ、2歳から10歳前後に見られる言語、社会的役割、および運動能力の発達遅滞を特徴とする。CDDは、自閉症の低機能形態であるとみなされる場合がある。

## 【0324】

本明細書で使用する場合、「広汎性発達障害の1以上の徴候または症状を示す」被験体としては、広汎性発達障害に罹患している被験体、ならびに発達障害には罹患していないが、広汎性発達障害の亜症候群性発現、例えば、Piven et al. Am J Psychiatry 154: 1

50

85-190 (1997)およびLosh et al. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet 147: 424-433 (2008)においてDSM - IVで記載されている広汎な自閉症表現型を示す被験体を含む。広汎性発達障害、特に自閉症の1以上の徴候または症状の同定、定量、および/またはモニタリングは、自閉症診断観察検査(Autism Diagnostic Observation Schedule) (ADOS) (参照により本明細書に組み込まれるLord et al., J. Autism Dev Dis. 19:185-212 (1989))および/または改訂自閉症診断面接(Revised Autism Diagnostic Interview) (ADI - R) (Lord, et al., J. Autism Dev Dis. 24:659-685 (1994))を用いて達成することができる。本明細書で使用する場合、広汎性発達障害の1以上の徴候または症状は、広汎性発達障害の診断基準に含まれる徴候または症状であり、例えば、便秘、発作性疾患、精神遅滞、言語遅滞を招く身体奇形など、広汎性発達障害とともに一般に見られる、診断基準の態様ではない他の徴候または症状は含まない。

10

## 【0325】

「広汎性発達障害の1以上の徴候または症状を示す」被験体にはまた、このような症状を示す非ヒト被験体も含まれる。広汎性発達障害の徴候または症状を示す非ヒト動物には、これらの障害の動物モデルが含まれる。様々な遺伝子突然変異を有するいくつかのマウスが、本明細書に述べられるような自閉症および他の広汎性発達障害のモデルとしての使用のために提案されている。脆弱X症候群のショウジョウバエモデル(以下に述べるように、脆弱X遺伝子型は自閉症に関連づけられている)ならびにレット症候群のマウスモデルが知られている。

20

## 【0326】

広汎性発達障害に「罹患している」被験体としては、そのような障害を有すると臨床的に診断された被験体ならびにそのような障害を有する場合の診断基準を満たす被験体を含む。自閉症スペクトラム障害の診断のための診断基準および方法は、LevyらおよびDSM - IVに述べられている。

## 【0327】

DSM - IVにおける様々な広汎性発達障害の診断基準は次のとおりである。

## 【0328】

## 299.00 自閉症障害

(A) (1)、(2)、および(3)から合計6(以上)の項目、なお、(1)から少なくとも2つ、(2)および(3)からそれぞれ1つ

30

(1) 以下のうち少なくとも2つにより発現される社会的相互作用の質的障害

(a) 社会的相互作用を調整するための、目を合わせること、表情、姿勢、および身振りなどの複数の非言語行動の使用における著しい障害

(b) 発達レベルに相応の仲間関係を築くことができない

(c) 楽しみ、興味、または達成感を他者と共有しようとする自発的 pursuit の欠如(例えば、興味があるものを見せたり、持ってきたり、または指し示すことができないことによる)

(d) 社会的または感情的互惠性の欠如

(2) 以下のうち少なくとも2つにより発現されるコミュニケーションの質的障害

(a) 音声言語の発達の遅滞、または全面的欠如(身振りまたは模倣などの別のコミュニケーション様式で補償しようとする試みを伴わない)

40

(b) 十分な言語能力を有する個体における、他者との会話を開始または持続する能力における著しい障害

(c) 言語または奇異な言語の常同的・反復的使用

(d) 発達レベルに相応の様々な自発的ごっこ遊びまたは社会的模倣遊びの欠如

(3) 以下のうち少なくとも2つにより発現される行動、興味、および活動の限定された反復・常同パターン

(a) 強度または焦点のいずれかで異常な興味の、1以上の常同パターンを伴った没頭を包含する

(b) 特定の意味の無い習慣または儀式への見かけ上剛直な固執

50

(c) 常同・反復性の動きの癖（例えば、手や指をひらひらさせたりねじったりする、または複雑な体全体の動き）

(d) 物の一部への持続的没頭

(B) 3歳までに始まる以下の領域のうちの少なくとも1つにおける遅滞または異常な機能：(1) 社会的相互作用、(2) 社会的コミュニケーションに使用する言語、または(3) 抽象的または想像的な遊び

(C) この障害はレット障害または小児期崩壊性障害によっては上手く説明できない

299.80 レット障害

(A) 以下の全て

(1) 見かけ上正常な出生前および周産期の発達

(2) 生後5か月の見かけ上正常な精神運動発達

(3) 誕生時の見かけ上正常な頭囲

(B) 正常発達期間後に以下の全てを発症：

(1) 5か月～48か月齢の間の頭部成長の減速

(2) 5か月～30か月齢の間での、それまでに獲得されていた合目的の手の動きの喪失、その後の常同的な手の動きの発生（例えば、手をねじるまたは手をもむ）

(3) 経過の初期の社会的結びつきの欠如（ただし、社会的相互作用はその後発達する場合が多い）

(4) 協調の不十分な歩行または体幹運動の見える

(5) 重篤な精神運動遅滞を伴う、表出および受容言語発達の重篤な障害

299.10 小児期崩壊性障害

(A) 年齢相応の言語および非言語コミュニケーション、社会的関係、遊び、および適応行動の存在により発現される、生後の少なくとも最初の2年間は見かけ上正常な発達

(B) 以下の領域のうちの少なくとも2つにおける、それまでに(10歳まで)獲得されていたスキルの臨床上有意な喪失

(1) 表出または受容言語

(2) 社会的スキルまたは適応行動

(3) 腸または膀胱の制御

(4) 遊び

(5) 運動スキル

(C) 以下の領域のうち少なくとも2つにおける機能の異常

(1) 社会的相互作用の質的障害（例えば、非言語行動の障害、仲間関係を築くことができない、社会的または感情的互惠性の欠如）

(2) コミュニケーションの質的障害（例えば、音声言語の遅滞または欠如、会話を開始または維持することができない、言語の常同的・反復的使用、様々なごっこ遊びの欠如）

(3) 動きの常同性および癖を含む、行動、興味、および活動の限定的な反復・常同パターン

(D) この障害は、別の特定の広汎性発達障害または統合失調症によっては上手く説明できない。

【0329】

299.80 アスペルガー障害

(A) 以下のうち少なくとも2つのより発現される社会的相互作用の質的障害

(1) 社会的相互作用を調整するための、目を合わせること、表情、姿勢、および身振りなどの複数の非言語行動の使用における著しい障害

(2) 発達レベルに相応の仲間関係を築くことができない

(3) 楽しみ、興味、または達成感を他者と共有しようとする自発的 pursuit の欠如（例えば、興味があるものを他者に見せたり、持ってきたり、または指し示すことができないことによる）、社会的または感情的互惠性の欠如

(B) 以下のうち少なくとも1つにより発現される行動、興味、および活動の限定的な

10

20

30

40

50

## 反復・常同パターン

(1) 強度または焦点のいずれかで異常な興味の、1以上の常同・反復パターンを伴った没頭を包含する

(2) 特定の意味の無い習慣または儀式への見かけ上剛直な固執

(3) 常同・反復性の動きの癖(例えば、手や指をひらひらさせたりねじったりする、または複雑な体全体の動き)

(4) 物の一部への持続的没頭

(C) この障害は、社会的、職業的、または他の重要な機能領域において臨床上有意な障害をきたす

(D) 言語には臨床上有意な全般的遅滞はない(例えば、2歳までに一語文を使用、3歳までに会話文を使用)

(E) 認知発達、または年齢に相応な自立スキル、適応行動(社会的相互作用におけるもの以外)、および小児における環境に関する好奇心の発達に臨床上有意な遅滞がない

(F) 基準は別の広汎性発達障害または統合失調症しない

299.80 特定不能広汎性発達障害(非定型自閉症を含む)

このカテゴリーは、互恵的社会的相互作用または言語および非言語コミュニケーションスキルの発達において重篤かつ広汎性の障害が存在する場合、または常同的行動、興味、および活動が存在するが、基準が特定の広汎性発達障害、統合失調症、統合失調症型人格障害、または回避性人格障害を満たさない場合に使用されるべきである。例えば、このカテゴリーは、非定型自閉症、すなわち、発症年齢が遅いために自閉症障害の基準を満たさない病態、非定型症候、または闕下症候、またはこれらの全てを含む。

## 【0330】

自閉症および広汎性発達障害のジェネティクス

自閉症は、多くの遺伝子が関与する複雑な多因性障害であると考えられる。よって、いくつかの遺伝子座が同定され、これらのいくつかまたは全てはその表現型に寄与し得る。この登録には、染色体7q22にマッピングされているAUTS1が含まれる。

## 【0331】

他の感受性遺伝子座としては、AUTS3(608049)、染色体13q14; AUTS4(608636)にマッピングされている、染色体15q11にマッピングされている; 染色体2qにマッピングされているAUTS5(606053); 染色体17q11にマッピングされているAUTS6(609378); 染色体17q21にマッピングされているAUTS7(610676); 染色体3q25-q27にマッピングされているAUTS8(607373); 染色体7q31にマッピングされているAUTS9(611015); 染色体7q36にマッピングされているAUTS10(611016); 染色体1q41にマッピングされているAUTS11(610836); 染色体21p13-q11にマッピングされているAUTS12(610838); 染色体12q14にマッピングされているAUTS13(610908); 染色体16p11.2にマッピングされているAUTS14(611913); 染色体7q35-q36上のCNTNAP2遺伝子(604569)における突然変異と関連づけられたAUTS15(612100); 染色体3q24上のSLC9A9遺伝子(608396)における突然変異と関連づけられたAUTS16(613410); および染色体11q13上のSHANK2遺伝子(603290)における突然変異と関連づけられたAUTS17(613436)が含まれる。(注: 記号「AUTS2」は、染色体7q11上の遺伝子(KIAA0442; 607270)を表すために使用されており、従って、この自閉症遺伝子座系列の一部としては使用されない。)

3つのX連鎖型の自閉症(AUTSX1; 300425; AUTSX2; 300495; AUTSX3; 300496)は、それぞれNLGN3(300336)、NLGN4(300427)、およびMECP2(300005)遺伝子における突然変異と関連づけられている。

## 【0332】

10

20

30

40

50

マッピング研究の他、機能的候補遺伝子およびプロテオミクスアプローチも、自閉症の発症に対する感受性に影響を及ぼし得る特定の遺伝子における変異体を同定した；例えば、染色体6p21.3上のグリオキサラーゼI遺伝子(GLO1; 138750)を参照。

#### 【0333】

##### 広汎性発達障害の動物モデル

いくつかのマウスモデルが自閉症または広汎性発達障害のモデルとして使用するのに適切であり得るとして提案されている。以下のものは、治療薬、例えば、表2~6に挙げられたタンパク質の有効性および安定性を研究するために使用可能な動物モデルの例として示される。本発明に関して使用可能なさらなる動物モデルが利用可能であり、また、未来において利用可能となると理解される。ほとんどのマウスは、例えば、メイン州バーハーバーのJackson Laboratoriesから市販されている(例えば、Mice strain sheds new light on autism JAX(登録商標) NOTES Issue 512, 2008年冬を参照)。

10

#### 【0334】

neurologin3ノックアウトマウスは、遺伝子(B6; 129-Nlgn3<sup>tm2.1Sud</sup>/J)のエキソン2および3の欠失を有する標的突然変異系統である(Tabuchi et al., Science 318(5847):71-6 (2007))。これらのマウスは、それらの抑制性シナプス伝達特徴には変化を示さない。同型接合体は生存能があり、正常な大きさで、目立った身体的異常も示さない。突然変異体マウス系統はシナプス形成および/または機能、ならびに自閉症などの神経発生欠陥の研究に有用であり得ることが示唆された。loxP部位に挟まれたエキソン7にR451C突然変異(mutation)を有する第2のneurologin3トランスジェニックマウスが作出された(B6; 129-Nlgn3<sup>tm1Sud</sup>/J)。突然変異体マウスは、抑制性シナプス伝達の増進ならびに空間学習および記憶を示すが、社会的相互作用に欠陥を示す。この突然変異体マウス系統は自閉症の病態生理の研究に有用であり得ることが示唆された。Creリコンビナーゼ発現系統と併用すれば、この系統はfloxedアレルの組織特異的突然変異体の作出に有用である。標的突然変異に関して同型接合のマウスは生存能があり、繁殖力があり、正常な大きさで、目立った身体的異常も示さない。

20

#### 【0335】

ラットneurologin2を過剰発現するトランスジェニックマウス(B6.Cg-Tg(Thy1-Nlgn2)6Hnes/J)は、自閉症およびレット症候群のモデルとして提案されている(Hines et al., J Neurosci 28:6055-67, 2008)。TgNL2導入遺伝子に関して半接合性のマウスは、生存能があり、繁殖力があるが、半接合性の雌は母胎機能が不十分である。TgNL2導入遺伝子は、マウスThy1.2発現カセットにより駆動される、血球凝集素タグを有するラットneurologin2(Nlgn2またはNL2)遺伝子をコードする。HA-NL2の転写産物およびタンパク質は、中枢神経軸の神経細胞で発現され(皮質および辺縁構造、例えば、扁桃体および海馬で高レベル)、主として抑制性シナプス接合部に局在する。TgNL2.6マウスは、中~高レベルのHA-NL2発現(野生型NL2のおよそ1.6倍)を有する。この過剰発現は、寿命短縮および体重減少をもたらす。異常なシナプス成熟およびニューロン興奮性の変化を誘導して行動の欠陥をもたらす。具体的には、TgNL2.6マウスは、自閉症および/またはレット症候群を思わせる障害、すなわち、飛び跳ねる、足組み、不安、および社会的相互作用の障害を呈する。トランスジェニックマウスはまた、ストラウプ拳尾、脊柱後弯の一過性エピソード、および棘徐波発射の高い罹患率を呈する。

30

40

#### 【0336】

Gabrb3(アミノ酪酸(GABA-A)受容体サブユニット3)の3コード領域の発現が異常なマウスは、自閉症スペクトラム障害のモデルとして提案されている(129-Gabrb3<sup>tm1Geh</sup>/J)(Delorey et al., Behav Brain Res 187:207-20, 2008; Homanics et al., Proc Natl Acad Sci U S A 94:4143-8, 1997)。これらのマ

50

ウスは、口蓋裂、発作、癲癇、および麻酔薬およびエタノール感受性を含む複数の表現型異常を示す。さらに、観察される行動欠陥（特に、社会的行動に関する）が、突然変異体マウスが自閉症スペクトラム障害の有用なモデルとなり得ることを示す。

【0337】

B T B R T<sup>+</sup> t f / J は、統合失調症に関与することが知られている少なくとも t u f t e d ( t f ) 遺伝子と D i s c 1 遺伝子に突然変異を含む(Petkov et al., Genomics 83:902-11, 2004)自然発生的突然変異体マウス系統である。このマウスは、100% 脳梁の欠損、海馬交連の重大な低下を示す(Wahlsten D, 2003 Brain Res. 971:47-54)。この系統は、他の近交系に比べて社会的相互作用の低下、遊びの障害、低い探索行動、異常な発声および高い不安を含む、自閉症の重篤な症状を示す(McFarlane et al., Gen, Brain Behav 7:152-63, 2008; Moy et al., Behav Br Res. 176:4-20, 2007; Scattoni et al., PLoS ONE, 3:e3067, 2008)。

10

【0338】

アルギニンバソプレシン受容体(receptor) 1 B に突然変異を有するマウスは、内因性遺伝子の最初のメチオニンの前から膜貫通 V I 領域のすぐ上流までのコード領域をネオマイシン耐性カセットで置換することによって作出された。これらのマウスは、攻撃行動(aggressive behavior)、社会的動機づけ、および適切な行動応答の研究において有用であることが示唆されており、自閉症および攻撃性(aggression)を伴う認知症および外傷性脳損傷の潜在的モデルであり得る(B 6 ; 1 2 9 X 1 - A v p r 1 b <sup>t m 1</sup> W s y / J )。この標的突然変異に関して同型接合のマウスは生存能があり、繁殖力があり、大きさが正常で、見かけ上正常な生殖行動を示し、目立った身体的異常も示さない。同型接合マウスは、低い社会的攻撃性(social aggression)、化学物質探索行動(chemoinvestigatory behavior)の変化、および社会的認識の障害を示すことが示されている(Wersinger et al., Horm Behav 46:638-45, 2004)。

20

【0339】

自閉症または他の広汎性発達障害のモデルとして有用な他のマウスは、jaxmice.jax.org/query/f?p=205:1:2176162254083441のデータベースを使用して見出すことができる。

【0340】

V . 本発明のマーカー

本発明は、マーカー（以下、「バイオマーカー」、「マーカー」または「本発明のマーカー」）に関する。好ましい本発明のマーカーは、表 2 ~ 6 に挙げられたマーカーである。

30

【0341】

本発明は、これらのマーカーによりコードされている、またはこれらのマーカーに相当する核酸およびタンパク質（以下、それぞれ「マーカー核酸」および「マーカータンパク質」）を提供する。これらのマーカーは、広汎性発達障害の存在のスクリーニング、広汎性発達障害の重症度の評価、被験体が広汎性発達障害に罹患しているかどうかの評価、広汎性発達障害を治療するための組成物の同定、広汎性発達障害を治療するための環境影響因子化合物の有効性の評価、広汎性発達障害の進行のモニタリング、広汎性発達障害の攻撃性の予測、広汎性発達障害を有する被験体の生存の予測、広汎性発達障害の再発の予測、および被験体が広汎性発達障害を発症する素因を持つかどうかの予測に特に有用である。

40

【0342】

本発明のいくつかの実施形態では、1以上のバイオマーカーが本発明の方法とともに使用される。本明細書で使用する場合、「1以上のバイオマーカー」という用語は、開示されているバイオマーカーリスト中の少なくとも1つのバイオマーカーがアッセイされ、様々な実施形態では、リストに示されている2以上のバイオマーカーがアッセイされ得、例えば、リスト中の2つの、3つの、4つの、5つの、10の、20の、30の、40の、50の、50を超える、または全てのバイオマーカーがアッセイされ得ることを意味するものとする。

50

## 【0343】

「マーカー」は、ある組織または細胞における発現レベルの、正常または健常な組織または細胞におけるその発現レベルからの変化が、広汎性発達障害（例えば、自閉症またはアルツハイマー病）などの病態と関連している遺伝子である。「マーカー核酸」は、本発明によりコードされている、または本発明のマーカーに相当する核酸（例えば、mRNA、cDNA）である。このようなマーカー核酸としては、任意の配列番号（nt）の全配列もしくは部分配列またはそのような配列の相補物を含むDNA（例えば、cDNA）が含まれる。マーカー核酸としてはまた、任意の配列番号（nt）の全配列もしくは部分配列またはそのような配列の相補物を含むRNA（この場合、全てのチミジン残基がウリジン残基置換されている）も含まれる。「マーカータンパク質」は、本発明によりコードされている、または本発明のマーカーに相当するタンパク質である。マーカータンパク質は、配列番号（AA）の全配列もしくは部分配列を含む。「タンパク質」および「ポリペプチド」という用語は互換的に使用される。

10

## 【0344】

マーカーの「正常」発現レベルは、広汎性発達障害（例えば、自閉症またはアルツハイマー病）に罹患していないヒト被験体または患者の細胞におけるマーカーの発現レベルである。

## 【0345】

マーカーの「過剰発現」または「より高い発現レベル」とは、発現を評価するために使用するアッセイの標準誤差よりも大きい、好ましくは、対照サンプル（例えば、そのマーカーに関連する疾患、すなわち、広汎性発達障害を持たない健常な被験体由来のサンプル）におけるマーカーの発現レベル、好ましくは、いくつかの対照サンプルにおけるマーカーの平均発現レベルの少なくとも2倍、より好ましくは3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍または10倍である試験サンプルでの発現レベルを意味する。

20

## 【0346】

マーカーの「より低い発現レベル」とは、対照サンプル（例えば、そのマーカーに関連する疾患、すなわち、広汎性発達障害を持たない健常な被験体由来のサンプル）におけるマーカーの発現レベル、好ましくは、いくつかの対照サンプルにおけるマーカーの平均発現レベルのせいぜい2分の1、より好ましくは3分の1、4分の1、5分の1、6分の1、7分の1、8分の1、9分の1または10分の1である試験サンプルの発現レベルを意味する。

30

## 【0347】

「転写されたポリヌクレオチド」または「ヌクレオチド転写産物」は、本発明のマーカーの転写、およびもしあれば、RNA転写産物の通常転写後プロセッシング（例えば、スプライシング）、およびRNA転写産物の逆転写により作られた成熟mRNAの全長または一部と相補的または相同なポリヌクレオチド（例えば、mRNA、hnRNA、cDNA、またはそのようなRNAもしくはcDNAの類似体）である。

## 【0348】

「相補的」とは、2本の核酸鎖の領域間または同じ核酸鎖の2つの領域間の配列相補性という広い概念を意味する。第1の核酸領域のアデニン残基は、残基がチミンまたはウラシルである場合の第1の領域と逆平行にある第2の核酸領域の残基と特異的水素結合（「塩基対」）を形成できることが知られている。同様に、第1の核酸鎖のシトシン残基は、残基がグアニンである場合の第1鎖と逆平行にある第2の核酸の残基と塩基対を形成できることが知られている。核酸の第1の領域は、2つの領域が逆平行様式で配置されている場合に、第1の領域の少なくとも1つのヌクレオチド残基が第2の領域の残基と塩基対を形成できるならば、同じまたは異なる核酸の第2の領域と相補的である。好ましくは、第1の領域は第1の部分を含み、第2の領域は第2の部分を含み、それにより、第1の部分と第2の部分が逆平行様式で配置されている場合に、第1の部分のヌクレオチド残基の少なくとも約50%、好ましくは少なくとも約75%、少なくとも約90%、または少なくとも約95%が第2の部分のヌクレオチド残基と塩基対を形成することができる。より好

40

50

ましくは、第1の部分の全てのヌクレオチド残基が第2の部分のヌクレオチド残基と塩基対を形成することができる。

【0349】

「相同」とは、本明細書で使用する場合、同じ核酸鎖の2つの領域間または2つの異なる核酸鎖の領域間のヌクレオチド配列の類似性を意味する。両領域のヌクレオチド残基位置が同じヌクレオチド残基で占められていれば、それらの領域はその位置において相同である。第1の領域は、各領域の少なくとも1つのヌクレオチド残基位置が同じ残基で占められていれば、第2の領域と相同である。2つの領域間の相同性は、同じヌクレオチド残基で占められている2つの領域のヌクレオチド残基位置の割合に関して表される。例として、ヌクレオチド配列5'-ATTGCC-3'を有する領域とヌクレオチド配列5'-TATGGC-3'を有する領域は、50%の相同性を有する。好ましくは、第1の領域は第1の部分を含み、第2の領域は第2の部分を含み、それにより、それらの部分のそれぞれのヌクレオチド残基位置の少なくとも約50%、好ましくは少なくとも約75%、少なくとも約90%、または少なくとも約95%が同じヌクレオチド残基で占められている。より好ましくは、それらの部分のそれぞれの全てのヌクレオチド残基位置が同じヌクレオチド残基で占められている。

10

【0350】

「本発明のタンパク質」は、マーカータンパク質およびそれらのフラグメント；変異体マーカータンパク質およびそれらのフラグメント；マーカーまたは変異体マーカータンパク質の少なくとも15アミノ酸のセグメントを含むペプチドおよびポリペプチド；ならびにマーカーもしくは変異体マーカータンパク質、またはマーカーもしくは変異体マーカータンパク質の少なくとも15アミノ酸のセグメントを含む融合タンパク質を包含する。

20

【0351】

本発明はさらに、本発明のマーカータンパク質およびマーカータンパク質のフラグメントと特異的に結合する抗体、抗体誘導体および抗体フラグメントを提供する。本明細書において特に断りのない限り、「抗体」という用語は、天然型の抗体（例えば、IgG、IgA、IgM、IgE）および組換え抗体、例えば、一本鎖抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体および多重特異性抗体、ならびに前述の全てのもののフラグメントおよび誘導体（ただし、これらのフラグメントおよび誘導体は少なくとも抗原結合部位を含む）を広く包含する。抗体誘導体は、抗体にコンジュゲートされたタンパク質または化学部分を含み得る。

30

【0352】

特定の実施形態では、挙げられている特定の遺伝子が、例えば処置後の期間の違い、または異なる濃度の潜在的環境影響因子による処置などの2以上の処置条件と関連付けられている場合には、その特定の遺伝子の倍率変化は、記録されている最長の処置時間を意味する。他の実施形態では、特定の遺伝子の倍率変化は、記録されている最短の処置時間を意味する。他の実施形態では、特定の遺伝子の倍率変化は、最高濃度のenv-影響因子による処置を意味する。他の実施形態では、特定の遺伝子の倍率変化は、最低濃度のenv-影響因子による処置を意味する。さらに他の実施形態では、特定の遺伝子の倍率変化は、env-影響因子の治療効果と一致する様式での変調（例えば、情報調節または下方調節）を意味する。

40

【0353】

特定の実施形態では、正または負の倍率変化は、本明細書に記載のいずれの遺伝子の倍率変化も意味する。

【0354】

本明細書で使用する場合、「正の倍率変化」は、本明細書に挙げられているマーカーの「上方調節」または「（発現の）増大」を意味する。

【0355】

本明細書で使用する場合、「負の倍率変化」は、本明細書に挙げられているマーカーの「下方調節」または「（発現の）低下」を意味する。

【0356】

50

本発明の様々な態様を以下のサブセクションでさらに詳細に述べる。

【0357】

#### 1. 単離された核酸分子

本発明の一態様は、マーカートンパク質またはその部分をコードする核酸を含む、単離された核酸分子に関する。単離された本発明の核酸はまた、マーカール核酸分子、およびマーカール核酸分子のフラグメント、例えば、マーカール核酸分子の増幅または突然変異のためのPCRプライマーとして使用するのに好適なもの、を同定するためのハイブリダイゼーションプローブとして使用するのに十分な核酸分子を含む。本明細書で使用する場合、「核酸分子」という用語は、DNA分子（例えば、cDNAまたはゲノムDNA）およびRNA分子（例えば、mRNA）ならびにクレオチド類似体を用いて作出されたDNAまたはRNAの類似体を含むものとする。核酸分子は一本鎖または二本鎖であり得るが、好ましくは二本鎖DNAである。

10

【0358】

「単離された」核酸分子は、その核酸分子の天然源に存在する他の核酸分子から分離されているものである。一実施形態では、「単離された」核酸分子は、その核酸が由来する生物のゲノムDNAにおいてその核酸に天然に隣接している配列（すなわち、その核酸の5'末端および3'末端に位置する配列）（好ましくは、タンパク質コード配列）を含まない。例えば、様々な実施形態において、単離された核酸分子は、その核酸が由来している細胞のゲノムDNAにおいてその核酸分子に天然に隣接しているヌクレオチド配列の約5kB、4kB、3kB、2kB、1kB、0.5kBまたは0.1kB未満を含み得る。別の実施形態では、cDNA分子などの「単離された」核酸分子は、組換え技術により産生された場合には他の細胞材料または培養培地を実質的に含まず、化学的に合成された場合には化学前駆体または他の化学物質を実質的に含まないものであり得る。細胞材料を実質的に含まない核酸分子としては、約30%、20%、10%、または5%未満の異種核酸（本明細書では、「夾雑核酸」とも呼ばれる）を有する調製物が含まれる。

20

【0359】

本発明の核酸分子は、標準的な分子生物学的技術と本明細書に記載のデータベースレコードの配列情報を用いて単離することができる。このような核酸配列の全長または一部を用いて、本発明の核酸分子を、標準的なハイブリダイゼーションおよびクローニング技術（例えば、Sambrook et al., ed., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第2版, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989)を用いて単離することができる。

30

【0360】

本発明の核酸分子は、鋳型としてのcDNA、mRNA、またはゲノムDNAと適当なオリゴヌクレオチドプライマーを用い、標準的なPCR増幅技術に従って増幅することができる。このようにして増幅された核酸を適当なベクターにクローニングし、DNA配列解析により同定することができる。さらに、本発明の核酸分子の全長または一部に相当するヌクレオチドは、例えば自動化DNAシンセサイザーを使用し、標準的な合成技術によって作製することができる。

【0361】

別の好ましい実施形態では、単離された本発明の核酸分子は、マーカール核酸のクレオチド配列と、またはマーカートンパク質をコードする核酸のヌクレオチド配列と相補的なヌクレオチド配列を有する核酸分子を含む。あるヌクレオチド配列と相補的な核酸分子は、そのヌクレオチド配列とハイブリダイズし、それにより安定な二重鎖を形成し得る、そのヌクレオチド配列と十分相補的なものである。

40

【0362】

さらに、本発明の核酸分子は、全長核酸配列がマーカール核酸を含むか、またはマーカートンパク質をコードする場合に、核酸配列の一部のみを含み得る。このような核酸は、例えば、プローブまたはプライマーとして使用可能である。このプローブ/プライマーは一般に、1以上の実質的に精製されたオリゴヌクレオチドとして使用される。オリゴヌクレ

50

オチドは一般に、ストリンジェント条件下で少なくとも約 7、好ましくは約 15、より好ましくは約 25、50、75、100、125、150、175、200、250、300、350、もしくは400またはそれを超える本発明の核酸の連続するヌクレオチドとハイブリダイズするヌクレオチド配列の領域を含む。

【0363】

本発明の核酸分子の配列に基づくプローブは、本発明の1以上のマーカーに相当する転写産物またはゲノム配列を検出するために使用可能である。このプローブは、それに結合された標識基、例えば、放射性同位元素、蛍光化合物、酵素、または酵素補因子を含む。このようなプローブは、被験体由来の細胞サンプルにおいてそのタンパク質をコードする核酸分子のレベルを測定すること、例えば、mRNAレベルを検出するか、またはそのタンパク質をコードする遺伝子が突然変異または欠失を起こしているかどうかを決定することなどにより、タンパク質を誤発現する細胞または組織を同定するための診断検査キットの一部として使用することができる。

10

【0364】

本発明はさらに、遺伝コードの縮重のために、マーカータンパク質（例えば、配列番号(AA)の配列を有するタンパク質)をコードする核酸のヌクレオチド配列とは異なる、従って、同じタンパク質をコードする核酸分子を包含する。

【0365】

当業者ならば、アミノ酸配列に変化をもたらすDNA配列多型が集団（例えば、ヒト集団）内に存在し得ることを認識するであろう。このような遺伝子多型は、自然の対立遺伝子変異のために集団内の個体間に存在し得る。対立遺伝子は、ある遺伝子座に択一的に存在する遺伝子群のうちの一つである。さらに、RNA発現レベルに影響を及ぼすDNA多型も存在することができ、これはその遺伝子の全発現レベルに影響を及ぼし得る（例えば、調節または分解に影響を及ぼすことによる）と思われる。

20

【0366】

本明細書で使用する場合、「対立遺伝子変異体」とは、ある遺伝子座に存在するヌクレオチド配列またはそのヌクレオチド配列によりコードされるポリペプチドを意味する。

【0367】

本明細書で使用する場合、「遺伝子」および「組換え遺伝子」という用語は、本発明のマーカーに相当するポリペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含む核酸分子を意味する。このような天然対立遺伝子変異は一般に、ある遺伝子のヌクレオチド配列に1~5%変異をもたらす。択一的対立遺伝子は、いくつかの異なる個体で対象とする遺伝子を配列決定することによって同定することができる。このことは、様々な個体において同じ遺伝子座を同定するためのハイブリダイゼーションプローブを使用することによって容易に行うことができる。このようなヌクレオチド変異のいずれかおよび全て、ならびにその結果得られる、天然の対立遺伝子変異の結果であり、かつ、機能活性を変化させないアミノ酸多型または変異は本発明の範囲内にあるものとする。

30

【0368】

別の実施形態では、単離された本発明の核酸分子は、少なくとも7、15、20、25、30、40、60、80、100、150、200、250、300、350、400、450、550、650、700、800、900、1000、1200、1400、1600、1800、2000、2200、2400、2600、2800、3000、3500、4000、4500、またはそれを超えるヌクレオチド長であり、ストリンジェント条件下でマーカー核酸と、またはマーカータンパク質をコードする核酸とハイブリダイズする。本明細書で使用する場合、「ストリンジェント条件下でハイブリダイズする」という用語は、互いに同一の少なくとも60%（65%、70%、好ましくは、75%）のヌクレオチド配列が一般に互いにハイブリダイズを維持するハイブリダイゼーションおよび洗浄の条件を表すものとする。このようなストリンジェント条件は当業者に知られ、Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, N.Y. (1989)の第6.3.1節~第6.3.6節に見出すことができる。ストリンジェントなハイブリダイゼー

40

50

ション条件の好ましい非限定例は、約45にて6×塩化ナトリウム/クエン酸ナトリウム(SSC)中でのハイブリダイゼーションと、その後の50~65にて0.2×SSC、0.1%SDS中での1回以上の洗浄である。

#### 【0369】

集団中に存在し得る本発明の核酸分子の自然発生的対立遺伝子変異体に加え、当業者ならば、配列変化が突然変異により導入され、それにより、それによりコードされるタンパク質の生物活性を変化させることなく、コードされるタンパク質のアミノ酸配列に変化をもたらし得ることをさらに認識するであろう。例えば、ヌクレオチド置換を行って、「非必須」アミノ酸残基にアミノ酸置換をもたらすことができる。「非必須」アミノ酸残基は、生物活性の変化を伴わずに野生型配列から変化させることができる残基であり、一方、  
10 「必須」アミノ酸残基は生物活性に必要である。例えば、様々な種のホモログ間で保存されていない、または半保存しかされていないアミノ酸残基は、活性に必須でない可能性があり、従って、変更の標的となると思われる。あるいは、様々な種(例えば、マウスおよびヒト)のホモログ間で保存されているアミノ酸残基は、活性に必須であり得、従って、変更の標的にはならないと思われる。

#### 【0370】

よって、本発明の別の態様は、活性に必須でないアミノ酸残基に変異を含む変異体マーカートンパク質をコードする核酸分子に関する。このような変異体マーカートンパク質は、なお生物活性を保持する天然のマーカートンパク質とはアミノ酸配列が異なる。一実施形態では、このような変異体マーカートンパク質は、マーカートンパク質のアミノ酸配列  
20 と少なくとも約40%同一、50%、60%、70%、80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%同一のアミノ酸配列を有する。

#### 【0371】

単離された、変異体マーカートンパク質をコードする核酸分子は、1以上のアミノ酸残基の置換、付加、または欠失がコードされているタンパク質に導入されるように、1以上のヌクレオチドの置換、付加または欠失をマーカートン核酸のヌクレオチド配列に導入することによって作出することができる。突然変異は、部位特異的突然変異誘発およびPCR媒介突然変異誘発などの標準的な技術によって導入することができる。好ましくは、保存的アミノ酸置換は、1以上の、推定される非必須アミノ酸残基で行われる。「保存的アミノ酸置換」は、アミノ酸残基が類似の側鎖を有するアミノ酸残基で置換されたものである。  
30 類似の側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーは当技術分野で定義されている。これらのファミリーには、塩基性側鎖を有するアミノ酸(例えば、リシン、アルギニン、ヒスチジン)、酸性側鎖を有するアミノ酸(例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸)、非荷電極性側鎖を有するアミノ酸(例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン)、非極性側鎖を有するアミノ酸(例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、トリプトファン)、分岐側鎖を有するアミノ酸(例えば、トレオニン、バリン、イソロイシン)および芳香族側鎖を有するアミノ酸(例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン)が含まれる。あるいは、突然変異は、飽和突然変異誘発によるなど、  
40 コード配列の全長または一部にわたってランダムに導入することができ、その結果生じた突然変異体を生物活性に関してスクリーニングし、活性を保持する突然変異体を同定することができる。突然変異誘発後、コードされているタンパク質を組換え発現させることができ、タンパク質の活性を測定することができる。

#### 【0372】

本発明は、アンチセンス核酸分子、すなわち、本発明のセンス核酸と相補的な、例えば、二本鎖マーカートンDNA分子のコード鎖と相補的なまたはマーカートンmRNA配列と相補的な分子を包含する。よって、本発明のアンチセンス核酸は、本発明のセンス核酸と水素結合(すなわち、アニーリング)することができる。アンチセンス核酸は、全長コード鎖と、またはその部分だけと、例えば、タンパク質コード領域(またはオープンリーディング  
50

グフレーム)の全長または一部と、相補的であり得る。アンチセンス核酸分子はまた、マーカータンパク質をコードするヌクレオチド配列のコード鎖の非コード領域の全長または一部に対してアンチセンスであってもよい。非コード領域(「5'および3'非翻訳領域」)は、コード領域を挟み込んでいる5'および3'配列であり、アミノ酸に翻訳されない。

#### 【0373】

アンチセンスオリゴヌクレオチドは、例えば、約5、10、15、20、25、30、35、40、45、もしくは50またはそれを超えるヌクレオチド長であり得る。本発明のアンチセンス核酸は、当技術分野で公知の手順を用いた化学合成および酵素的連結反応を用いて構築することができる。例えば、アンチセンス核酸(例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチド)は、天然ヌクレオチド、または分子の生体安定性を高めるように、もしくはアンチセンス核酸とセンス核酸の間で形成される二重鎖の物理的安定性を高めるように設計された、様々な修飾が施されたヌクレオチドを用いて化学的に合成することができ、例えば、ホスホロチオエート誘導体およびアクリジン置換ヌクレオチドが使用可能である。アンチセンス核酸を作出するために使用可能な修飾ヌクレオチドの例としては、5-フルオロウラシル、5-プロモウラシル、5-クロロウラシル、5-ヨードウラシル、ヒポキサンチン、キサンチン、4-アセチルシトシン、5-(カルボキシヒドロキシルメチル)ウラシル、5-カルボキシメチルアミノメチル-2-チオウリジン、5-カルボキシメチルアミノメチルウラシル、ジヒドロウラシル、 $\beta$ -D-ガラクトシルキューオシン、イノシン、N6-イソペンテニルアデニン、1-メチルグアニン、1-メチルイノシン、2,2-ジメチルグアニン、2-メチルアデニン、2-メチルグアニン、3-メチルシトシン、5-メチルシトシン、N6-アデニン、7-メチルグアニン、5-メチルアミノメチルウラシル、5-メトキシアミノメチル-2-チオウラシル、 $\beta$ -D-マンノシルキューオシン、5'-メトキシカルボキシメチルウラシル、5-メトキシウラシル、2-メチルチオ-N6-イソペンテニルアデニン、ウラシル-5-オキシ酢酸(v)、ワイプトキソシン、プソイドウラシル、キューオシン、2-チオシトシン、5-メチル-2-チオウラシル、2-チオウラシル、4-チオウラシル、5-メチルウラシル、ウラシル-5-オキシ酢酸メチルエステル、ウラシル-5-オキシ酢酸(v)、5-メチル-2-チオウラシル、3-(3-アミノ-3-N-2-カルボキシプロピル)ウラシル、(acp3)w、および2,6-ジアミノプリンが挙げられる。あるいは、アンチセンス核酸は、核酸がアンチセンス配向にサブクローニングされた発現ベクターを用いて生物学的に生産することもできる(すなわち、挿入された核酸から転写されたRNAは、目的の標的核酸に対してアンチセンス配向となる、以下のサブセクションにさらに記載)。

#### 【0374】

本発明のアンチセンス核酸分子は一般に、被験体に投与されるか、または*in situ*で生成され、これにより、前記分子はマーカータンパク質をコードする細胞mRNAおよび/またはゲノムDNAとハイブリダイズするかまたは結合し、これにより、例えば転写および/または翻訳を阻害することにより、前記マーカーの発現を阻害する。ハイブリダイゼーションは、慣例のヌクレオチド相補性によって、または、例えば、DNA二重鎖と結合するアンチセンス核酸分子の場合には二重らせんの主溝における特異な相互作用によって、安定な二重鎖を形成することができる。本発明のアンチセンス核酸分子の投与経路の例としては、組織部位への直接注射、または広汎性発達障害関連流体へのアンチセンス核酸の注入が挙げられる。あるいは、アンチセンス核酸分子は、選択された細胞を標的とするように修飾した後、全身投与することもできる。例えば、全身投与の場合、アンチセンス分子は、例えば、アンチセンス核酸分子を、細胞表面受容体または抗原と結合するペプチドまたは抗体に連結することにより、選択された細胞表面で発現される受容体または抗原と特異的に結合するように修飾することができる。また、アンチセンス核酸分子は、本明細書に記載のベクターを用いて細胞に送達することもできる。アンチセンス分子の十分な細胞内濃度を達成するためには、アンチセンス核酸分子が強力な*pol I I*または*pol I I I*プロモーターの制御下に置かれたベクターが好ましい。

## 【0375】

本発明のアンチセンス核酸分子は、アノマー型核酸分子であり得る。アノマー型核酸分子は、相補的RNAと特異的二本鎖ハイブリッドを形成し、この場合、通常の単位とは対照的に、これらの鎖は互いに並行に走る(Gaultier et al., 1987, Nucleic Acids Res. 15:6625-6641)。アンチセンス核酸分子はまた、2'-O-メチルリボヌクレオチド(Inoue et al., 1987, Nucleic Acids Res. 15:6131-6148)またはキメラRNA-DNA類似体(Inoue et al., 1987, FEBS Lett. 215:327-330)も含み得る。

## 【0376】

本発明はまた、リボザイムも包含する。リボザイムは、相補的領域を有する、mRNAなどの一本鎖核酸を切断することができるリボヌクレアーゼ活性を備えた触媒RNA分子である。よって、リボザイム(例えば、Haselhoff and Gerlach, 1988, Nature 334:585-591に記載されているようなハンマーヘッドリボザイム)は、mRNA転写産物を触媒的に切断し、それによってそのmRNAによりコードされているタンパク質の翻訳を阻害するために使用することができる。マーカータンパク質をコードする核酸分子に特異性を有するリボザイムは、そのマーカーに相当するcDNAのヌクレオチド配列に基づいて設計することができる。例えば、活性部位のヌクレオチド配列が、切断すべきヌクレオチド配列に相補的であるテトラヒメナL-19 IVS RNAの誘導体を構築することができる(Cechら、米国特許第4,987,071号;およびCechら、米国特許第5,116,742号参照)。あるいは、本発明のポリペプチドをコードするmRNAを、RNA分子のプールから特異的リボヌクレアーゼ活性を有する触媒RNAを選択するために使用することもできる(例えば、Bartel and Szostak, 1993, Science 261:1411-1418参照)。

## 【0377】

本発明はまた、三重らせん構造を形成する核酸分子も包含する。例えば、本発明のマーカーの発現は、マーカー核酸またはタンパク質をコードする遺伝子の調節領域(例えば、プロモーターおよび/またはエンハンサー)と相補的なヌクレオチド配列を標的として、標的細胞において遺伝子の転写を妨げる三重らせん構造を形成することによって阻害することができる。全般的には、Helene (1991) Anticancer Drug Des. 6(6):569-84; Helene (1992) Ann. N.Y. Acad. Sci. 660:27-36;およびMaher (1992) Bioassays 14(12):807-15を参照。

## 【0378】

様々な実施形態では、本発明の核酸分子は、塩基部分、糖部分またはリン酸骨格において、例えば、分子の安定性、ハイブリダイゼーション、または溶解度を高めるために修飾することができる。例えば、核酸のデオキシリボースリン酸骨格は、ペプチド核酸を生成するように修飾することができる(Hyrup et al., 1996, Bioorganic & Medicinal Chemistry 4(1): 5-23参照)。本明細書で使用する場合、「ペプチド核酸」または「PNA」という用語は、デオキシリボースリン酸骨格がプソイドペプチド骨格に置換され、4つの天然核酸塩基だけが保持されている核酸ミミック、例えばDNAミミックを意味する。PNAの天然骨格は、低イオン強度の条件下でDNAおよびRNAとの特異的ハイブリダイゼーションを可能とすることが示されている。PNAオリゴマーの合成は、Hyrup et al. (1996), 前掲; Perry-O'Keefe et al. (1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:14670-675に記載されているように標準的な固相ペプチド合成プロトコルを用いて行うことができる。

## 【0379】

PNAは、治療適用および診断適用に使用することができる。例えば、PNAは、アンチセンスまたはアンチジーンとして、例えば、転写または翻訳停止を誘発すること、または複製を阻害することにより、遺伝子発現の配列特異的変調のために使用することができる。PNAはまた、例えば、PNA指向PCRクランピングなどによる遺伝子における塩基対突然変異の分析に;他の酵素、例えばS1ヌクレアーゼと併用する場合の人工制限酵素として(Hyrup(1996), 前掲;またはDNA配列およびハイブリダイゼーション用のプ

10

20

30

40

50

ローブもしくはプライマーとして(Hyrup, 1996, supra; Perry-O'Keefe et al., 1996, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:14670-675)使用することもできる。

#### 【0380】

別の実施形態では、PNAは、例えば、PNAに親油性もしくは他の補助基を付加することによるか、PNA-DNAキメラの形成によるか、またはリボソームもしくは当技術分野で公知の他の薬物送達技術の使用によって、それらの安定性または細胞取り込みを高めるように修飾することができる。例えば、PNAとDNAの有利な特性を兼ね備え得るPNA-DNAキメラを作出することができる。このようなキメラは、DNA認識酵素、例えば、RNアーゼHおよびDNAポリメラーゼをDNA部分と相互作用させるとともに、PNA部分が高い結合親和性および特異性を提供する。PNA-DNAキメラは、塩基スタッキング、核酸塩基間の結合の数、および配向の観点で選択された適当な長さのリンカーを用いて連結することができる(Hyrup, 1996, 前掲)。PNA-DNAキメラの合成は、Hyrup, 1996, 前掲、およびFinn et al. (1996) Nucleic Acids Res. 24(17):3357-63に記載のとおりに行うことができる。例えば、DNA鎖は、標準的なホスホルアミダイトカップリング化学および修飾されたヌクレオシド類似体を用いて固相支持体上で合成することができる。5'-(4-メトキシトリチル)アミノ-5'-デオキシ-チミジンホスホラミダイトなどの化合物を、PNAとDNAの5'末端の間の連結として使用することができる(Mag et al., 1989, Nucleic Acids Res. 17:5973-88)。次に、PNAモノマーを段階的にカップリングさせ、5' PNAセグメントと3' DNAセグメントを備えたキメラ分子を作出する(Finn et al., 1996, Nucleic Acids Res. 24(17):3357-63)。あるいは、5' DNAセグメントと3' PNAセグメントを備えたキメラ分子をも合成可能である(Peterser et al., 1975, Bioorganic Med. Chem. Lett. 5:1119-11124)。

#### 【0381】

他の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、ペプチド(例えば、in vivoにおいて宿主細胞受容体を標的とするため)、または細胞膜輸送を促進する薬剤(例えば、Letsinger et al., 1989, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:6553-6556; Lemaitre et al., 1987, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:648-652; PCT公開第WO 88/09810号参照)または血液脳輸送を促進する薬剤(例えば、PCT公開第WO 89/10134号参照)などの他の付加基を含み得る。さらに、オリゴヌクレオチドは、ハイブリダイゼーション誘発型切断剤(例えば、Krol et al., 1988, Bio/Techniques 6:958-976参照)またはインターカレート剤(例えば、Zon, 1988, Pharm. Res. 5:539-549参照)で修飾することができる。この目的で、オリゴヌクレオチドは、分子、例えば、ペプチド、ハイブリダイゼーション誘発型架橋剤、輸送剤、ハイブリダイゼーション誘発型切断剤などの別の分子とコンジュゲートさせることができる。

#### 【0382】

本発明はまた、本発明の核酸と相補的な少なくとも1つの領域を有するモレキュラービーコン核酸も含み、これにより、このモレキュラービーコンはサンプルにおいて本発明の核酸の存在を定量するために有用となる。「モレキュラービーコン」核酸は、1対の相補的領域を含み、かつ、それに結合された蛍光団および蛍光クエンチャーを有する核酸である。蛍光団およびクエンチャーは核酸の異なる部分に、相補的領域が互いにアニーリングした際に蛍光団の蛍光がクエンチャーによってクエンチされるような配向で結合される。核酸の相補的領域が互いにアニーリングしなければ、蛍光団の蛍光は、より低い程度でしかクエンチされない。モレキュラービーコン核酸は、例えば、米国特許第号5,876,930号に記載されている。

#### 【0383】

### 2. 単離されたタンパク質および抗体

本発明の一態様は、単離されたマーカータンパク質およびその生物学的に活性な部分、ならびにマーカータンパク質またはそのフラグメントに対する抗体を作製するために免疫原として使用するのに好適なポリペプチドフラグメントに関する。一実施形態では、天然マーカータンパク質は、標準的なタンパク質精製技術を用いた適当な精製スキームによっ

て細胞または組織源から単離することができる。別の実施形態では、マーカータンパク質の全体またはセグメントを含むタンパク質またはペプチドが組換えDNA技術により生産される。組換え発現の代わりに、このようなタンパク質またはペプチドは標準的なペプチド合成技術を用いて化学的に合成することもできる。

【0384】

「単離された」または「精製された」タンパク質またはその生物学的に活性な部分は、そのタンパク質が由来する細胞または組織源からの細胞材料もしくは他の夾雑タンパク質を実質的に含まないか、または化学的に合成される場合には化学前駆体もしくは他の化学物質を実質的に含まない。「細胞材料を実質的に含まない」という語は、タンパク質が、そのタンパク質が単離または組換え生産された細胞の細胞成分から分離されている、タンパク質の調製物を含む。よって、細胞材料を実質的に含まないタンパク質は、異種タンパク質（本明細書では「夾雑タンパク質」とも呼ばれる）が約30%、20%、10%、または5%（乾重）未満であるタンパク質の調製物を含む。タンパク質またはその生物学的に活性な部分が組換え生産される場合、それはまた、好ましくは、培養培地を実質的に含まず、すなわち、培養培地はそのタンパク質調製物の容量の約20%、10%、または5%未満に相当する。タンパク質が化学合成により生産される場合、それは好ましくは化学前駆体または他の化学物質を実質的に含まず、すなわち、それはタンパク質の合成に關与する化学前駆体または他の化学物質から分離されている。よって、このようなタンパク質調製物は、目的のポリペプチド以外の化学前駆体または化合物を約30%、20%、10%、5%（乾重）未満しか含まない。

10

20

【0385】

マーカータンパク質の生物学的に活性な部分には、マーカータンパク質のアミノ酸配列と十分に同一であるかまたはマーカータンパク質のアミノ酸配列に由来し、全長タンパク質よりも少ないアミノ酸を含み、かつ、相当する全長タンパク質の少なくとも1つの活性を示す、アミノ酸配列を含むポリペプチドが含まれる。一般に、生物学的に活性な部分は、相当する全長タンパク質の少なくとも1つの活性を有するドメインまたはモチーフを含む。本発明のマーカータンパク質の生物学的に活性な部分は、例えば、10、25、50、100またはそれを超えるアミノ酸長のポリペプチドであり得る。さらに、マーカータンパク質の他の領域が削除されている他の生物学的に活性な部分を組換え技術により生産し、天然型のマーカータンパク質の1以上の機能活性に関して評価することができる。

30

【0386】

好ましいマーカータンパク質は、任意の配列番号（nt）の配列を含むヌクレオチド配列によりコードされている。その他の有用なタンパク質は、これらの配列の1つと実質的に同一（例えば、少なくとも約40%、好ましくは、50%、60%、70%、80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%）であり、相当する天然マーカータンパク質の機能活性を保持し、さらに対立遺伝子変異または突然変異誘発のためにアミノ酸配列が異なる。

【0387】

2つのアミノ酸配列または2つの核酸の同一性パーセントを決定するためには、それらの配列を最適な比較を得るためにアラインする（例えば、第2のアミノ酸または核酸配列との最適なアラインメントを得るために第1のアミノ酸または核酸配列の配列にギャップを導入することができる）。次に、対応するアミノ酸位置またはヌクレオチド位置のアミノ酸残基またはヌクレオチドを比較する。第1の配列の位置が第2の配列の対応する位置と同じアミノ酸残基またはヌクレオチドで占められていれば、それらの分子はその位置で同一である。好ましくは、2つの配列間の同一性パーセントは、グローバルアラインメントを用いて計算される。あるいは、2つの配列間の同一性パーセントは、ローカルアラインメントを用いて計算される。2つの配列間の同一性パーセントは、それらの配列が持つ同一位置の数の関数である（すなわち、同一性% = 同一位置の数 / 位置の総数（例えば、重複する位置）× 100）。一実施形態では、2つの配列は同じ長さである。別の実施形態では、2つの配列は同じ長さでない。

40

50

## 【0388】

2つの配列間の同一性パーセントの決定は、数学的アルゴリズムを用いて達成することができる。2配列の比較に使用される数学的アルゴリズムの好ましい非限定例は、Karlin and Altschul (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-5877のように改変されたKarlin and Altschul (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:2264-2268のアルゴリズムである。このようなアルゴリズムは、Altschul, et al. (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410のBLASTNおよびBLASTXプログラムに組み込まれている。BLASTヌクレオチド検索は、BLASTNプログラム、スコア = 100、ワードレングス = 12を用いて実行し、本発明の核酸分子と相同なヌクレオチド配列を得ることができる。BLASTタンパク質検索は、BLASTPプログラム、スコア = 50、ワードレングス = 3を用いて実行し、本発明のタンパク質分子と相同なアミノ酸配列を得ることができる。比較のためにギャップを導入したアラインメントを得るには、Gapped BLASTと呼ばれるより新しいバージョンのBLASTアルゴリズムを、Altschul et al. (1997) Nucleic Acids Res. 25:3389-3402に記載のとおりを使用することができ、これにより、BLASTN、BLASTPおよびBLASTXプログラムに対してギャップを考慮したローカルアラインメントを行うことができる。あるいは、PSI-BLASTは、分子間の遠い関係を検出する反復検索を実行するために使用することができる。BLAST、Gapped BLAST、およびPSI-BLASTプログラムを使用する場合には、個々のプログラムのデフォルトパラメーター（例えば、BLASTXおよびBLASTN）を使用することができる。http://www.ncbi.nlm.nih.gov参照。配列比較に使用される数学的アルゴリズムの別の好ましい非限定例として、Myers and Miller, (1988) CABIOS 4:11-17のアルゴリズムがある。このようなアルゴリズムは、GCG配列アラインメントソフトウェアパッケージの一部であるALIGNプログラム（バージョン2.0）に組み込まれている。アミノ酸配列を比較するためにALIGNプログラムを使用する場合、PAM120ウエイト・レジジュ・テーブル、ギャップ・レングス・ペナルティー12、およびギャップ・ペナルティー4を使用することができる。さらに別の、ローカル配列類似性およびアラインメントの領域を同定するための、有用なアルゴリズムが、Pearson and Lipman (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:2444-2448に記載されるようなFASTAアルゴリズムである。ヌクレオチドまたはアミノ酸配列を比較するためにFASTAアルゴリズムを使用する場合、PAM120ウエイト・レジジュ・テーブルを例えば、kタプル値2とともに使用することができる。

## 【0389】

2配列間の同一性パーセントは、ギャップを許容してまたは許容せずに、上記のものと類似の技術を用いて決定することができる。同一性パーセントの計算では、正確な一致だけをカウントする。

## 【0390】

本発明はまた、マーカータンパク質またはそのセグメントを含むキメラまたは融合タンパク質を提供する。本明細書で使用する場合、「キメラタンパク質」または「融合タンパク質」は、異種ポリペプチド（すなわち、マーカータンパク質以外のポリペプチド）に機能的に連結されたマーカータンパク質の全長または一部（好ましくは、生物学的に活性な部分）を含む。融合タンパク質の範囲内で、「機能的に連結される」という用語は、マーカータンパク質またはそのセグメントと異種ポリペプチドが互いにインフレームで融合されることを示すものとする。異種ポリペプチドは、マーカータンパク質またはセグメントのアミノ末端またはカルボキシル末端に融合させることができる。

## 【0391】

1つの有用な融合タンパク質としてGST融合タンパク質があり、この場合、マーカータンパク質またはセグメントがGST配列のカルボキシル末端に融合される。このような融合タンパク質は、本発明の組換えポリペプチドの精製を容易にすることができる。

## 【0392】

別の実施形態では、融合タンパク質は、そのアミノ末端に異種シグナル配列を含む。例

10

20

30

40

50

えば、マーカータンパク質の天然シグナル配列は除去して、別のタンパク質由来のシグナル配列に置換することができる。例えば、バキュロウイルスエンベロープタンパク質の gp 67 分泌配列を異種シグナル配列として使用することができる (Ausubel et al., ed., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY, 1992)。真核生物の異種シグナル配列の他の例としては、メリチンおよびヒト胎盤アルカリ性ホスファターゼの分泌配列 (Stratagene; ラ・ホーヤ、カリフォルニア州) が挙げられる。さらに別の例では、有用な原核生物の異種シグナル配列として、phoA 分泌シグナル (Sambrook et al., 前掲) およびプロテイン A 分泌シグナル (Pharmacia Biotech; ピスカタウェイ、ニュージャージー州) が挙げられる。

【0393】

10

さらに別の実施形態では、融合タンパク質は免疫グロブリン融合タンパク質であり、この場合、マーカータンパク質の全長または一部が免疫グロブリンタンパク質ファミリーのメンバーに由来する配列に融合される。本発明の免疫グロブリン融合タンパク質は、医薬組成物に組み込んで被験体に投与し、リガンド (可溶性または膜結合型) と細胞表面のタンパク質 (受容体) の間の相互作用を阻害することで *in vivo* においてシグナル伝達を抑制することができる。免疫グロブリン融合タンパク質は、マーカータンパク質の同族リガンドのバイオアベイラビリティに影響を与えるために使用することができる。リガンド/受容体相互作用の阻害は、増殖性障害および分化性障害を治療するため、および細胞の生存を変調 (例えば、促進するまたは阻害) するための両場合に治療上有用であり得る。さらに、本発明の免疫グロブリン融合タンパク質は、被験体においてマーカータンパク質に対する抗体を生産するための免疫原として、また、リガンドを精製するために、また、マーカータンパク質とリガンドの相互作用を阻害する分子を同定するためのスクリーニングアッセイにおいて使用することができる。

20

【0394】

本発明のキメラおよび融合タンパク質は、標準的な組換え DNA 技術によって生産することができる。別の実施形態では、融合遺伝子は、自動化 DNA シンセサイザーを含む従来技術によって合成することができる。あるいは、遺伝子フラグメントの PCR 増幅は、2つの連続する遺伝子フラグメントの間に相補的オーバーハングを生じさせ、その後、これらをアニーリングさせ、再増幅させてキメラ遺伝子配列を作出することができるアンカープライマーを用いて行うこともできる (例えば、Ausubel et al., 前掲)。さらに、融合部分 (例えば、GST ポリペプチド) をすでにコードしている多くの発現ベクターが市販されている。本発明のポリペプチドをコードする核酸は、このような発現ベクターに、融合部分が本発明のポリペプチドとインフレームで連結されるようにクローニングすることができる。

30

【0395】

マーカータンパク質の分泌および単離を容易にするためにシグナル配列を使用することができる。シグナル配列は一般に、分泌の際に 1 以上の切断イベントで成熟タンパク質から一般に切断される疎水性アミノ酸コアを特徴とする。このようなシグナルペプチドは、成熟タンパク質が分泌経路を通過する際に、成熟タンパク質からのシグナル配列の切断を可能とするプロセッシング部位を含む。よって、本発明は、シグナル配列を有する、マーカータンパク質、融合タンパク質またはそのセグメント、ならびにシグナル配列がタンパク質分解切断された後のこのようなタンパク質 (すなわち、切断産物) に関する。一実施形態では、シグナル配列をコードする核酸配列は、発現ベクター内で、マーカータンパク質またはそのセグメントなどの目的タンパク質に機能的に連結させることができる。シグナル配列は、発現ベクターが形質転換された真核生物宿主などからタンパク質の分泌を命令し、その後または同時にシグナル配列が切断される。次に、タンパク質は、当技術分野で認知されている方法によって細胞外媒体から容易に精製することができる。あるいは、シグナル配列は、GST ドメインを使用するなど、精製を容易にする配列を用いて目的タンパク質と連結することができる。

40

【0396】

50

本発明はまた、マーカートンパク質の変異体に関する。このような変異体は、アゴニスト（ミメティック）またはアンタゴニストのいずれかとして機能し得る変更されたアミノ酸配列を有する。変異体は、突然変異誘発、例えば、離散型の点突然変異または末端切断、によって作出され得る。アゴニストは、天然型タンパク質と実質的に同じ生物活性、またはそのサブセットを保持し得る。タンパク質のアンタゴニストは、例えば、目的のタンパク質を含む細胞シグナル伝達カスケードの下流または上流メンバーと競合的に結合することにより、天然型タンパク質の1以上の活性を阻害することができる。よって、機能が限定された変異体で処置することにより、特定の生物作用を惹起することができる。天然型タンパク質の生物活性のサブセットを有する変異体で被験体を処置すると、その天然型タンパク質による処置に対する被験体の副作用を少なくすることができる。

10

## 【0397】

アゴニスト（ミメティック）またはアンタゴニストのいずれかとして機能するマーカートンパク質の変異は、本発明のタンパク質の突然変異体、例えば、末端切断突然変異体のコンビナトリアルライブラリーをアゴニストまたはアンタゴニスト活性に関してスクリーニングすることによって同定することができる。一実施形態では、変異体の多彩なライブラリーは核酸レベルにおけるコンビナトリアル突然変異誘発により作製され、多彩な遺伝子ライブラリーによってコードされる。変異体の多彩なライブラリーは、例えば、潜在的タンパク質配列の縮重セットが個々のポリペプチドとして、あるいはまた、より大きな融合タンパク質（例えば、ファージディスプレイ用）として発現可能となるように、合成オリゴヌクレオチドの混合物を酵素的に連結して遺伝子配列とすることによって作製することができる。縮重オリゴヌクレオチド配列からマーカートンパク質の潜在変異体のライブラリーを作製するために使用することができる様々な方法が存在する。縮重オリゴヌクレオチドを合成するための方法は当技術分野で公知である（例えば、Narang, 1983, *Tetrahedron* 39:3; Itakura et al., 1984, *Annu. Rev. Biochem.* 53:323; Itakura et al., 1984, *Science* 198:1056; Ike et al., 1983 *Nucleic Acid Res.* 11:477参照）。

20

## 【0398】

さらに、スクリーニングとその後の変異体マーカートンパク質またはそのセグメント多彩なポリペプチド集団を作製するためには、マーカートンパク質のセグメントのライブラリーを使用することができる。例えば、コード配列フラグメントのライブラリーは、目的のコード配列の二本鎖PCRフラグメントを、ニック形成を1分子当たり約1回だけ起こす条件下にてヌクレアーゼで処理し、二本鎖DNAを変性させ、ニックが形成された種々の産物からのセンス/アンチセンス対を含み得る二本鎖DNAを形成するようにそのDNAを再生し、再形成された二重鎖からS1ヌクレアーゼで処理することによって一本鎖部分を除去し、得られたフラグメントライブラリーを連結して発現ベクターとすることによって作製することができる。この方法により、目的タンパク質のアミノ末端と様々なサイズの内部フラグメントをコードする発現ライブラリーを導くことができる。

30

## 【0399】

点突然変異または末端切断により作製されたコンビナトリアルライブラリーの遺伝子産物をスクリーニングするため、および選択された特性を有する遺伝子産物のcDNAライブラリーをスクリーニングするためのいくつかの技術が当技術分野で公知である。ハイスループット分析に従う、大きな遺伝子ライブラリーをスクリーニングするために最も広く使用されている技術は一般に、遺伝子ライブラリーを複製可能な発現ベクターにクローニングすること、得られたベクターのライブラリーで適当な細胞を形質転換すること、およびそのコンビナトリアル遺伝子を、所望の活性の検出が、その産物が検出された遺伝子をコードするベクターの単離を容易にする条件下で発現させることを含む。ライブラリーにおける機能的突然変異体の頻度を高める技術である再帰的アンサンプル突然変異誘発（REM）を、本発明のタンパク質の変異体を同定するためのスクリーニングアッセイと併用することができる（Arkin and Yourvan, 1992, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:7811-7815; Delgrave et al., 1993, *Protein Engineering* 6(3):327-331）。

40

## 【0400】

50

本発明の別の態様は、本発明のタンパク質に対する抗体に関する。好ましい実施形態では、前記抗体は、マーカートンパク質またはそのフラグメントと特異的に結合する。本明細書において互換的に使用される「抗体(antibody)」および「抗体(antibodies)」という用語は、免疫グロブリン分子、ならびに免疫グロブリン分子の免疫学的に活性な部分(すなわち、このような部分は、マーカートンパク質などの抗原と特異的に結合する抗原結合部位、例えば、マーカートンパク質のエピトープを含む)を含むフラグメントおよび誘導体を意味する。本発明のタンパク質と特異的に結合する抗体は、前記タンパク質と結合するが、前記タンパク質を天然に含むサンプル、例えば生体サンプル中の他の分子とは実質的に結合しない抗体である。免疫グロブリン分子の免疫学的に活性な部分の例としては、限定されるものではないが、一本鎖抗体(scAb)、F(ab)およびF(ab')<sub>2</sub>フラグメントが挙げられる。

10

#### 【0401】

本発明の単離されたタンパク質またはそのフラグメントは、抗体を生成するための免疫原として使用することができる。全長タンパク質が使用可能であり、あるいはまた、本発明は、免疫原として使用するための抗原性ペプチドフラグメントも提供する。本発明のタンパク質の抗原性ペプチドは、本発明の1つのタンパク質のアミノ酸配列の少なくとも8(好ましくは、10、15、20、もしくは30またはそれを超える)アミノ酸残基を含み、前記タンパク質の少なくとも1つのエピトープを包含し、これにより、このペプチドに対して生成された抗体は前記タンパク質と特異的な免疫複合体を形成する。抗原性ペプチドにより包含される好ましいエピトープは、タンパク質の表面に位置する領域、例えば、親水性領域である。疎水性配列分析、親水性配列分析、または類似の分析を用いて、親水性領域を同定することができる。好ましい実施形態では、単離されたマーカートンパク質またはそのフラグメントは免疫原として使用される。

20

#### 【0402】

免疫原は一般に、好適な(すなわち、免疫応答性の)被験体、例えば、ウサギ、ヤギ、マウス、または他の哺乳動物もしくは脊椎動物を免疫することによって、抗体を作製するために使用される。適当な免疫原性調製物は、例えば、組換え発現されたまたは化学合成されたタンパク質またはペプチドを含有し得る。この調製物は、アジュバント、例えば、フロイントの完全もしくは不完全アジュバント、または類似の免疫刺激剤をさらに含み得る。好ましい免疫原組成物は、他のヒトタンパク質を含有しないもの、例えば、本発明のタンパク質の組換え発現用の非ヒト宿主細胞を用いて作製された免疫原組成物である。このような方式では、得られる抗体組成物は、本発明のタンパク質以外のヒトタンパク質の結合が低いか全く見られない。

30

#### 【0403】

本発明は、ポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体を提供する。「モノクローナル抗体」または「モノクローナル抗体組成物」という用語は、本明細書で使用する場合、特定のエピトープと免疫反応性を持ち得る抗原結合部位を1種類だけ含む抗体分子の集団を意味する。好ましいポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体組成物は、本発明のタンパク質に対する抗体に関して選択されたものである。特に好ましいポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体調製物は、マーカートンパク質またはそのフラグメントに対する抗体のみを含むものである。

40

#### 【0404】

ポリクローナル抗体は、好適な被験体を、免疫原としての本発明のタンパク質で免疫することによって作製することができる。免疫被験体の抗体力価は、固定化ポリペプチドを用いた酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)などの標準的な技術によって経時的にモニタリングすることができる。免疫誘導後の適当な時点で、例えば、特定の抗体力価が最高になった際に、抗体産生細胞を前記被験体から得、Kohler and Milstein (1975) *Nature* 256:495-497により初めて記載されたハイブリドーマ技術、ヒトB細胞ハイブリドーマ技術(Kozbor et al., 1983, *Immunol. Today* 4:72参照)、EBV-ハイブリドーマ技術(Cole et al., pp. 77-96 In *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Li

50

ss, Inc., 1985参照) またはトリオーマ技術などの標準的な技術によりモノクローナル抗体 (mAb) を作製するために使用することができる。ハイブリドーマを産生するための技術は周知である (一般に、Current Protocols in Immunology, Coligan et al. ed., John Wiley & Sons, New York, 1994参照)。本発明のモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマ細胞は、ハイブリドーマ培養上清を、例えば標準的なELISAアッセイを用いて目的のポリペプチドと結合する抗体に関してスクリーニングすることにより検出される。

#### 【0405】

モノクローナル抗体分泌ハイブリドーマを作製する代わりに、目的のポリペプチドを有する組換えコンビナトリアル免疫グロブリンライブラリー (例えば、抗体ファージディスプレイライブラリー) をスクリーニングすることによって本発明のタンパク質に対するモノクローナル抗体を同定し、単離することもできる。ファージディスプレイライブラリーを作製およびスクリーニングするためのキットは市販されている (例えば、the Pharmacia Recombinant Phage Antibody System, Catalog No. 27-9400-01; およびthe Stratagene SurfZAP Phage Display Kit, Catalog No. 240612)。さらに、抗体ディスプレイライブラリーの作製およびスクリーニングにおける使用に特に従う方法および試薬の例は、例えば、米国特許第5,223,409号; PCT公開第WO92/18619号; PCT公開第WO91/17271号; PCT公開第WO92/20791号; PCT公開第WO92/15679号; PCT公開第WO93/01288号; PCT公開第WO92/01047号; PCT公開第WO92/09690号; PCT公開第WO90/02809号; Fuchs et al. (1991) Bio/Technology 9:1370-1372; Hay et al. (1992) Hum. Antibod. Hybridomas 3:81-85; Huse et al. (1989) Science 246:1275-1281; Griffiths et al. (1993) EMBO J. 12:725-734に見出すことができる。

#### 【0406】

本発明はまた、本発明のタンパク質と特異的に結合する組換え抗体を提供する。好ましい実施形態では、前記組換え抗体は、マーカータンパク質またはそのフラグメントと特異的に結合する。組換え抗体としては、限定されるものではないが、ヒト部分と非ヒト部分の両方を含むキメラおよびヒト化モノクローナル抗体、一本鎖抗体および多重特異性抗体が挙げられる。キメラ抗体は、マウスmAbに由来する可変領域とヒト免疫グロブリン定常領域を含むものなど、異なる部分が異なる動物種に由来する分子である。(例えば、参照によりその全内容が本明細書に組み入れられるCabillyら、米国特許第4,816,567号; およびBossら、米国特許第4,816,397号参照。) 一本鎖抗体は抗原結合部位を有し、一本のポリペプチドからなる。一本鎖抗体は、技術分野で公知の技術により、例えば、Ladnerら、米国特許第4,946,778号 (参照によりその全内容が本明細書に組み入れられる); Bird et al., (1988) Science 242:423-426; Whitlow et al., (1991) Methods in Enzymology 2:1-9; Whitlow et al., (1991) Methods in Enzymology 2:97-105; およびHuston et al., (1991) Methods in Enzymology Molecular Design and Modeling: Concepts and Applications 203:46-88に記載されている方法を用いて作製することができる。多重特異性抗体は、異なる抗原と特異的に結合する少なくとも2つの抗原結合部位を有する抗体分子である。このような分子は、当技術分野で公知の技術により、例えば、Segal、米国特許第4,676,980号 (その開示は参照により本明細書にそのまま組み入れられる); Holliger et al., (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448; Whitlow et al., (1994) Protein Eng. 7:1017-1026 および米国特許第6,121,424号に記載の方法を用いて作製することができる。

#### 【0407】

ヒト化抗体は、非ヒト種由来の1以上の相補性決定領域 (CDR) とヒト免疫グロブリン分子由来のフレームワーク領域を有する、非ヒト種由来の抗体分子である。(例えば、参照によりその全内容が本明細書に組み入れられるQueen、米国特許第5,585,089号参照。) ヒト化モノクローナル抗体は、当技術分野で公知の組換えDNA技術により、例えば、PCT公開第WO87/02671号; 欧州特許出願第184,187号

; 欧州特許出願第 171,496 号; 欧州特許出願第 173,494 号; PCT 公開第 WO 86/01533 号; 米国特許第 4,816,567 号; 欧州特許出願第 125,023 号; Better et al. (1988) Science 240:1041-1043; Liu et al. (1987) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:3439-3443; Liu et al. (1987) J. Immunol. 139:3521-3526; Sun et al. (1987) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:214-218; Nishimura et al. (1987) Cancer Res. 47:999-1005; Wood et al. (1985) Nature 314:446-449; および Shaw et al. (1988) J. Natl. Cancer Inst. 80:1553-1559; Morrison (1985) Science 229:1202-1207; Oi et al. (1986) Bio/Techniques 4:214; U.S. Patent 5,225,539; Jones et al. (1986) Nature 321:552-525; Verhoeyan et al. (1988) Science 239:1534; および Beidler et al. (1988) J. Immunol. 141:4053-4060 に記載の方法を用いて作製することができる。

10

#### 【0408】

より詳しくは、ヒト抗体は、例えば、内因性の免疫グロブリン重鎖および軽鎖遺伝子を発現することができないが、ヒト重鎖および軽鎖遺伝子は発現することができるトランスジェニックマウスを用いて作出することができる。トランスジェニックマウスは、選択された抗原、例えば、本発明のマーカに相当するポリペプチドの全長または一部を用いて、通常の方式で免疫される。前記抗原に対するモノクローナル抗体は、従来ハイブリドーマ技術を用いて得ることができる。トランスジェニックマウスによって保持されたヒト免疫グロブリン導入遺伝子は、B 細胞分化の際に再構成され、その後、クラス転換と体細胞突然変異を受ける。従って、このような技術を使用すれば、治療上有用な IgG、IgA および IgE 抗体を作製することが可能となる。ヒト抗体の作製に関するこの技術の概説に関しては、Lonberg and Huszar (1995) Int. Rev. Immunol. 13:65-93 を参照。ヒト抗体およびヒトモノクローナル抗体の作製に関するこの技術の詳細な考察およびこのような抗体を作製するためのプロトコールに関しては、例えば、米国特許第 5,625,126 号; 米国特許第 5,633,425 号; 米国特許第 5,569,825 号; 米国特許第 5,661,016 号; および米国特許第 5,545,806 号を参照。さらに、Abgenix, Inc. (フリーモント、CA) などの会社が、上記と類似の技術を用いて、選択された抗原に対するヒト抗体の提供を保証することができる。

20

#### 【0409】

選択されたエピトープを認識する完全ヒト抗体は、「ガイドド・セレクション (guide d selection)」と呼ばれる技術を用いて作製することができる。このアプローチでは、選択された非ヒトモノクローナル抗体、例えば、マウス抗体が、同じエピトープを認識する完全ヒト抗体の選択をガイドするために使用される (Jespers et al., 1994, Bio/technology 12:899-903)。

30

#### 【0410】

本発明の抗体は、生成 (例えば、被験体の血液もしくは血清) または合成の後に単離し、周知の技術によってさらに精製することができる。例えば、IgG 抗体は、プロテイン A クロマトグラフィーを用いて精製することができる。本発明のタンパク質に特異的な抗体は、例えばアフィニティークロマトグラフィーによって、選択または (例えば、部分的精製) または精製することができる。例えば、組換え発現され精製された (または部分的に精製された) 本発明のタンパク質は、本明細書に記載のように作製し、例えばクロマトグラフィーカラムなどの固相支持体に共有結合的または非共有結合的に結合させる。次に、このカラムを、多数の異なるエピトープに対する抗体を含有するサンプルから本発明のタンパク質に特異的な抗体をアフィニティ精製するために使用することができ、これにより、実質的に精製された抗体組成物、すなわち、夾雑抗体を実質的に含まないものが生成される。実質的に精製された抗体組成物は、この文脈において、抗体サンプルが含有する本発明の目的タンパク質のエピトープ以外のエピトープに対する夾雑抗体がせいぜい 30% (乾重) であり、好ましくは、そのサンプルのせいぜい 20%、さらにより好ましくはせいぜい 10%、最も好ましくはせいぜい 5% (乾重) が夾雑抗体であることを意味する。精製された抗体組成物は、その組成物中の抗体の少なくとも 99% が本発明の目的タンパク質であることを意味する。

40

50

## 【0411】

好ましい実施形態では、本発明の実質的に精製された抗体は、本発明のタンパク質の、シグナルペプチド、分泌配列、細胞外ドメイン、膜貫通もしくは細胞質ドメインまたは細胞質膜と特異的に結合する。特に好ましい実施形態では、実質的に精製された本発明の抗体は、本発明のタンパク質のアミノ酸配列の分泌配列または細胞外ドメインと特異的に結合する。より好ましい実施形態では、実質的に精製された本発明の抗体は、マーカートンタンパク質のアミノ酸配列の分泌配列または細胞外ドメインと特異的に結合する。

## 【0412】

本発明のタンパク質に対する抗体は、アフィニティークロマトグラフィーまたは免疫沈降などの標準的な技術によってタンパク質を単離するために使用することができる。さらに、このような抗体は、マーカの発現のレベルおよびパターンの評価を目的に、マーカートンタンパク質またはそのフラグメント（例えば、細胞溶解液または細胞上清で）検出するために使用することができる。抗体はまた、臨床試験手順の一部として、例えば、ある治療計画の有効性を決定する目的で、組織または流体（例えば、広汎性発達障害関連の流体）中のタンパク質レベルをモニタリングするために診断的に使用することもできる。検出は、検出可能な物質に結合された本発明の抗体を含む抗体誘導体によって補助され得る。検出可能な物質の例としては、様々な酵素、補欠分子族、蛍光材料、発光物質、生物発光物質、および放射性物質が挙げられる。好適な酵素の例としては、セイヨウワサビペルオキシダーゼ、アルカリ性ホスファターゼ、 $\alpha$ -ガラクトシダーゼ、またはアセチルコリンエステラーゼが挙げられ；好適な補欠分子族複合体の例としては、ストレプトアビジン/ビオチンおよびアビジン/ビオチンが挙げられ；好適な蛍光材料の例としては、ウンベリフェロン、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシアネート、ローダミン、ジクロロトリアジニルアミンフルオレセイン、塩化ダンシルまたはフィコエリトリンが挙げられ；発光物質の例としては、ルミノールが挙げられ；生物発光物質の例としては、ルシフェラーゼ、ルシフェリン、およびエクオリンが挙げられ、また、好適な放射性物質の例としては、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{35}\text{S}$ または $^3\text{H}$ が挙げられる。

## 【0413】

本発明の抗体はまた、広汎性発達障害の治療における治療薬としても使用可能である。好ましい実施形態では、本発明の完全ヒト抗体は、広汎性発達障害に罹患しているヒト患者の治療的処置に使用される。別の好ましい実施形態では、マーカートンタンパク質またはそのフラグメントと特異的に結合する抗体が治療的処置に使用される。さらに、このような治療抗体は、細胞毒素、治療薬または放射性金属イオンなどの治療用成分にコンジュゲートされた抗体を含む抗体誘導体または免疫毒素であり得る。細胞毒素または細胞傷害性薬剤としては、細胞に有害ないずれの薬剤も含む。例としては、タキソール、サイトカラシンB、グラミシジンD、臭化エチジウム、エメチン、マイトマイシン、エトポシド、テノポシド、ピンクリスチン、ピンブラスチン、コルヒチン、ドキシソルピシン、ダウノルピシン、ジヒドロキシアントラシンジオン(dihydroxy anthracin dione)、ミトキサントロン、ミトラマイシン、アクチノマイシンD、1-デヒドロテストステロン、グルココルチコイド、プロカイン、テトラカイン、リドカイン、プロプラノロール、およびピューロマイシン、ならびにそれらの類似体またはホモログが挙げられる。治療薬としては、限定されるものではないが、代謝拮抗物質（例えば、メトトレキサート、6-メルカプトプリン、6-チオグアニン、シタラビン、5-フルオロウラシルデカルバジン）、アルキル化剤（例えば、メクロレタミン、チオエパクロラムブシル、メルファラン、カルムスチン(BSNU)およびロムスチン(CCNU)、シクロトスファミド(cyclothosphamide)、プスルファン、ジプロモマンニトール、ストレプトゾトシン、マイトマイシンC、およびシス-ジクロロジアミン白金(II)(DDP)シスプラチン)、アントラサイクリン（例えば、ダウノルピシン(旧称ダウノマイシン)およびドキシソルピシン)、抗生物質（例えば、ダクチノマイシン(旧称アクチノマイシン)、プレオマイシン、ミトラマイシン、およびアントラマイシン(AMC)）、ならびに抗有糸分裂剤（例えば、ピンクリスチンおよびピンブラスチン）が挙げられる。

10

20

30

40

50

## 【 0 4 1 4 】

本発明のコンジュゲート抗体は、ある生物学的応答を修飾するために使用可能であり、この場合、薬物成分は古典的な化学治療薬に限定されると解釈されるべきでない。例えば、薬物成分は、所望の生物活性を有するタンパク質またはポリペプチドであり得る。このようなタンパク質としては、例えば、リボソーム阻害タンパク質（その開示内容が参照によりそのまま本明細書に組み込まれる *Better*ら，米国特許第 6, 146, 631号）、アブリン、リシンA、シュードモナス外毒素、またはジフテリア毒素などの毒素；腫瘍壊死因子、 $\alpha$ -インターフェロン、 $\beta$ -インターフェロン、神経成長因子、血小板由来増殖因子、組織プラスミノゲン活性化因子などのタンパク質；または、例えば、リンホカイン、インターロイキン - 1（「IL - 1」）、インターロイキン - 2（「IL - 2」）、インターロイキン - 6（「IL - 6」）、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（「GM - CSF」）、顆粒球コロニー刺激因子（「G - CSF」）、または他の増殖因子などの生物反応修飾物質が挙げられる。

10

## 【 0 4 1 5 】

このような治療用成分を抗体にコンジュゲートするための技術は周知である、例えば、*Arnon et al.*, "Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy", *Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy*, *Reisfeld et al.* (編), pp. 243 56 (*Alan R. Liss, Inc.* 1985); *Hellstrom et al.*, "Antibodies For Drug Delivery", *Controlled Drug Delivery* (第2版), *Robinson et al.* (編), pp. 623 53 (*Marcel Dekker, Inc.* 1987); *Thorpe*, "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review", *Monoclonal Antibodies '84: Biological And Clinical Applications*, *Pinchera et al.* (編), pp. 475 506 (1985); "Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy", *Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy*, *Baldwin et al.* (編), pp. 303 16 (*Academic Press* 1985)、および *Thorpe et al.*, "The Preparation And Cytotoxic Properties Of Antibody Toxin Conjugates", *Immunol. Rev.*, 62:119 58 (1982)参照。

20

## 【 0 4 1 6 】

よって、一態様において、本発明は、実質的に精製された抗体、抗体フラグメントおよび誘導体（全てが本発明のタンパク質、好ましくはマーカータンパク質と特異的に結合する）を提供する。様々な実施形態では、実質的に精製された本発明の抗体、またはそのフラグメントもしくは誘導体は、ヒト、非ヒト、キメラおよび/またはヒト化抗体であり得る。別の態様において、本発明は、非ヒト抗体、抗体フラグメントおよび誘導体（全てが本発明のタンパク質、好ましくはマーカータンパク質と特異的に結合する）を提供する。このような非ヒト抗体は、ヤギ、マウス、ヒツジ、ウマ、ニワトリ、ウサギ、またはラット抗体であり得る。あるいは、本発明の非ヒト抗体は、キメラおよび/またはヒト化抗体であり得る。さらに、本発明の非ヒト抗体は、ポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体であり得る。なおさらなる態様では、本発明は、モノクローナル抗体、抗体フラグメントおよび誘導体（全てが本発明のタンパク質、好ましくはマーカータンパク質と特異的に結合する）を提供する。モノクローナル抗体は、ヒト、ヒト化、キメラおよび/または非ヒト抗体であり得る。

30

40

## 【 0 4 1 7 】

本発明はまた、検出可能な物質とコンジュゲートされた本発明の抗体と使用説明書を含むキットを提供する。さらに別の本発明の態様は、本発明の抗体を含む医薬組成物である。一実施形態では、医薬組成物は、本発明の抗体と薬学上許容される担体を含む。

## 【 0 4 1 8 】

3 . 本発明のマーカ-の配列

本発明のマーカ-に関する情報を以下に詳しく記載する。本発明のマーカ-の配列は、同時に提出した配列表に示す。

## 【 0 4 1 9 】

A H S A 1

50

公式記号 : A H S A 1

公式名 : A H A 1、熱ショック 90 k D a タンパク質 A T P アーゼホモログ 1 のアクチベーター (酵母)

遺伝子 I D : 1 0 5 9 8

生物 : ホモ・サピエンス (Homo sapiens)

別名 : H S P C 3 2 2、A H A 1、C 1 4 o r f 3、p 3 8

他の表記 : 9 0 k D a 熱ショックタンパク質 A T P アーゼホモログ 1 のアクチベーター

f

ヌクレオチド配列 :

N C B I 参照配列 : N M \_ 0 1 2 1 1 1 . 2

10

遺伝子座 : N M \_ 0 1 2 1 1 1

アクセッション : N M \_ 0 1 2 1 1 1

バージョン : N M \_ 0 1 2 1 1 1 . 2 G I : 2 2 4 4 5 1 0 6 9

配列番号 1

タンパク質配列 :

N C B I 参照配列 : N P \_ 0 3 6 2 4 3 . 1

遺伝子座 : N P \_ 0 3 6 2 4 3

アクセッション : N P \_ 0 3 6 2 4 3

バージョン : N P \_ 0 3 6 2 4 3 . 1 G I : 6 9 1 2 2 8 0

配列番号 2

20

#### A H S G

公式記号 : A H S G

公式名 : - 2 - H S - 糖タンパク質

遺伝子 I D : 1 9 7

生物 : ホモ・サピエンス

別名 : P R O 2 7 4 3、A 2 H S、A H S、F E T U A、H S G A

他の表記 : - 2 - Z - グロブリン ; b a - - 2 - 糖タンパク質 ; フェチュイン - A

ヌクレオチド配列 :

N C B I 参照配列 : N M \_ 0 0 1 6 2 2 . 2

遺伝子座 : N M \_ 0 0 1 6 2 2

アクセッション : N M \_ 0 0 1 6 2 2

バージョン : N M \_ 0 0 1 6 2 2 . 2 G I : 1 5 6 5 2 3 9 6 9

配列番号 3

30

タンパク質配列 :

N C B I 参照配列 : N P \_ 0 0 1 6 1 3 . 2

遺伝子座 : N P \_ 0 0 1 6 1 3

アクセッション : N P \_ 0 0 1 6 1 3

バージョン : N P \_ 0 0 1 6 1 3 . 2 G I : 1 5 6 5 2 3 9 7 0

配列番号 4

40

#### A N X A 6

公式記号 : A N X A 6

公式名 : アネキシン A 6

遺伝子 I D : 3 0 9

生物 : ホモ・サピエンス

別名 : A N X 6、C B P 6 8

他の表記 : 6 7 k D a カレレクトリン ; C P B - I I ; アネキシン V I ( p 6 8 ) ; アネキシン - 6 ; カルシウム結合タンパク質 p 6 8 ; カレレクトリン ; カルホバインディン I I ; カルホバインディン - I I ; クロモバインディン - 2 0 ; リポコルチン V I ; p 6 8 ; p 7 0

ヌクレオチド配列 : 転写変異体 1

50

N C B I 参照配列 : N M \_ 0 0 1 1 5 5 . 4

遺伝子座 : N M \_ 0 0 1 1 5 5

アクセッション : N M \_ 0 0 1 1 5 5

バージョン : N M \_ 0 0 1 1 5 5 . 4 G I : 3 0 2 1 2 9 6 5 0 4

配列番号 5

タンパク質配列 : アイソフォーム 1

N C B I 参照配列 : N P \_ 0 0 1 1 4 6 . 2

遺伝子座 : N P \_ 0 0 1 1 4 6

アクセッション : N P \_ 0 0 1 1 4 6

バージョン : N P \_ 0 0 1 1 4 6 . 2 G I : 7 1 7 7 3 3 2 9

配列番号 6

ヌクレオチド配列 : 転写変異体 2

N C B I 参照配列 : N M \_ 0 0 1 1 9 3 5 4 4 . 1

遺伝子座 : N M \_ 0 0 1 1 9 3 5 4 4

アクセッション : N M \_ 0 0 1 1 9 3 5 4 4

バージョン : N M \_ 0 0 1 1 9 3 5 4 4 . 1 G I : 3 0 2 1 2 9 6 5 1

配列番号 7

タンパク質配列 : アイソフォーム 2

N C B I 参照配列 : N P \_ 0 0 1 1 8 0 4 7 3 . 1

遺伝子座 : N P \_ 0 0 1 1 8 0 4 7 3

アクセッション : N P \_ 0 0 1 1 8 0 4 7 3

バージョン : N P \_ 0 0 1 1 8 0 4 7 3 . 1 G I : 3 0 2 1 2 9 6 5 2

配列番号 8

#### A P 1 S 1

公式記号 : A P 1 S 1

公式名 : アダプター関連タンパク質複合体 1 , 1 サブユニット

遺伝子 ID : 1 1 7 4

生物 : ホモ・サピエンス

別名 : A P 1 9 、 C L A P S 1 、 M E D N I K 、 S I G M A 1 A 、 W U G S C : H \_ D J 0 7 4 7 G 1 8 . 2

他の表記 : A P - 1 複合体サブユニット - 1 A ; H A 1 1 9 k D a サブユニット ; アダプター関連タンパク質複合体 1 - 1 A サブユニット ; クラスリン集合タンパク質複合体 1 - 1 A スモール鎖 ; クラスリンコート集合タンパク質 A P 1 9 ; クラスリン関連 / 集合 / アダプタータンパク質 , スモール 1 ( 1 9 k D ) ; ゴルジアダプター H A 1 / A P 1 アダプチン - 1 A サブユニット ; A P - 1 クラスリンアダプター複合体の 1 A サブユニット ; 1 A - アダプチン

ヌクレオチド配列 :

N C B I 参照配列 : N M \_ 0 0 1 2 8 3 . 3

遺伝子座 : N M \_ 0 0 1 2 8 3

アクセッション : N M \_ 0 0 1 2 8 3

バージョン : N M \_ 0 0 1 2 8 3 . 3 G I : 1 4 8 5 3 6 8 3 1

配列番号 9

タンパク質配列 :

N C B I 参照配列 : N P \_ 0 0 1 2 7 4 . 1

遺伝子座 : N P \_ 0 0 1 2 7 4

アクセッション : N P \_ 0 0 1 2 7 4

バージョン : N P \_ 0 0 1 2 7 4 . 1 G I : 4 5 5 7 4 7 1

配列番号 10

#### A P M A P

公式記号 : A P M A P

10

20

30

40

50

公式名：脂肪細胞原形質膜結合性タンパク質

遺伝子ID：57136

生物：ホモ・サピエンス

別名：RP4-568C11.2、BSCV、C20orf3

他の表記：脂肪細胞原形質膜結合性タンパク質；タンパク質BSCV

ヌクレオチド配列：

NCBI参照配列：NM\_020531.2

遺伝子座：NM\_020531

アクセッション：NM\_020531

バージョン：NM\_020531.2 GI：41327713

配列番号11

タンパク質配列：

NCBI参照配列：NP\_065392.1

遺伝子座：NP\_065392

アクセッション：NP\_065392

バージョン：NP\_065392.1 GI：24308201

配列番号12

10

## CAPG

公式記号：CAPG

公式名：キャップタンパク質（アクチンフィラメント）、ゲルソリン様

遺伝子ID：822

生物：ホモ・サピエンス

別名：AFCP、MCP

他の表記：アクチン調節タンパク質CAP-G；アクチン調節タンパク質CAP-G；ゲルソリン様キャップタンパク質；マクロファージキャップタンパク質(macrophage capping protein)；マクロファージキャップタンパク質(macrophage-capping protein)

ヌクレオチド配列：転写変異体2

NCBI参照配列：NM\_001256139.1

遺伝子座：NM\_001256139

アクセッション：NM\_001256139

バージョン：NM\_001256139.1 GI：371502124

配列番号13

タンパク質配列：アイソフォーム1

NCBI参照配列：NP\_001243068.1

遺伝子座：NP\_001243068

アクセッション：NP\_001243068

バージョン：NP\_001243068.1 GI：371502125

配列番号14

ヌクレオチド配列：転写変異体3

NCBI参照配列：NM\_001256140.1

遺伝子座：NM\_001256140

アクセッション：NM\_001256140

バージョン：NM\_001256140.1 GI：371502126

配列番号15

タンパク質配列：アイソフォーム2

NCBI参照配列：NP\_001243069.1

遺伝子座：NP\_001243069

アクセッション：NP\_001243069

バージョン：NP\_001243069.1 GI：371502127

配列番号16

30

40

50

ヌクレオチド配列：転写変異体 1N C B I 参照配列：NM\_\_001747.3遺伝子座：NM\_\_001747アクセッション：NM\_\_001747バージョン：NM\_\_001747.3 GI：371502123

配列番号 17

タンパク質配列：アイソフォーム 1N C B I 参照配列：NP\_\_001738.2遺伝子座：NP\_\_001738アクセッション：NP\_\_001738バージョン：NP\_\_001738.2 GI：63252913

配列番号 18

10

C O R O 1 A公式記号：C O R O 1 A公式名：コロニン、アクチン結合タンパク質 1 A遺伝子 ID：11151生物：ホモ・サピエンス別名：CLABP、CLIPINA、HCORO1、TACO、p57他の表記：クリピン - A；コロニン - 1；コロニン - 1 A；コロニン様タンパク質 A；  
コロニン様タンパク質 p57；トリプトファンアスパラギン酸含有コートタンパク質

20

ヌクレオチド配列：N C B I 参照配列：NM\_\_001193333.2遺伝子座：NM\_\_001193333アクセッション：NM\_\_001193333バージョン：NM\_\_001193333.2 GI：306482594

配列番号 19

タンパク質配列：N C B I 参照配列：NP\_\_001180262.1遺伝子座：NP\_\_001180262アクセッション：NP\_\_001180262バージョン：NP\_\_001180262.1 GI：300934762

配列番号 20

30

ヌクレオチド配列：転写変異体 2N C B I 参照配列：NM\_\_007074.3遺伝子座：NM\_\_007074アクセッション：NM\_\_007074バージョン：NM\_\_007074.3 GI：306482593

配列番号 21

タンパク質配列：N C B I 参照配列：NP\_\_009005.1遺伝子座：NP\_\_009005アクセッション：NP\_\_009005バージョン：NP\_\_009005.1 GI：5902134

配列番号 22

40

C O T L 1公式記号：C O T L 1公式名：コークトシン(coactosin)様 1 (タマホコリカビ(Dictyostelium))遺伝子 ID：23406生物：ホモ・サピエンス別名：CLP

50

他の表記：コークトシン様タンパク質

ヌクレオチド配列：

N C B I 参照配列：NM\_\_021149.2

遺伝子座：NM\_\_021149

アクセッション：NM\_\_021149

バージョン：NM\_\_021149.2 GI：23510452

配列番号23

タンパク質配列：

N C B I 参照配列：NP\_\_066972.1

遺伝子座：NP\_\_066972

アクセッション：NP\_\_066972

バージョン：NP\_\_066972.1 GI：21624607

配列番号24

10

### C P O X

公式記号：C P O X

公式名：

遺伝子 I D：1371

生物：ホモ・サピエンス

別名：C P O、C P X、H C P

他の表記：C O X；コプロゲン(coprogen)オキシダーゼ；コプロボルフィリノゲン -  
I I I オキシダーゼ、ミトコンドリア；コプロボルフィリノゲナーゼ

20

ヌクレオチド配列：

N C B I 参照配列：NM\_\_000097.5

遺伝子座：NM\_\_000097

アクセッション：NM\_\_000097

バージョン：NM\_\_000097.5 GI：261862333

配列番号25

タンパク質配列：

N C B I 参照配列：NP\_\_000088.3

遺伝子座：NP\_\_000088

アクセッション：NP\_\_000088

バージョン：NP\_\_000088.3 GI：41393599

配列番号26

30

### C P S F 6

公式記号：C P S F 6

公式名：切断およびポリアデニル化特異的因子6、68kDa

遺伝子 I D：11052

生物：ホモ・サピエンス

別名：C F I M、C F I M 68、H P B R I I - 4、H P B R I I - 7

他の表記：C P S F 68kDaサブユニット；切断およびポリアデニル化特異的因子  
68kDaサブユニット；切断およびポリアデニル化特異的因子サブユニット6；mRNA  
前駆体切断因子I，68kDaサブユニット；mRNA前駆体切断因子Im(68kDa)  
；mRNA前駆体切断因子Im 68kDaサブユニット；タンパク質H P B R I I - 4  
/ 7

40

ヌクレオチド配列：

N C B I 参照配列：NM\_\_007007.2

遺伝子座：NM\_\_007007

アクセッション：NM\_\_007007

バージョン：NM\_\_007007.2 GI：162329582

配列番号27

50

タンパク質配列 :N C B I 参照配列 : NP\_\_008938.2遺伝子座 : NP\_\_008938アクセッション : NP\_\_008938バージョン : NP\_\_008938.2 GI : 162329583

配列番号 28

C U X 1公式記号 : C U X 1公式名 : cut 様ホメオボックス 1遺伝子 ID : 1523生物 : ホモ・サピエンス別名 : CASP、CDP、CDP/Cut、CDP1、COY1、CUTL1、CUX、Cl ox、Cux/CDP、GOLIM6、Nb1a10317、p100、p110、p200、p75他の表記 : CCAAT 置換タンパク質 ; cut ホモログ ; ゴルジ内在性膜タンパク質 6 ; ホメオボックスタンパク質 cux - 1 ; タンパク質 CASP ; Nb1a10317 の推定タンパク質産物ヌクレオチド配列 : 転写変異体 4N C B I 参照配列 : NM\_\_001202543.1遺伝子座 : NM\_\_001202543アクセッション : NM\_\_001202543バージョン : NM\_\_001202543.1 GI : 321400106

配列番号 29

タンパク質配列 : アイソフォーム dN C B I 参照配列 : NP\_\_001189472.1遺伝子座 : NP\_\_001189472アクセッション : NP\_\_001189472バージョン : NP\_\_001189472.1 GI : 321400107

配列番号 30

ヌクレオチド配列 : 転写変異体 5N C B I 参照配列 : NM\_\_001202544.1遺伝子座 : NM\_\_001202544アクセッション : NM\_\_001202544バージョン : NM\_\_001202544.1 GI : 321400111

配列番号 31

タンパク質配列 : アイソフォーム eN C B I 参照配列 : NP\_\_001189473.1遺伝子座 : NP\_\_001189473アクセッション : NP\_\_001189473バージョン : NP\_\_001189473.1 GI : 321400112

配列番号 32

ヌクレオチド配列 : 転写変異体 6N C B I 参照配列 : NM\_\_001202545.1遺伝子座 : NM\_\_001202545アクセッション : NM\_\_001202545 XR\_\_108855 XR\_\_1107

20 XR\_\_113043 XR\_\_114073

バージョン : NM\_\_001202545.1 GI : 321400113

配列番号 33

タンパク質配列 : アイソフォーム fN C B I 参照配列 : NP\_\_001189474.1

10

20

30

40

50

遺伝子座 : NP\_\_001189474

アクセッション : NP\_\_001189474

バージョン : NP\_\_001189474.1 GI : 321400114

配列番号 34

ヌクレオチド配列 : 転写変異体 7

NCBI参照配列 : NM\_\_001202546.1

遺伝子座 : NM\_\_001202546

アクセッション : NM\_\_001202546

バージョン : NM\_\_001202546.1 GI : 321400115

配列番号 35

タンパク質配列 : アイソフォーム g

NCBI参照配列 : NP\_\_001189475.1

遺伝子座 : NP\_\_001189475

アクセッション : NP\_\_001189475

バージョン : NP\_\_001189475.1 GI : 321400116

配列番号 36

ヌクレオチド配列 : 転写変異体 2

NCBI参照配列 : NM\_\_001913.3

遺伝子座 : NM\_\_001913

アクセッション : NM\_\_001913

バージョン : NM\_\_001913.3 GI : 321400109

配列番号 37

タンパク質配列 : アイソフォーム b

NCBI参照配列 : NP\_\_001904.2

遺伝子座 : NP\_\_001904

アクセッション : NP\_\_001904

バージョン : NP\_\_001904.2 GI : 31652236

配列番号 38

ヌクレオチド配列 : 転写変異体 3

NCBI参照配列 : NM\_\_181500.2

遺伝子座 : NM\_\_181500

アクセッション : NM\_\_181500

バージョン : NM\_\_181500.2 GI : 321400110

配列番号 39

タンパク質配列 : アイソフォーム c

NCBI参照配列 : NP\_\_852477.1

遺伝子座 : NP\_\_852477

アクセッション : NP\_\_852477

バージョン : NP\_\_852477.1 GI : 31652238

配列番号 40

ヌクレオチド配列 : 転写変異体 1

NCBI参照配列 : NM\_\_181552.3

遺伝子座 : NM\_\_181552

アクセッション : NM\_\_181552

バージョン : NM\_\_181552.3 GI : 321400108

配列番号 41

タンパク質配列 : アイソフォーム a

NCBI参照配列 : NP\_\_853530.2

遺伝子座 : NP\_\_853530

アクセッション : NP\_\_853530

10

20

30

40

50

バージョン : NP\_\_853530.2 GI : 148277064

配列番号 42

DDX39A

公式記号 : DDX39A

公式名 : DEAD ( Asp - Glu - Ala - Asp ) ボックスポリペプチド39A ( 「DEAD」は配列番号244として開示 )

遺伝子ID : 10212

生物 : ホモ・サピエンス

別名 : BAT1、BAT1L、DDX39、DDXL、URH49

他の表記 : ATP依存性RNAヘリカーゼDDX39A ; DEAD ( Asp - Glu - Ala - Asp ) ( 配列番号244 ) ボックスポリペプチド39転写産物 ; DEAD ( 配列番号244 ) ボックスタンパク質39 ; DEAD / H ( Asp - Glu - Ala - Asp / His ) ( 配列番号245 ) ボックスポリペプチド39 ; UAP56関連ヘリカーゼ , 49kDa ; 核RNAヘリカーゼURH49 ; 核RNAヘリカーゼ , DEADボックスファミリーDECD変異体 ( 配列番号246 ) ( 「DEAD」は配列番号244として開示 )

ヌクレオチド配列 :

NCBI参照配列 : NM\_\_005804.3

遺伝子座 : NM\_\_005804

アクセッション : NM\_\_005804

バージョン : NM\_\_005804.3 GI : 308522777

配列番号 43

タンパク質配列 :

NCBI参照配列 : NP\_\_005795.2

遺伝子座 : NP\_\_005795

アクセッション : NP\_\_005795

バージョン : NP\_\_005795.2 GI : 21040371

配列番号 44

DDX6

公式記号 : DDX6

公式名 : DEAD ( Asp - Glu - Ala - Asp ) ボックスヘリカーゼ6 ( 「DEAD」は配列番号244として開示 )

遺伝子ID : 1656

生物 : ホモ・サピエンス

別名 : HLR2、P54、RCK

他の表記 : ATP依存性RNAヘリカーゼp54 ; DEAD ( Asp - Glu - Ala - Asp ) ( 配列番号244 ) ボックスポリペプチド6 ; DEAD ( 配列番号244 ) ボックスタンパク質6 ; DEAD ( 配列番号244 ) ボックス - 6 ; DEAD / H ( Asp - Glu - Ala - Asp / His ) ( 配列番号245 ) ボックスポリペプチド6 ( RNAヘリカーゼ , 54kD ) ; 癌遺伝子RCK ; おそらくATP依存性RNAヘリカーゼDDX6

ヌクレオチド配列 : 転写変異体2

NCBI参照配列 : NM\_\_001257191.1

遺伝子座 : NM\_\_001257191

アクセッション : NM\_\_001257191

バージョン : NM\_\_001257191.1 GI : 380692341

配列番号 45

タンパク質配列 :

NCBI参照配列 : NP\_\_001244120.1

遺伝子座 : NP\_\_001244120

10

20

30

40

50

アクセッション : NP\_\_001244120

バージョン : NP\_\_001244120.1 GI : 380692342

配列番号 46

ヌクレオチド配列 : 転写変異体 1

NCBI参照配列 : NM\_\_004397.4

遺伝子座 : NM\_\_004397

アクセッション : NM\_\_004397

バージョン : NM\_\_004397.4 GI : 164664517

配列番号 47

タンパク質配列 :

NCBI参照配列 : NP\_\_004388.2

遺伝子座 : NP\_\_004388

アクセッション : NP\_\_004388

バージョン : NP\_\_004388.2 GI : 164664518

配列番号 48

10

### DIABLO

公式記号 : DIABLO

公式名 : diablo、IAP結合ミトコンドリアタンパク質

遺伝子ID : 56616

生物 : ホモ・サピエンス

20

別名 : hCG\_\_1782202、DFNA64、DIABLO-S、SMAC、SMAC3

他の表記 : 0610041G12Rik ; diabloホモログ、ミトコンドリア ; 低pIの直接IAP結合タンパク質 ; ミトコンドリアSmacタンパク質 ; カスパーゼの第2のミトコンドリア由来アクチベーター

ヌクレオチド配列 : ミトコンドリアアイソフォーム1前駆体

NCBI参照配列 : NM\_\_019887.4

遺伝子座 : NM\_\_019887

アクセッション : NM\_\_019887

バージョン : NM\_\_019887.4 GI : 218505810

配列番号 49

30

タンパク質配列 : アイソフォーム1

NCBI参照配列 : NP\_\_063940.1

遺伝子座 : NP\_\_063940

アクセッション : NP\_\_063940

バージョン : NP\_\_063940.1 GI : 9845297

配列番号 50

ヌクレオチド配列 : ミトコンドリアアイソフォーム3前駆体

NCBI参照配列 : NM\_\_138929.3

遺伝子座 : NM\_\_138929

アクセッション : NM\_\_138929

バージョン : NM\_\_138929.3 GI : 218505811

配列番号 51

40

タンパク質配列 : アイソフォーム3

NCBI参照配列 : NP\_\_620307.1

遺伝子座 : NP\_\_620307

アクセッション : NP\_\_620307

バージョン : NP\_\_620307.1 GI : 21070976

配列番号 52

### EIF3B

50

公式記号 : E I F 3 B

公式名 : 真核生物翻訳開始因子3サブユニットB

遺伝子ID : 8 6 6 2

生物 : ホモ・サピエンス

別名 : E I F 3 - E T A、E I F 3 - P 1 1 0、E I F 3 - P 1 1 6、E I F 3 S 9、P R T 1

他の表記 : e I F - 3 - e t a ; e I F 3 p 1 1 0 ; e I F 3 p 1 1 6 ; 真核生物翻訳開始因子3サブユニット9 ; 真核生物翻訳開始因子3サブユニットB ; 真核生物翻訳開始因子3 , サブユニット9 ( e t a , 1 1 6 k D ) ; 真核生物翻訳開始因子3 , サブユニット9 e t a , 1 1 6 k D a ; h P r t 1 ; p r t 1 ホモログ

10

ヌクレオチド配列 :

N C B I 参照配列 : N M \_ 0 0 1 0 3 7 2 8 3 . 1

遺伝子座 : N M \_ 0 0 1 0 3 7 2 8 3

アクセッション : N M \_ 0 0 1 0 3 7 2 8 3

バージョン : N M \_ 0 0 1 0 3 7 2 8 3 . 1 G I : 8 3 3 6 7 0 7 1

配列番号 5 3

タンパク質配列 :

N C B I 参照配列 : N P \_ 0 0 1 0 3 2 3 6 0 . 1

遺伝子座 : N P \_ 0 0 1 0 3 2 3 6 0

アクセッション : N P \_ 0 0 1 0 3 2 3 6 0

バージョン : N P \_ 0 0 1 0 3 2 3 6 0 . 1 G I : 8 3 3 6 7 0 7 2

配列番号 5 4

20

ヌクレオチド配列 :

N C B I 参照配列 : N M \_ 0 0 3 7 5 1 . 3

遺伝子座 : N M \_ 0 0 3 7 5 1

アクセッション : N M \_ 0 0 3 7 5 1

バージョン : N M \_ 0 0 3 7 5 1 . 3 G I : 8 3 3 6 7 0 7 3

配列番号 5 5

タンパク質配列 :

N C B I 参照配列 : N P \_ 0 0 3 7 4 2 . 2

遺伝子座 : N P \_ 0 0 3 7 4 2

アクセッション : N P \_ 0 0 3 7 4 2

バージョン : N P \_ 0 0 3 7 4 2 . 2 G I : 3 3 2 3 9 4 4 5

配列番号 5 6

30

## E I F 3 G

公式記号 : E I F 3 G

公式名 : 真核生物翻訳開始因子3 , サブユニットG

遺伝子ID : 8 6 6 6

生物 : ホモ・サピエンス

別名 : E I F 3 - P 4 2、E I F 3 S 4、e I F 3 - 、e I F 3 - p 4 4

40

他の表記 : e I F - 3 R N A 結合サブユニット ; e I F - 3 - ; e I F 3 p 4 2 ; e I F 3 p 4 4 ; 真核生物翻訳開始因子3 R N A 結合サブユニット ; 真核生物翻訳開始因子3サブユニット4 ; 真核生物翻訳開始因子3サブユニットG ; 真核生物翻訳開始因子3サブユニットp 4 2 ; 真核生物翻訳開始因子3 , サブユニット4 ( , 4 4 k D ) ; 真核生物翻訳開始因子3 , サブユニット4 , 4 4 k D a

ヌクレオチド配列 :

N C B I 参照配列 : N M \_ 0 0 3 7 5 5 . 3

遺伝子座 : N M \_ 0 0 3 7 5 5

アクセッション : N M \_ 0 0 3 7 5 5

バージョン : N M \_ 0 0 3 7 5 5 . 3 G I : 8 3 2 8 1 4 4 0

50

配列番号 57

タンパク質配列 :

N C B I 参照配列 : NP\_\_003746.2

遺伝子座 : NP\_\_003746

アクセッション : NP\_\_003746

バージョン : NP\_\_003746.2 GI : 49472822

配列番号 58

E I F 3 L

公式記号 : E I F 3 L

公式名 : 真核生物翻訳開始因子3サブユニットL

10

遺伝子ID : 51386

生物 : ホモ・サピエンス

別名 : AL022311.1、EIF3EIP、EIF3S11、EIF3S6IP、HSPC021、HSPC025、MSTP005

他の表記 : eIEF関連タンパク質HSPC021; 真核生物翻訳開始因子3サブユニット6相互作用タンパク質; 真核生物翻訳開始因子3サブユニットE相互作用タンパク質; 真核生物翻訳開始因子3サブユニットL

ヌクレオチド配列 : アイソフォーム1

N C B I 参照配列 : NM\_\_016091.3

遺伝子座 : NM\_\_016091

アクセッション : NM\_\_016091

バージョン : NM\_\_016091.3 GI : 339275829

配列番号 59

タンパク質配列 : アイソフォーム1

N C B I 参照配列 : NP\_\_057175.1

遺伝子座 : NP\_\_057175

アクセッション : NP\_\_057175

バージョン : NP\_\_057175.1 GI : 7705433

配列番号 60

ヌクレオチド配列 : アイソフォーム2

N C B I 参照配列 : NM\_\_001242923.1

遺伝子座 : NM\_\_001242923

アクセッション : NM\_\_001242923

バージョン : NM\_\_001242923.1 GI : 339275830

配列番号 61

タンパク質配列 : アイソフォーム2

N C B I 参照配列 : NP\_\_001229852.1

遺伝子座 : NP\_\_001229852

アクセッション : NP\_\_001229852

バージョン : NP\_\_001229852.1 GI : 339275831

配列番号 62

E I F 4 A 2

公式記号 : E I F 4 A 2

公式名 : 真核生物翻訳開始因子4A2

遺伝子ID : 1974

生物 : ホモ・サピエンス

別名 : BM-010、DDX2B、EIF4A、EIF4F、eIF-4A-II、eIF4A-I

他の表記 : ATP依存性RNAヘリカーゼeIF4A-2; 真核生物開始因子4A-I; 真核生物翻訳開始因子4A

50

ヌクレオチド配列 :N C B I 参照配列 : N M \_ 0 0 1 9 6 7 . 3遺伝子座 : N M \_ 0 0 1 9 6 7アクセッション : N M \_ 0 0 1 9 6 7バージョン : N M \_ 0 0 1 9 6 7 . 3 G I : 8 3 7 0 0 2 3 4

配列番号 6 3

タンパク質配列 :N C B I 参照配列 : N P \_ 0 0 1 9 5 8 . 2遺伝子座 : N P \_ 0 0 1 9 5 8アクセッション : N P \_ 0 0 1 9 5 8バージョン : N P \_ 0 0 1 9 5 8 . 2 G I : 8 3 7 0 0 2 3 5

配列番号 6 4

10

E R A P 1公式記号 : E R A P 1公式名 : 小胞体アミノペプチダーゼ 1遺伝子 ID : 5 1 7 5 2生物 : ホモ・サピエンス別名 : U N Q 5 8 4 / P R O 1 1 5 4、A - L A P、A L A P、A P P I L S、A R T S - 1、A R T S 1、E R A A P、E R A A P 1、P I L S - A P、P I L S A P他の表記 : 脂肪細胞由来ロイシンアミノペプチダーゼ ; アミノペプチダーゼ P I L S ; T N F R 1 放出アミノペプチダーゼレギュレーター ; 小胞体アミノペプチダーゼ関連抗原プロセッシング ; ピューロマイシン非感受性ロイシル特異的アミノペプチダーゼ ; 1 型腫瘍壊死因子受容体放出アミノペプチダーゼレギュレーター

20

ヌクレオチド配列 : 転写変異体 2N C B I 参照配列 : N M \_ 0 0 1 0 4 0 4 5 8 . 1遺伝子座 : N M \_ 0 0 1 0 4 0 4 5 8アクセッション : N M \_ 0 0 1 0 4 0 4 5 8バージョン : N M \_ 0 0 1 0 4 0 4 5 8 . 1 G I : 9 4 8 1 8 8 9 0

配列番号 6 5

タンパク質配列 : 変異体 2N C B I 参照配列 : N P \_ 0 0 1 0 3 5 5 4 8 . 1遺伝子座 : N P \_ 0 0 1 0 3 5 5 4 8アクセッション : N P \_ 0 0 1 0 3 5 5 4 8バージョン : N P \_ 0 0 1 0 3 5 5 4 8 . 1 G I : 9 4 8 1 8 8 9 1

配列番号 6 6

30

ヌクレオチド配列 : 転写変異体 1N C B I 参照配列 : N M \_ 0 1 6 4 4 2 . 3遺伝子座 : N M \_ 0 1 6 4 4 2アクセッション : N M \_ 0 1 6 4 4 2バージョン : N M \_ 0 1 6 4 4 2 . 3 G I : 9 4 8 1 8 9 0 0

配列番号 6 7

40

タンパク質配列 : 変異体 1N C B I 参照配列 : N P \_ 0 5 7 5 2 6 . 3遺伝子座 : N P \_ 0 5 7 5 2 6アクセッション : N P \_ 0 5 7 5 2 6バージョン : N P \_ 0 5 7 5 2 6 . 3 G I : 9 4 8 1 8 9 0 1

配列番号 6 8

ヌクレオチド配列 : 転写変異体 3N C B I 参照配列 : N M \_ 0 0 1 1 9 8 5 4 1 . 1遺伝子座 : N M \_ 0 0 1 1 9 8 5 4 1

50

アクセッション : NM\_\_001198541

バージョン : NM\_\_001198541.1 GI : 309747090

配列番号 69

タンパク質配列 : 変異体 3

NCBI 参照配列 : NP\_\_001185470.1

遺伝子座 : NP\_\_001185470

アクセッション : NP\_\_001185470

バージョン : NP\_\_001185470.1 GI : 309747091

配列番号 70

#### ERP44

10

公式記号 : ERP44

公式名 : 小胞体タンパク質 44

遺伝子 ID : 23071

生物 : ホモ・サピエンス

別名 : UNQ532 / PRO1075、PDIA10、TXNDC4

他の表記 : ERタンパク質 44 ; 小胞体内在性タンパク質 44 ; 小胞体内在性タンパク質 44 kDa ; タンパク質ジスルフィドイソメラーゼファミリー A メンバー 10 ; チオレドキシンドメイン含有 4 (小胞体) ; チオレドキシンドメイン含有タンパク質 4

ヌクレオチド配列 :

NCBI 参照配列 : NM\_\_015051.1

遺伝子座 : NM\_\_015051

アクセッション : NM\_\_015051

バージョン : NM\_\_015051.1 GI : 52487190

配列番号 71

20

タンパク質配列 :

NCBI 参照配列 : NP\_\_055866.1

遺伝子座 : NP\_\_055866

アクセッション : NP\_\_055866

バージョン : NP\_\_055866.1 GI : 52487191

配列番号 72

30

#### ETFB

公式記号 : ETFB

公式名 : 電子伝達フラボタンパク質 , ポリペプチド

遺伝子 ID : 2109

生物 : ホモ・サピエンス

別名 : FP585、MADD

他の表記 : -ETF ; 電子伝達フラボタンパク質 サブユニット ; 電子伝達フラボタンパク質 -サブユニット ; 電子伝達フラボタンパク質サブユニット ; 電子伝達フラボタンパク質 (electron transfer flavoprotein) , ポリペプチド ; 電子伝達フラボタンパク質 (electron-transferring-flavoprotein) , ポリペプチド

40

ヌクレオチド配列 : アイソフォーム 1

NCBI 参照配列 : NM\_\_001985.2

遺伝子座 : NM\_\_001985

アクセッション : NM\_\_001985

バージョン : NM\_\_001985.2 GI : 62420878

配列番号 73

タンパク質配列 : アイソフォーム 1

NCBI 参照配列 : NP\_\_001976.1

遺伝子座 : NP\_\_001976

アクセッション : NP\_\_001976

50

バージョン : NP\_\_001976.1 GI : 4503609

配列番号74

ヌクレオチド配列 : アイソフォーム2

NCBI参照配列 : NM\_\_001014763.1

遺伝子座 : NM\_\_001014763

アクセッション : NM\_\_001014763

バージョン : NM\_\_001014763.1 GI : 62420876

配列番号75

タンパク質配列 : アイソフォーム2

NCBI参照配列 : NP\_\_001014763.1

遺伝子座 : NP\_\_001014763

アクセッション : NP\_\_001014763

バージョン : NP\_\_001014763.1 GI : 62420877

配列番号76

10

### FARSA

公式記号 : FARSA

公式名 : フェニルアラニル - tRNAシンセターゼ , サブユニット

遺伝子ID : 2193

生物 : ホモ・サピエンス

別名 : CML33、FARSL、FARSLA、FRSA、PheHA

20

他の表記 : pheRS ; フェニルアラニンtRNAリガーゼ1 , , 細胞質 ; フェニルアラニン - - tRNAリガーゼ 鎖 ; フェニルアラニン - - tRNAリガーゼ サブユニット ; フェニルアラニン - tRNAシンセターゼ - サブユニット ; フェニルアラニン - tRNAシンセターゼ様 , サブユニット ; フェニルアラニル - tRNAシンセターゼ鎖 ; フェニルアラニル - tRNAシンセターゼ様 , サブユニット

ヌクレオチド配列 :

NCBI参照配列 : NM\_\_004461.2

遺伝子座 : NM\_\_004461

アクセッション : NM\_\_004461

バージョン : NM\_\_004461.2 GI : 126517492

配列番号77

30

タンパク質配列 :

NCBI参照配列 : NP\_\_004452.1

遺伝子座 : NP\_\_004452

アクセッション : NP\_\_004452

バージョン : NP\_\_004452.1 GI : 4758340

配列番号78

### FKBP4

公式記号 : FKBP4

公式名 : FK506結合タンパク質4 , 59kDa

40

遺伝子ID : 2288

生物 : ホモ・サピエンス

別名 : FKBP51、FKBP52、FKBP59、HBI、Hsp56、PPIase、p52

他の表記 : 51kDa FK506結合タンパク質 ; FK506結合タンパク質4 (59kD) ; HSP結合イムノフィリン ; T細胞FK506結合タンパク質 , 59kD ; ペプチジル - プロリルシス - トランスイソメラーゼFKBP4 ; ペプチジルプロリルシス - トランスイソメラーゼ ; ロタマーゼ

ヌクレオチド配列 :

NCBI参照配列 : NM\_\_002014.3

50

遺伝子座 : NM\_\_002014

アクセッション : NM\_\_002014

バージョン : NM\_\_002014.3 GI : 206725538

配列番号 79

タンパク質配列 :

N C B I 参照配列 : NP\_\_002005.1

遺伝子座 : NP\_\_002005

アクセッション : NP\_\_002005

バージョン : NP\_\_002005.1 GI : 4503729

配列番号 80

10

#### G E T 4

公式記号 : G E T 4

公式名 : ゴルジ - E R 間輸送タンパク質 4 ホモログ

遺伝子 I D : 51608

生物 : ホモ・サピエンス

別名 : C E E ; T R C 3 5 ; C G I - 2 0 ; C 7 o r f 2 0

他の表記 : ゴルジ - E R 間輸送タンパク質 4 ホモログ ; H\_\_NH1244M04.5 ; 保存されているエッジ発現タンパク質 ; 保存されているエッジタンパク質 ; 保存されているエッジ発現タンパク質 ; 膜貫通ドメイン認識複合体 35 k D a サブユニット ; 膜貫通ドメイン認識複合体 , 35 k D a

20

ヌクレオチド配列 :

N C B I 参照配列 : NM\_\_015949.2

遺伝子座 : NM\_\_015949

アクセッション : NM\_\_015949

バージョン : NM\_\_015949.2 GI : 38570061

配列番号 81

タンパク質配列 :

N C B I 参照配列 : NP\_\_057033.2

遺伝子座 : NP\_\_057033

アクセッション : NP\_\_057033

バージョン : NP\_\_057033.2 GI : 38570062

配列番号 82

30

#### G L U D 1

公式記号 : G L U D 1

公式名 : グルタミン酸デヒドロゲナーゼ 1

遺伝子 I D : 2746

生物 : ホモ・サピエンス

別名 : G D H ; G D H 1 ; G L U D

他の表記 : G D H 1 ; グルタミン酸デヒドロゲナーゼ ( N A D ( P ) + ) ; グルタミン酸デヒドロゲナーゼ 1 , ミトコンドリア

40

ヌクレオチド配列 :

N C B I 参照配列 : NM\_\_005271.3

遺伝子座 : NM\_\_005271

アクセッション : NM\_\_005271

バージョン : NM\_\_005271.3 GI : 260064010

配列番号 83

タンパク質配列 :

N C B I 参照配列 : NP\_\_005262.1

遺伝子座 : NP\_\_005262

アクセッション : NP\_\_005262

50

バージョン : NP\_\_005262.1 GI : 4885281

配列番号 84

GTF2I

公式記号 : GTF2I

公式名 : 基本転写因子 I I i

遺伝子 ID : 2969

生物 : ホモ・サピエンス

別名 : BAP135、BTKAP1、DIWS、GTFII-I、IB291、SPIN、TFII-I、WBS、WBSCR6

他の表記 : BTK関連タンパク質135 ; BTK関連タンパク質、135 kD ; プルトンチロシンキナーゼ関連タンパク質135 ; SRF-Phox1相互作用タンパク質 ; ウィリアムズ-ビューレン症候群染色体領域6 ; 基本転写因子 II - I ; ウィリアムズ-ビューレン症候群染色体領域6タンパク質

ヌクレオチド配列 : 転写変異体 5

NCBI参照配列 : NM\_\_001163636.1

遺伝子座 : NM\_\_001163636

アクセッション : NM\_\_001163636

バージョン : NM\_\_001163636.1 GI : 254692933

配列番号 85

タンパク質配列 : アイソフォーム 5

NCBI参照配列 : NP\_\_001157108.1

遺伝子座 : NP\_\_001157108

アクセッション : NP\_\_001157108

バージョン : NP\_\_001157108.1 GI : 254692934

配列番号 86

ヌクレオチド配列 : 転写変異体 4

NCBI参照配列 : NM\_\_001518.3

遺伝子座 : NM\_\_001518

アクセッション : NM\_\_001518

バージョン : NM\_\_001518.3 GI : 169881251

配列番号 87

タンパク質配列 : アイソフォーム 4

NCBI参照配列 : NP\_\_001509.3

遺伝子座 : NP\_\_001509

アクセッション : NP\_\_001509 NP\_\_127496 XP\_\_944599

バージョン : NP\_\_001509.3 GI : 169881252

配列番号 88

ヌクレオチド配列 : 転写変異体 1

NCBI参照配列 : NM\_\_032999.2

遺伝子座 : NM\_\_032999

アクセッション : NM\_\_032999

バージョン : NM\_\_032999.2 GI : 169881253

配列番号 89

タンパク質配列 : アイソフォーム 1

NCBI参照配列 : NP\_\_127492.1

遺伝子座 : NP\_\_127492

アクセッション : NP\_\_127492

バージョン : NP\_\_127492.1 GI : 14670350

配列番号 90

ヌクレオチド配列 : 転写変異体 2

10

20

30

40

50

N C B I 参照配列 : N M \_ 0 3 3 0 0 0 . 2

遺伝子座 : N M \_ 0 3 3 0 0 0

アクセッション : N M \_ 0 3 3 0 0 0 X M \_ 0 0 1 1 3 3 6 4 6

バージョン : N M \_ 0 3 3 0 0 0 . 2 G I : 1 6 9 8 8 1 2 5 4

配列番号 9 1

タンパク質配列 : アイソフォーム 2

N C B I 参照配列 : N P \_ 1 2 7 4 9 3 . 1

遺伝子座 : N P \_ 1 2 7 4 9 3

アクセッション : N P \_ 1 2 7 4 9 3 X P \_ 0 0 1 1 3 3 6 4 6

バージョン : N P \_ 1 2 7 4 9 3 . 1 G I : 1 4 6 7 0 3 5 2

配列番号 9 2

ヌクレオチド配列 : 転写変異体 3

N C B I 参照配列 : N M \_ 0 3 3 0 0 1 . 2

遺伝子座 : N M \_ 0 3 3 0 0 1

アクセッション : N M \_ 0 3 3 0 0 1 X M \_ 0 0 1 1 3 0 6 0 9

バージョン : N M \_ 0 3 3 0 0 1 . 2 G I : 1 6 9 8 8 1 2 5 5

配列番号 9 3

タンパク質配列 : アイソフォーム 3

N C B I 参照配列 : N P \_ 1 2 7 4 9 4 . 1

遺伝子座 : N P \_ 1 2 7 4 9 4

アクセッション : N P \_ 1 2 7 4 9 4 X P \_ 0 0 1 1 3 0 6 0 9

バージョン : N P \_ 1 2 7 4 9 4 . 1 G I : 1 4 6 7 0 3 5 4

配列番号 9 4

## H B A 2

公式記号 : H B A 2

公式名 : ヘモグロビン , 2

遺伝子 I D : 3 0 4 0

生物 : ホモ・サピエンス

別名 : H B H

他の表記 : グロビン ; - 2 グロビン ; - グロビン ; ヘモグロビン 鎖 ; ヘモグロビンサブユニット 30

ヌクレオチド配列 :

N C B I 参照配列 : N M \_ 0 0 0 5 1 7 . 4

遺伝子座 : N M \_ 0 0 0 5 1 7

アクセッション : N M \_ 0 0 0 5 1 7

バージョン : N M \_ 0 0 0 5 1 7 . 4 G I : 1 7 2 0 7 2 6 8 9

配列番号 9 5

タンパク質配列 :

N C B I 参照配列 : N P \_ 0 0 0 5 0 8 . 1

遺伝子座 : N P \_ 0 0 0 5 0 8

アクセッション : N P \_ 0 0 0 5 0 8

バージョン : N P \_ 0 0 0 5 0 8 . 1 G I : 4 5 0 4 3 4 5

配列番号 9 6

## H L A - A

公式記号 : H L A - A

公式名 : 主要組織適合性複合体 , クラス I , A

遺伝子 I D : 3 1 0 5

生物 : ホモ・サピエンス

別名 : D A Q B - 9 0 C 1 1 . 1 6 - 0 0 2 , H L A A

他の表記 : H L A クラス I 組織適合性抗原 , A - 1 鎖 ; M H C クラス I 抗原 H L A - 50

A 重鎖 ; 抗原提示分子 ; 白血球抗原クラス I - A

ヌクレオチド配列 : 転写変異体 2

N C B I 参照配列 : N M \_ 0 0 1 2 4 2 7 5 8 . 1

遺伝子座 : N M \_ 0 0 1 2 4 2 7 5 8

アクセッション : N M \_ 0 0 1 2 4 2 7 5 8 X M \_ 0 0 3 9 6 0 0 3 5 X M \_ 0  
0 3 9 6 0 0 3 6 X M \_ 0 0 3 9 6 0 0 3 7 X M \_ 0 0 3 9 6 0 0 3 8 X M \_ 0 0  
3 9 6 0 0 3 9 X M \_ 0 0 3 9 6 0 0 4 0 X M \_ 0 0 3 9 6 0 0 4 1 X M \_ 0 0 3  
9 6 0 0 4 2 X M \_ 0 0 3 9 6 0 0 4 3 X M \_ 0 0 3 9 6 0 0 4 4 X M \_ 0 0 3 9  
6 0 0 4 5

バージョン : N M \_ 0 0 1 2 4 2 7 5 8 . 1 G I : 3 3 7 7 5 2 1 6 9

10

配列番号 9 7

タンパク質配列 : A \* 0 1 : 0 1 : 0 1 : 0 1 対立遺伝子

N C B I 参照配列 : N P \_ 0 0 1 2 2 9 6 8 7 . 1

遺伝子座 : N P \_ 0 0 1 2 2 9 6 8 7

アクセッション : N P \_ 0 0 1 2 2 9 6 8 7 X P \_ 0 0 3 9 6 0 0 8 4 X P \_ 0  
0 3 9 6 0 0 8 5 X P \_ 0 0 3 9 6 0 0 8 6 X P \_ 0 0 3 9 6 0 0 8 7 X P \_ 0 0  
3 9 6 0 0 8 8 X P \_ 0 0 3 9 6 0 0 8 9 X P \_ 0 0 3 9 6 0 0 9 0 X P \_ 0 0 3  
9 6 0 0 9 1 X P \_ 0 0 3 9 6 0 0 9 2 X P \_ 0 0 3 9 6 0 0 9 3 X P \_ 0 0 3 9  
6 0 0 9 4

バージョン : N P \_ 0 0 1 2 2 9 6 8 7 . 1 G I : 3 3 7 7 5 2 1 7 0

20

配列番号 9 8

ヌクレオチド配列 : 転写変異体 1

N C B I 参照配列 : N M \_ 0 0 2 1 1 6 . 7

遺伝子座 : N M \_ 0 0 2 1 1 6

アクセッション : N M \_ 0 0 2 1 1 6 N M \_ 0 0 1 0 8 0 8 4 0 X M \_ 0 0 1 7  
1 3 6 4 5

バージョン : N M \_ 0 0 2 1 1 6 . 7 G I : 3 3 7 7 5 2 1 7 1

配列番号 9 9

タンパク質配列 : A \* 0 3 : 0 1 : 0 : 0 1 対立遺伝子

N C B I 参照配列 : N P \_ 0 0 2 1 0 7 . 3

遺伝子座 : N P \_ 0 0 2 1 0 7 N P \_ 0 0 1 0 7 4 3 0 9 X P \_ 0 0 1 7 1 3 6

30

9 7

アクセッション : N P \_ 0 0 2 1 0 7

バージョン : N P \_ 0 0 2 1 0 7 . 3 G I : 2 4 7 9 7 0 6 7

配列番号 1 0 0

H L A - D Q B 1

公式記号 : H L A - D Q B 1

公式名 : 主要組織適合性複合体 , クラス I I 、 D Q 1

遺伝子 I D : 3 1 1 9

生物 : ホモ・サピエンス

40

別名 : D A D B - 2 4 9 P 1 2 . 2 、 C E L I A C 1 、 H L A - D Q B 、 I D D M 1

他の表記 : H L A クラス I I 組織適合性抗原 , D Q 1 鎖 ; M H C D Q ; M H C ク  
ラス I I D Q 鎖 ; M H C クラス I I H L A - D Q 糖タンパク質 ; M H C クラス I  
I 抗原 D Q B 1 ; M H C クラス I I 抗原 H L A - D Q - - 1 ; M H C クラス 2 抗原 ; リ  
ンパ球抗原

ヌクレオチド配列 : 転写変異体 2

N C B I 参照配列 : N M \_ 0 0 1 2 4 3 9 6 1 . 1

遺伝子座 : N M \_ 0 0 1 2 4 3 9 6 1

アクセッション : N M \_ 0 0 1 2 4 3 9 6 1

バージョン : N M \_ 0 0 1 2 4 3 9 6 1 . 1 G I : 3 4 5 4 6 1 0 8 0

50

配列番号 101

タンパク質配列 : アイソフォーム 2N C B I 参照配列 : NP\_\_001230890.1遺伝子座 : NP\_\_001230890アクセッション : NP\_\_001230890バージョン : NP\_\_001230890.1 GI : 345461081

配列番号 102

ヌクレオチド配列 : 転写変異体 3N C B I 参照配列 : NM\_\_001243962.1遺伝子座 : NM\_\_001243962アクセッション : NM\_\_001243962 XM\_\_003846474 XM\_\_03846475バージョン : NM\_\_001243962.1 GI : 345461078

配列番号 103

タンパク質配列 : アイソフォーム 1N C B I 参照配列 : NP\_\_001230891.1遺伝子座 : NP\_\_001230891アクセッション : NP\_\_001230891 XP\_\_003846522 XP\_\_03846523バージョン : NP\_\_001230891.1 GI : 345461079

配列番号 104

ヌクレオチド配列 : 転写変異体 1N C B I 参照配列 : NM\_\_002123.4遺伝子座 : NM\_\_002123アクセッション : NM\_\_002123 XM\_\_001722253 XM\_\_001723447バージョン : NM\_\_002123.4 GI : 345461082

配列番号 105

タンパク質配列 : アイソフォーム 1N C B I 参照配列 : NP\_\_002114.3遺伝子座 : NP\_\_002114アクセッション : NP\_\_002114 XP\_\_001722305 XP\_\_001723499バージョン : NP\_\_002114.3 GI : 150418002

配列番号 106

H L A - D R A公式記号 : H L A - D R A公式名 : 主要組織適合性複合体, クラス II, DR遺伝子 ID : 3122生物 : ホモ・サピエンス別名 : D A S S - 397D15.1、H L A - D R A 1、M L R W他の表記 : H L A クラス II 組織適合性抗原、DR 鎖; M H C 細胞表面糖タンパク質; M H C クラス II 抗原 D R A ; 組織適合性抗原 H L A - D Rヌクレオチド配列 :参照配列 : NM\_\_019111.4遺伝子座 : NM\_\_019111アクセッション : NM\_\_019111バージョン : NM\_\_019111.4 GI : 301171411

配列番号 107

タンパク質配列 :

10

20

30

40

50

N C B I 参照配列 : N P \_ 0 6 1 9 8 4 . 2

遺伝子座 : N P \_ 0 6 1 9 8 4

アクセッション : N P \_ 0 6 1 9 8 4

バージョン : N P \_ 0 6 1 9 8 4 . 2 G I : 5 2 4 2 6 7 7 4

配列番号 1 0 8

#### H N R N P M

公式記号 : H N R N P M

公式名 : 異種核リボヌクレオタンパク質 M

遺伝子 ID : 4 6 7 0

生物 : ホモ・サピエンス

10

別名 : C E A R、H N R N P M 4、H N R P M、H N R P M 4、H T G R 1、N A G R 1、h n R N P M

他の表記 : C E A 受容体 ; N - アセチルグルコサミン受容体 1 ; 異種核リボヌクレオタンパク質 M 4 ; h n R N A 結合タンパク質 M 4

ヌクレオチド配列 : 転写変異体 1

N C B I 参照配列 : N M \_ 0 0 5 9 6 8 . 4

遺伝子座 : N M \_ 0 0 5 9 6 8

アクセッション : N M \_ 0 0 5 9 6 8

バージョン : N M \_ 0 0 5 9 6 8 . 4 G I : 3 4 5 0 9 1 0 0 4

配列番号 1 0 9

20

タンパク質配列 : アイソフォーム a

N C B I 参照配列 : N P \_ 0 0 5 9 5 9 . 2

遺伝子座 : N P \_ 0 0 5 9 5 9

アクセッション : N P \_ 0 0 5 9 5 9

バージョン : N P \_ 0 0 5 9 5 9 . 2 G I : 1 4 1 4 1 1 5 2

配列番号 1 1 0

ヌクレオチド配列 : 転写変異体 2

N C B I 参照配列 : N M \_ 0 3 1 2 0 3 . 3

遺伝子座 : N M \_ 0 3 1 2 0 3

アクセッション : N M \_ 0 3 1 2 0 3

バージョン : N M \_ 0 3 1 2 0 3 . 3 G I : 3 4 5 0 9 1 0 0 7

配列番号 1 1 1

30

タンパク質配列 : アイソフォーム b

N C B I 参照配列 : N P \_ 1 1 2 4 8 0 . 2

遺伝子座 : N P \_ 1 1 2 4 8 0

アクセッション : N P \_ 1 1 2 4 8 0

バージョン : N P \_ 1 1 2 4 8 0 . 2 G I : 1 5 7 4 1 2 2 7 0

配列番号 1 1 2

#### H P R T 1

公式記号 : H P R T 1

40

公式名 : ヒポキサンチンホスホリボシルトランスフェラーゼ 1

遺伝子 ID : 3 2 5 1

生物 : ホモ・サピエンス

別名 : H G P R T、H P R T

他の表記 : H G P R T アーゼ ; ヒポキサンチン - グアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ

ヌクレオチド配列 :

N C B I 参照配列 : N M \_ 0 0 0 1 9 4 . 2

遺伝子座 : N M \_ 0 0 0 1 9 4

アクセッション : N M \_ 0 0 0 1 9 4

50

バージョン : NM\_\_000194.2 GI : 164518913

配列番号 113

タンパク質配列 :

NCBI 参照配列 : NP\_\_000185.1

遺伝子座 : NP\_\_000185

アクセッション : NP\_\_000185

バージョン : NP\_\_000185.1 GI : 4504483

配列番号 114

HSP90B1

公式記号 : HSP90B1

公式名 : 熱ショックタンパク質90kDa (Grp94), メンバー1

遺伝子ID : 7184

生物 : ホモ・サピエンス

別名 : ECGP、GP96、GRP94、TRA1

他の表記 : 94kDa グルコース調節タンパク質 ; エンドプラスミン ; 内皮細胞 (HBMEC) 糖タンパク質 ; 熱ショックタンパク質90kDa メンバー1 ; ストレス誘発性腫瘍拒絶抗原 gp96 ; 腫瘍拒絶抗原 (gp96) 1 ; 腫瘍拒絶抗原 1

ヌクレオチド配列 :

NCBI 参照配列 : NM\_\_003299.2

遺伝子座 : NM\_\_003299

アクセッション : NM\_\_003299

バージョン : NM\_\_003299.2 GI : 399567818

配列番号 115

タンパク質配列 :

NCBI 参照配列 : NP\_\_003290.1

遺伝子座 : NP\_\_003290

アクセッション : NP\_\_003290

バージョン : NP\_\_003290.1 GI : 4507677

配列番号 116

HSPH1

公式記号 : HSPH1

公式名 : 熱ショック105kDa / 110kDa タンパク質 1

遺伝子ID : 10808

生物 : ホモ・サピエンス

別名 : RP11-173P16.1、HSP105、HSP105A、HSP105B、NY-共25

他の表記 : 抗原 NY-CO25 ; 熱ショック105kDa ; 熱ショック105kDa ; 熱ショック105kDa タンパク質 1 ; 熱ショック110kDa タンパク質 ; 熱ショックタンパク質105kDa

ヌクレオチド配列 :

NCBI 参照配列 : NM\_\_006644.2

遺伝子座 : NM\_\_006644

アクセッション : NM\_\_006644

バージョン : NM\_\_006644.2 GI : 42544158

配列番号 117

タンパク質配列 :

NCBI 参照配列 : NP\_\_006635.2

遺伝子座 : NP\_\_006635

アクセッション : NP\_\_006635

バージョン : NP\_\_006635.2 GI : 42544159

10

20

30

40

50

配列番号 1 1 8

I G H M公式記号 : I G H M公式名 : 免疫グロブリン重鎖定常  $\mu$ 遺伝子ID : 3 5 0 7生物 : ホモ・サピエンス別名 : A G M 1、M U、V H他の表記 : なしヌクレオチド配列 : m R N A 変異体 1E N A 配列参照番号 : X 1 7 1 1 5 . 1

&gt;ENA|X17115|X17115.1 Human mRNA for IgM heavy chain complete sequence: Location:1..1000

10

配列番号 1 1 9

タンパク質配列 : アイソフォーム 1UniProtKB/Swiss-Prot参照番号 : P 0 1 8 7 1 - 1

&gt;sp|P01871|IGHM\_HUMAN Ig mu chain C region OS=Homo sapiens GN=IGHM PE=1 SV=3

配列番号 1 2 0

ヌクレオチド配列 : m R N A 変異体 2E N A 配列参照番号 : X 5 7 0 8 6 . 1

&gt;ENA|X57086|X57086.1 H.sapiens mRNA for IgM heavy chain constant domain: Location:1..1000

20

配列番号 1 2 1

タンパク質配列 : アイソフォーム 2UniProtKB/Swiss-Prot参照番号 : P 0 1 8 7 1 - 2

&gt;sp|P01871-2|IGHM\_HUMAN Isoform 2 of Ig mu chain C region OS=Homo sapiens: G

N=IGHM

配列番号 1 2 2

I G L C 1公式記号 : I G L C 1公式名 : 免疫グロブリン 定常 1 ( M c g マーカー )遺伝子ID : 3 5 3 7生物 : ホモ・サピエンス別名 : I G L C他の表記 : なしヌクレオチド配列 : m R N A 変異体 1E N A 配列参照番号 : C A A 3 6 0 4 7 . 1

&gt;ENA|CAA36047|CAA36047.1 Homo sapiens (human) hypothetical protein: Location:1..320

置 : 1 . . 3 2 0

配列番号 1 2 3

ヌクレオチド配列 : m R N A 変異体 2E N A 配列参照番号 : A A A 5 9 1 0 6 . 1

&gt;ENA|AAA59106|AAA59106.1 Homo sapiens (human) partial immunoglobulin lambda light chain C region : Location:1..315

40

配列番号 1 2 4

タンパク質配列 :UniProtKB/Swiss-Prot参照番号 : P 0 C G 0 4

&gt;sp|POCG04|LAC1\_HUMAN Ig lambda-1 chain C regions OS=Homo sapiens GN=IGLC1 P

E=1 SV=1

配列番号 1 2 5

50

I T G B 7公式記号 : I T G B 7公式名 : インテグリン , 7遺伝子 I D : 3 6 9 5生物 : ホモ・サピエンス別名 : なし他の表記 : 腸管ホーミング受容体 サブユニット ; インテグリン 7サブユニット ; インテグリン - 7ヌクレオチド配列 :N C B I 参照配列 : N M \_ 0 0 0 8 8 9 . 1遺伝子座 : N M \_ 0 0 0 8 8 9アクセッション : N M \_ 0 0 0 8 8 9バージョン : N M \_ 0 0 0 8 8 9 . 1 G I : 4 5 0 4 7 7 6

配列番号 1 2 6

タンパク質配列 :N C B I 参照配列 : N P \_ 0 0 0 8 8 0 . 1遺伝子座 : N P \_ 0 0 0 8 8 0アクセッション : N P \_ 0 0 0 8 8 0バージョン : N P \_ 0 0 0 8 8 0 . 1 G I : 4 5 0 4 7 7 7

配列番号 1 2 7

10

20

L C P 1公式記号 : L C P 1公式名 : リンパ球サイトゾルタンパク質 1 ( L - プラスチン )遺伝子 I D : 3 9 3 6生物 : ホモ・サピエンス別名 : R P 1 1 - 1 3 9 H 1 4 . 1 , C P 6 4 , L - P L A S T I N , L C 6 4 P , L P L , P L S 2他の表記 : L - プラスチン ( リンパ球サイトゾルタンパク質 1 ) ( L C P - 1 ) ( L C 6 4 P ) ; L C P - 1 ; リンパ球サイトゾルタンパク質 - 1 ( プラスミン ) ; b A 1 3 9 H 1 4 . 1 ( リンパ球サイトゾルタンパク質 1 ( L - プラスチン ) ) ; プラスチン 2 ; プラスチン - 2

30

ヌクレオチド配列 :N C B I 参照配列 : N M \_ 0 0 2 2 9 8 . 4遺伝子座 : N M \_ 0 0 2 2 9 8アクセッション : N M \_ 0 0 2 2 9 8バージョン : N M \_ 0 0 2 2 9 8 . 4 G I : 1 9 5 5 4 6 9 2 3

配列番号 1 2 8

タンパク質配列 :N C B I 参照配列 : N P \_ 0 0 2 2 8 9 . 2遺伝子座 : N P \_ 0 0 2 2 8 9アクセッション : N P \_ 0 0 2 2 8 9バージョン : N P \_ 0 0 2 2 8 9 . 2 G I : 1 6 7 6 1 4 5 0 6

配列番号 1 2 9

40

L E T M 1公式記号 : L E T M 1公式名 : ロイシンジッパー - E F ハンド含有膜貫通タンパク質 1遺伝子 I D : 3 9 5 4生物 : ホモ・サピエンス別名 : なし他の表記 : L E T M 1 および E F ハンドドメイン含有タンパク質 1 , ミトコンドリア ;

50

## M d m 3 8 ホモログ ; ロイシンジッパー - E F ハンド含有膜貫通タンパク質 1

ヌクレオチド配列 :N C B I 参照配列 : N M \_ 0 1 2 3 1 8 . 2遺伝子座 : N M \_ 0 1 2 3 1 8アクセッション : N M \_ 0 1 2 3 1 8バージョン : N M \_ 0 1 2 3 1 8 . 2 G I : 1 9 4 5 9 5 4 9 8

配列番号 1 3 0

タンパク質配列 :N C B I 参照配列 : N P \_ 0 3 6 4 5 0 . 1遺伝子座 : N P \_ 0 3 6 4 5 0アクセッション : N P \_ 0 3 6 4 5 0バージョン : N P \_ 0 3 6 4 5 0 . 1 G I : 6 9 1 2 4 8 2

配列番号 1 3 1

L M N A公式記号 : L M N A公式名 : ラミン A / C遺伝子 ID : 1 5 0 3 3 0生物 : ホモ・サピエンス別名 : R P 1 1 - 5 4 H 1 9 . 1、C D C D 1、C D D C、C M D 1 A、C M T 2 B 1、E M D 2、F P L、F P L D、F P L D 2、H G P S、I D C、L D P 1、L F P、L G M D 1 B、L M N 1、L M N C、L M N L 1、P R O 1他の表記 : 7 0 k D a ラミニン ; ラミン ; ラミン A / C 様 1 ; プレラミン - A / C ; 腎臓癌抗原 N Y - R E N - 3 2ヌクレオチド配列 : 転写変異体 4N C B I 参照配列 : N M \_ 0 0 1 2 5 7 3 7 4 . 1遺伝子座 : N M \_ 0 0 1 2 5 7 3 7 4アクセッション : N M \_ 0 0 1 2 5 7 3 7 4バージョン : N M \_ 0 0 1 2 5 7 3 7 4 . 1 G I : 3 8 3 7 9 2 1 4 9

配列番号 1 3 2

タンパク質配列 : アイソフォーム DN C B I 参照配列 : N P \_ 0 0 1 2 4 4 3 0 3 . 1遺伝子座 : N P \_ 0 0 1 2 4 4 3 0 3アクセッション : N P \_ 0 0 1 2 4 4 3 0 3バージョン : N P \_ 0 0 1 2 4 4 3 0 3 . 1 G I : 3 8 3 7 9 2 1 5 0

配列番号 1 3 3

ヌクレオチド配列 : 転写変異体 2N C B I 参照配列 : N M \_ 0 0 5 5 7 2 . 3遺伝子座 : N M \_ 0 0 5 5 7 2アクセッション : N M \_ 0 0 5 5 7 2バージョン : N M \_ 0 0 5 5 7 2 . 3 G I : 1 5 3 2 8 1 0 9 1

配列番号 1 3 4

タンパク質配列 : アイソフォーム CN C B I 参照配列 : N P \_ 0 0 5 5 6 3 . 1遺伝子座 : N P \_ 0 0 5 5 6 3アクセッション : N P \_ 0 0 5 5 6 3バージョン : N P \_ 0 0 5 5 6 3 . 1 G I : 5 0 3 1 8 7 5

配列番号 1 3 5

ヌクレオチド配列 : 転写変異体 1N C B I 参照配列 : N M \_ 1 7 0 7 0 7 . 3遺伝子座 : M \_ 1 7 0 7 0 7

10

20

30

40

50

アクセッション : NM\_\_170707

バージョン : NM\_\_170707.3 GI : 383792147

配列番号136

タンパク質配列 : アイソフォーム A

NCBI 参照配列 : NP\_\_733821.1

遺伝子座 : NP\_\_733821

アクセッション : NP\_\_733821

バージョン : NP\_\_733821.1 GI : 27436946

配列番号137

ヌクレオチド配列 : 転写変異体 3

NCBI 参照配列 : NM\_\_170708.3

遺伝子座 : NM\_\_170708

アクセッション : NM\_\_170708

バージョン : NM\_\_170708.3 GI : 383792148

配列番号138

タンパク質配列 : アイソフォーム A - 10

NCBI 参照配列 : NP\_\_733822.1

遺伝子座 : NP\_\_733822

アクセッション : NP\_\_733822

バージョン : NP\_\_733822.1 GI : 27436948

配列番号139

10

20

## MGEA5

公式記号 : MGEA5

公式名 : 髄膜腫発現抗原 5 (ヒアルロニダーゼ)

遺伝子 ID : 10724

生物 : ホモ・サピエンス

別名 : MEA5、NCOAT、OGA

他の表記 : O-GlcNAcase ; 二機能性タンパク質 NCOAT ; 髄膜腫のヒアルロニダーゼ ; 髄膜腫発現抗原 5 ; 核細胞質 O-GlcNAcase およびアセチルトランスフェラーゼ

30

ヌクレオチド配列 : 転写変異体 2

NCBI 参照配列 : NM\_\_001142434.1

遺伝子座 : NM\_\_001142434

アクセッション : NM\_\_001142434

バージョン : NM\_\_001142434.1 GI : 215490055

配列番号140

タンパク質配列 : アイソフォーム b

NCBI 参照配列 : NP\_\_001135906.1

遺伝子座 : NP\_\_001135906

アクセッション : NP\_\_001135906

バージョン : NP\_\_001135906.1 GI : 215490056

配列番号141

40

ヌクレオチド配列 : 転写変異体 1

NCBI 参照配列 : NM\_\_012215.3

遺伝子座 : NM\_\_012215

アクセッション : NM\_\_012215

バージョン : NM\_\_012215.3 GI : 215490054

配列番号142

タンパク質配列 : アイソフォーム a

NCBI 参照配列 : NP\_\_036347.1

50

遺伝子座 : NP\_\_036347

アクセッション : NP\_\_036347

バージョン : NP\_\_036347.1 GI : 11024698

配列番号143

#### MTHFD1

公式記号 : MTHFD1

公式名 : メチレンテトラヒドロ葉酸デヒドロゲナーゼ (NADP + 依存性) 1、メチレンテトラヒドロ葉酸シクロヒドロラーゼ、ホルミルテトラヒドロ葉酸シンセターゼ

遺伝子ID : 4522

生物 : ホモ・サピエンス

10

別名 : MTHFC、MTHFD

他の表記 : 5, 10 - メチレンテトラヒドロ葉酸デヒドロゲナーゼ、5, 10 - メチレンテトラヒドロ葉酸シクロヒドロラーゼ、10 - ホルミルテトラヒドロ葉酸シンセターゼ ; C - 1 - テトラヒドロ葉酸シンターゼ, 細胞質 ; C1 - THFシンターゼ ; 細胞質 C - 1 - テトラヒドロ葉酸シンターゼ

ヌクレオチド配列 :

NCBI参照配列 : NM\_\_005956.3

遺伝子座 : NM\_\_005956

アクセッション : NM\_\_005956

バージョン : NM\_\_005956.3 GI : 222136638

20

配列番号144

タンパク質配列 :

NCBI参照配列 : NP\_\_005947.3

遺伝子座 : NP\_\_005947

アクセッション : NP\_\_005947

バージョン : NP\_\_005947.3 GI : 222136639

配列番号145

#### MX1

公式記号 : MX1

公式名 : myxウイルス (インフルエンザウイルス) 耐性1、インターフェロン誘導性タンパク質p78 (マウス)

30

遺伝子ID : 4599

生物 : ホモ・サピエンス

別名 : IFI-78K、IFI78、MX、MxA

他の表記 : インターフェロン誘導性GTP結合タンパク質MX1 ; インターフェロン調節耐性GTP結合タンパク質MxA ; 粘液腫耐性タンパク質1

ヌクレオチド配列 : 転写変異体1

NCBI参照配列 : NM\_\_001144925.1

遺伝子座 : NM\_\_001144925

アクセッション : NM\_\_001144925

バージョン : NM\_\_001144925.1 GI : 222136618

40

配列番号146

タンパク質配列 : 全ての変異体は同じタンパク質をコードする

NCBI参照配列 : NP\_\_001138397.1

遺伝子座 : NP\_\_001138397

アクセッション : NP\_\_001138397

バージョン : NP\_\_001138397.1 GI : 222136619

配列番号147

ヌクレオチド配列 : 転写変異体3

NCBI参照配列 : NM\_\_001178046.1

50

遺伝子座 : NM\_\_001178046

アクセッション : NM\_\_001178046

バージョン : NM\_\_001178046.1 GI : 295842577

配列番号 148

タンパク質配列 : 全ての変異体は同じタンパク質をコードする

NCBI参照配列 : NP\_\_001171517.1

遺伝子座 : NP\_\_001171517

アクセッション : NP\_\_001171517

バージョン : NP\_\_001171517.1 GI : 295842578

配列番号 149

10

ヌクレオチド配列 : 転写変異体 2

NCBI参照配列 : NM\_\_002462.3

遺伝子座 : NM\_\_002462

アクセッション : NM\_\_002462

バージョン : NM\_\_002462.3 GI : 222136616

配列番号 150

タンパク質配列 : 全ての変異体は同じタンパク質をコードする

NCBI参照配列 : NP\_\_002453.2

遺伝子座 : NP\_\_002453

アクセッション : NP\_\_002453

バージョン : NP\_\_002453.2 GI : 222136617

配列番号 151

20

#### OSBP

公式記号 : OSBP

公式名 : オキシステロール結合タンパク質

遺伝子ID : 5007

生物 : ホモ・サピエンス

別名 : OSBP1

他の表記 : オキシステロール結合タンパク質 1

ヌクレオチド配列 :

NCBI参照配列 : NM\_\_002556.2

遺伝子座 : NM\_\_002556

アクセッション : NM\_\_002556

バージョン : NM\_\_002556.2 GI : 34485728

配列番号 152

30

タンパク質配列 :

NCBI参照配列 : NP\_\_002547.1

遺伝子座 : NP\_\_002547

アクセッション : NP\_\_002547

バージョン : NP\_\_002547.1 GI : 4505531

配列番号 153

40

#### P4HB

公式記号 : P4HB

公式名 : プロリル 4 - ヒドロキシラーゼ , ポリペプチド

遺伝子ID : 5034

生物 : ホモ・サピエンス

別名 : DSI、ERBA2L、GIT、P4H、PDI、PDIA1、PHDB、P

O4DB、PO4HB、PROHB

他の表記 : 細胞甲状腺ホルモン結合タンパク質 ; コラーゲンプロリル 4 - ヒドロキシラーゼ ; グルタチオン - インスリントランスヒドロゲナーゼ ; p55 ; プロコラーゲン -

50

プロリン, 2 - オキソグルタル酸 4 - ジオキシゲナーゼ (プロリン 4 - ヒドロキシラーゼ), ポリペプチド; プロリル 4 - ヒドロキシラーゼサブユニット; タンパク質ジスルフィドイソメラーゼファミリー A, メンバー 1; タンパク質ジスルフィドイソメラーゼ関連 1; タンパク質ジスルフィドイソメラーゼ/オキシドレダクターゼ; タンパク質ジスルフィドイソメラーゼ; プロトコラーゲンヒドロキシラーゼ; 甲状腺ホルモン結合タンパク質 p 5 5

ヌクレオチド配列:

N C B I 参照配列: NM\_\_000918.3

遺伝子座: NM\_\_000918

アクセッション: NM\_\_000918

バージョン: NM\_\_000918.3 GI: 121256637

配列番号 154

タンパク質配列:

N C B I 参照配列: NP\_\_000909.2

遺伝子座: NP\_\_000909

アクセッション: NP\_\_000909

バージョン: NP\_\_000909.2 GI: 20070125

配列番号 155

P C N A

公式記号: P C N A

公式名: 増殖細胞核抗原

遺伝子 ID: 5111

生物: ホモ・サピエンス

別名: なし

他の表記: D N A ポリメラーゼ 補助タンパク質; サイクリン

ヌクレオチド配列: 転写変異体 1

N C B I 参照配列: NM\_\_002592.2

遺伝子座: NM\_\_002592

アクセッション: NM\_\_002592

バージョン: NM\_\_002592.2 GI: 33239449

配列番号 156

タンパク質配列: 両変異体は同じタンパク質をコードする

N C B I 参照配列: NP\_\_002583.1

遺伝子座: NP\_\_002583

アクセッション: NP\_\_002583

バージョン: NP\_\_002583.1 GI: 4505641

配列番号 157

ヌクレオチド配列: 転写変異体 2

N C B I 参照配列: NM\_\_182649.1

遺伝子座: NM\_\_182649

アクセッション: NM\_\_182649

バージョン: NM\_\_182649.1 GI: 33239450

配列番号 158

タンパク質配列: 両変異体は同じタンパク質をコードする

N C B I 参照配列: NP\_\_872590.1

遺伝子座: NP\_\_872590

アクセッション: NP\_\_872590

バージョン: NP\_\_872590.1 GI: 33239451

配列番号 159

P D C L 3

10

20

30

40

50

公式記号 : P D C L 3

公式名 : フォスデューシン様 3

遺伝子 I D : 7 9 0 3 1

生物 : ホモ・サピエンス

別名 : H T P H L P、P H L P 2 A、P H L P 3、V I A F、V I A F 1

他の表記 : I A P 関連因子 V I A F 1 ; V I A F - 1 ; p h P L 3 ; フォスデューシン様タンパク質 3 ; ウイルス I A P 関連因子 1

ヌクレオチド配列 :

N C B I 参照配列 : N M \_ 0 2 4 0 6 5 . 4

遺伝子座 : N M \_ 0 2 4 0 6 5

アクセッション : N M \_ 0 2 4 0 6 5

バージョン : N M \_ 0 2 4 0 6 5 . 4 G I : 1 6 3 3 1 0 7 6 1

配列番号 1 6 0

タンパク質配列 :

N C B I 参照配列 : N P \_ 0 7 6 9 7 0 . 1

遺伝子座 : N P \_ 0 7 6 9 7 0

アクセッション : N P \_ 0 7 6 9 7 0

バージョン : N P \_ 0 7 6 9 7 0 . 1 G I : 1 3 1 2 9 0 4 4

配列番号 1 6 1

#### P D I A 4

公式記号 : P D I A 4

公式名 : タンパク質ジスルフィドイソメラーゼファミリー A , メンバー 4

遺伝子 I D : 9 6 0 1

生物 : ホモ・サピエンス

別名 : E R P 7 0、E R P 7 2、E R p - 7 2

他の表記 : E R タンパク質 7 0 ; E R タンパク質 7 2 ; 小胞体内在性タンパク質 7 0 ; 小胞体内在性タンパク質 7 2 ; タンパク質ジスルフィドイソメラーゼ関連タンパク質 ( カルシウム結合タンパク質 , 腸管関連 ) ; タンパク質ジスルフィドイソメラーゼ関連 4 ; タンパク質ジスルフィドイソメラーゼ A 4

ヌクレオチド配列 :

N C B I 参照配列 : N M \_ 0 0 4 9 1 1 . 4

遺伝子座 : N M \_ 0 0 4 9 1 1

アクセッション : N M \_ 0 0 4 9 1 1

バージョン : N M \_ 0 0 4 9 1 1 . 4 G I : 1 5 7 4 2 7 6 7 6

配列番号 1 6 2

タンパク質配列 :

N C B I 参照配列 : N P \_ 0 0 4 9 0 2 . 1

遺伝子座 : N P \_ 0 0 4 9 0 2

アクセッション : N P \_ 0 0 4 9 0 2

バージョン : N P \_ 0 0 4 9 0 2 . 1 G I : 4 7 5 8 3 0 4

配列番号 1 6 3

#### P E A 1 5

公式記号 : E A 1 5

公式名 : 星状細胞に豊富なリンタンパク質 1 5

遺伝子 I D : 8 6 8 2

生物 : ホモ・サピエンス

別名 : R P 1 1 - 5 3 6 C 5 . 8、H M A T 1、H U M M A T 1 H、M A T 1、M A T 1 H、P E A - 1 5、P E D

他の表記 : 星状細胞に豊富な 1 5 k D a リンタンパク質 ; 星状細胞に豊富なリンタンパク質 , 1 5 k D ; 星状細胞リンタンパク質 P E A - 1 5 ; マウス M A T - 1 癌遺伝子のホ

10

20

30

40

50

モログ；糖尿病において豊富なリンタンパク質

ヌクレオチド配列：

N C B I 参照配列：NM\_\_003768.3

遺伝子座：NM\_\_003768

アクセッション：NM\_\_003768 NM\_\_013287

バージョン：NM\_\_003768.3 GI：208431812

配列番号164

タンパク質配列：

N C B I 参照配列：NP\_\_003759.1

遺伝子座：NP\_\_003759

アクセッション：NP\_\_003759 NP\_\_037419

バージョン：NP\_\_003759.1 GI：4505705

配列番号165

P S M A 2

公式記号：P S M A 2

公式名：プロテアソーム（プロソーム、マクロペイン）サブユニット， 型， 2

遺伝子ID：5683

生物：ホモ・サピエンス

別名：H C 3、M U、P M S A 2、P S C 2

他の表記：マクロペインサブユニットC3；多触媒性エンドペプチダーゼ複合体サブユニットC3；プロテアソーム成分C3；プロテアソームサブユニットH C 3；プロテアソームサブユニット 2型

ヌクレオチド配列：

N C B I 参照配列：NM\_\_002787.4

遺伝子座：NM\_\_002787

アクセッション：NM\_\_002787

バージョン：NM\_\_002787.4 GI：156071494

配列番号166

タンパク質配列：

N C B I 参照配列：NP\_\_002778.1

遺伝子座：NP\_\_002778

アクセッション：NP\_\_002778

バージョン：NP\_\_002778.1 GI：4506181

配列番号167

P S M E 1

公式記号：P S M E 1

公式名：プロテアソーム（プロソーム、マクロペイン）アクチベーターサブユニット1（P A 2 8）

遺伝子ID：5720

生物：ホモ・サピエンス

別名：I F I 5 1 1 1、P A 2 8 A、P A 2 8、R E G

他の表記：11Sレギュレーター複合体サブユニット；11Sレギュレーター複合体サブユニット；29kD MCPアクチベーターサブユニット；IGUP I - 5111；REG -；多触媒性プロテアーゼサブユニット1のアクチベーター；インターフェロン アップレギュレーションI - 5111タンパク質；インターフェロン - I E F S S P 5111；インターフェロン - 誘導性タンパク質5111；プロテアソームアクチベーター28サブユニット；プロテアソームアクチベーター複合体サブユニット1；プロテアソームアクチベーターサブユニット - 1

ヌクレオチド配列：転写変異体1

N C B I 参照配列：NM\_\_006263.2

10

20

30

40

50

遺伝子座 : NM\_\_006263

アクセッション : NM\_\_006263

バージョン : NM\_\_006263.2 GI : 30581139

列番号168

タンパク質配列 : アイソフォーム1

NCBI参照配列 : NP\_\_006254.1

遺伝子座 : NP\_\_006254

アクセッション : NP\_\_006254

バージョン : NP\_\_006254.1 GI : 5453990

配列番号169

10

ヌクレオチド配列 : 転写変異体2

NCBI参照配列 : NM\_\_176783.1

遺伝子座 : NM\_\_176783

アクセッション : NM\_\_176783

バージョン : NM\_\_176783.1 GI : 30581140

列番号170

タンパク質配列 : アイソフォーム2

NCBI参照配列 : NP\_\_788955.1

遺伝子座 : NP\_\_788955

アクセッション : NP\_\_788955

バージョン : NP\_\_788955.1 GI : 30581141

列番号171

20

#### P D I A 4

公式記号 : R P L 1 3

公式名 : リボゾームタンパク質L13

遺伝子ID : 6137

生物 : ホモ・サピエンス

別名 : OK / SW - c 1 . 4 6、BBC1、D16S444E、D16S44E、L1

3

他の表記 : 60Sリボゾームタンパク質L13 ; OK / SW - c 1 . 4 6 ; 乳房塩基性保存タンパク質1

30

ヌクレオチド配列 : 転写変異体1

NCBI参照配列 : NM\_\_000977.3

遺伝子座 : NM\_\_000977

アクセッション : NM\_\_000977

バージョン : NM\_\_000977.3 GI : 341604764

列番号172

タンパク質配列 : アイソフォーム1

NCBI参照配列 : NP\_\_000968.2

遺伝子座 : NP\_\_000968

アクセッション : NP\_\_000968

バージョン : NP\_\_000968.2 GI : 15431297

配列番号173

40

ヌクレオチド配列 : 転写変異体3

NCBI参照配列 : NM\_\_001243130.1

遺伝子座 : NM\_\_001243130

アクセッション : NM\_\_001243130

バージョン : NM\_\_001243130.1 GI : 341604767

配列番号174

タンパク質配列 : アイソフォーム2

50

N C B I 参照配列 : N P \_ 0 0 1 2 3 0 0 5 9 . 1

遺伝子座 : N P \_ 0 0 1 2 3 0 0 5 9

アクセッション : N P \_ 0 0 1 2 3 0 0 5 9

バージョン : N P \_ 0 0 1 2 3 0 0 5 9 . 1 G I : 3 4 1 6 0 4 7 6 8

配列番号 1 7 5

ヌクレオチド配列 : 転写変異体 4

N C B I 参照配列 : N M \_ 0 0 1 2 4 3 1 3 1 . 1

遺伝子座 : N M \_ 0 0 1 2 4 3 1 3 1

アクセッション : N M \_ 0 0 1 2 4 3 1 3 1

バージョン : N M \_ 0 0 1 2 4 3 1 3 1 . 1 G I : 3 4 1 6 0 4 7 6 9

配列番号 1 7 6

タンパク質配列 : アイソフォーム 3

N C B I 参照配列 : N P \_ 0 0 1 2 3 0 0 6 0 . 1

遺伝子座 : N P \_ 0 0 1 2 3 0 0 6 0

アクセッション : N P \_ 0 0 1 2 3 0 0 6 0

バージョン : N P \_ 0 0 1 2 3 0 0 6 0 . 1 G I : 3 4 1 6 0 4 7 7 0

配列番号 1 7 7

ヌクレオチド配列 : 転写変異体 2

N C B I 参照配列 : N M \_ 0 3 3 2 5 1 . 2

遺伝子座 : N M \_ 0 3 3 2 5 1

アクセッション : N M \_ 0 3 3 2 5 1

バージョン : N M \_ 0 3 3 2 5 1 . 2 G I : 3 4 1 6 0 4 7 6 6

配列番号 1 7 8

タンパク質配列 : アイソフォーム 1

N C B I 参照配列 : N P \_ 1 5 0 2 5 4 . 1

遺伝子座 : N P \_ 1 5 0 2 5 4

アクセッション : N P \_ 1 5 0 2 5 4

バージョン : N P \_ 1 5 0 2 5 4 . 1 G I : 1 5 4 3 1 2 9 5

配列番号 1 7 9

## R P S 1 5

公式記号 : R P S 1 5

公式名 : リボゾームタンパク質 S 1 5

遺伝子 I D : 6 2 0 9

生物 : ホモ・サピエンス

別名 : R I G、S 1 5

他の表記 : 4 0 S リボゾームタンパク質 S 1 5 ; ラットインスリノーマのホモログ ; インスリノーマタンパク質

ヌクレオチド配列 :

N C B I 参照配列 : N M \_ 0 0 1 0 1 8 . 3

遺伝子座 : N M \_ 0 0 1 0 1 8

アクセッション : N M \_ 0 0 1 0 1 8 N M \_ 0 0 1 0 8 0 8 3 1

バージョン : N M \_ 0 0 1 0 1 8 . 3 G I : 7 1 2 8 4 4 3 0

配列番号 1 8 0

タンパク質配列 :

N C B I 参照配列 : N P \_ 0 0 1 0 0 9 . 1

遺伝子座 : N P \_ 0 0 1 0 0 9

アクセッション : N P \_ 0 0 1 0 0 9 N P \_ 0 0 1 0 7 4 3 0 0

バージョン : N P \_ 0 0 1 0 0 9 . 1 G I : 4 5 0 6 6 8 7

配列番号 1 8 1

## S E C 6 1 A 1

10

20

30

40

50

公式記号 : S E C 6 1 A 1

公式名 : S e c 6 1 1 サブユニット ( S . セレビスイエ (cerevisiae) )

遺伝子ID : 2 9 9 2 7

生物 : ホモ・サピエンス

別名 : H S E C 6 1、S E C 6 1、S E C 6 1 A

他の表記 : S e c 6 1 - 1 ; タンパク質輸送プロテイン S E C 6 1 サブユニット ; タンパク質輸送タンパク質 S e c 6 1 サブユニット ; タンパク質輸送タンパク質 S e c 6 1 サブユニット アイソフォーム 1 ; s e c 6 1 ホモログ

ヌクレオチド配列 :

N C B I 参照配列 : N M \_ 0 1 3 3 3 6 . 3

遺伝子座 : N M \_ 0 1 3 3 3 6

アクセッション : N M \_ 0 1 3 3 3 6 N M \_ 0 1 5 9 6 8

バージョン : N M \_ 0 1 3 3 3 6 . 3 G I : 6 0 2 1 8 9 1 1

配列番号 1 8 2

タンパク質配列 :

N C B I 参照配列 : N P \_ 0 3 7 4 6 8 . 1

遺伝子座 : N P \_ 0 3 7 4 6 8

アクセッション : N P \_ 0 3 7 4 6 8 N P \_ 0 5 7 0 5 2

バージョン : N P \_ 0 3 7 4 6 8 . 1 G I : 7 0 1 9 4 1 5

配列番号 1 8 3

10

20

## S E P T 2

公式記号 : S E P T 2

公式名 : セプチン 2

遺伝子ID : 4 7 3 5

生物 : ホモ・サピエンス

別名 : D I F F 6、N E D D 5、P n u t 1 3、h N e d d 5

他の表記 : N E D D - 5 ; 神経系前駆細胞発達ダウンレギュレーションタンパク質 5 ( n e u r a l p r e c u r s o r c e l l e x p r e s s e d d e v e l o p m e n t a l l y d o w n - r e g u l a t e d p r o t e i n 5 ) ; 神経系前駆細胞発現 , 発達ダウンレギュレーション 5 ; セプチン - 2

ヌクレオチド配列 : 転写変異体 1

N C B I 参照配列 : N M \_ 0 0 1 0 0 8 4 9 1 . 1

遺伝子座 : N M \_ 0 0 1 0 0 8 4 9 1

アクセッション : N M \_ 0 0 1 0 0 8 4 9 1

バージョン : N M \_ 0 0 1 0 0 8 4 9 1 . 1 G I : 5 6 5 4 9 6 3 5

配列番号 1 8 4

タンパク質配列 :

N C B I 参照配列 : N P \_ 0 0 1 0 0 8 4 9 1 . 1

遺伝子座 : N P \_ 0 0 1 0 0 8 4 9 1

アクセッション : N P \_ 0 0 1 0 0 8 4 9 1

バージョン : N P \_ 0 0 1 0 0 8 4 9 1 . 1 G I : 5 6 5 4 9 6 3 6

配列番号 1 8 5

ヌクレオチド配列 : 転写変異体 3

N C B I 参照配列 : N M \_ 0 0 1 0 0 8 4 9 2 . 1

遺伝子座 : N M \_ 0 0 1 0 0 8 4 9 2

アクセッション : N M \_ 0 0 1 0 0 8 4 9 2

バージョン : N M \_ 0 0 1 0 0 8 4 9 2 . 1 G I : 5 6 5 4 9 6 3 7

配列番号 1 8 6

タンパク質配列 :

N C B I 参照配列 : N P \_ 0 0 1 0 0 8 4 9 2 . 1

遺伝子座 : N P \_ 0 0 1 0 0 8 4 9 2

30

40

50

アクセッション : NP\_\_001008492

バージョン : NP\_\_001008492.1 GI : 56549638

配列番号187

ヌクレオチド配列 : 転写変異体4

NCBI参照配列 : NM\_\_004404.3

遺伝子座 : NM\_\_004404

アクセッション : NM\_\_004404

バージョン : NM\_\_004404.3 GI : 56550108

配列番号188

タンパク質配列 :

NCBI参照配列 : NP\_\_004395.1

遺伝子座 : NP\_\_004395

アクセッション : NP\_\_004395

バージョン : NP\_\_004395.1 GI : 4758158

配列番号189

ヌクレオチド配列 : 転写変異体2

NCBI参照配列 : NM\_\_006155.1

遺伝子座 : NM\_\_006155

アクセッション : NM\_\_006155

バージョン : NM\_\_006155.1 GI : 56549639

配列番号190

タンパク質配列 :

NCBI参照配列 : NP\_\_006146.1

遺伝子座 : NP\_\_006146

アクセッション : NP\_\_006146

バージョン : NP\_\_006146.1 GI : 56549640

配列番号191

#### S E R P I N B 9

公式記号 : S E R P I N B 9

公式名 : セルピンペプチダーゼ阻害剤, クレードB (オボアルブミン), メンバー9

遺伝子ID : 5272

生物 : ホモ・サピエンス

別名 : CAP-3、CAP3、PI-9、PI9

他の表記 : 細胞質抗プロテイナーゼ3 ; ペプチダーゼ阻害剤9 ; プロテアーゼ阻害剤9 (オボアルブミン型) ; セリン (またはシステイン) プロテイナーゼ阻害剤, クレードB (オボアルブミン), メンバー9 ; セルピンB9 ; セルピンペプチダーゼ阻害剤, クレードB, メンバー9

ヌクレオチド配列 :

NCBI参照配列 : NM\_\_004155.5

遺伝子座 : NM\_\_004155

アクセッション : NM\_\_004155

バージョン : NM\_\_004155.5 GI : 380254460

配列番号192

タンパク質配列 :

NCBI参照配列 : NP\_\_004146.1

遺伝子座 : NP\_\_004146

アクセッション : NP\_\_004146

バージョン : NP\_\_004146.1 GI : 4758906

配列番号193

#### S M C 4

10

20

30

40

50

公式記号 : S M C 4

公式名 : 染色体 4 構造維持 (structural maintenance of chromosomes 4)

遺伝子 ID : 1 0 0 5 1

生物 : ホモ・サピエンス

別名 : C A P - C、C A P C、S M C - 4、S M C 4 L 1、h C A P - C

他の表記 : S M C タンパク質 4 ; S M C 4 染色体 4 構造維持様 1 (SMC4 structural maintenance of chromosomes 4-like 1) ; X C A P - C ホモログ ; 染色体関連ポリペプチド C ; 染色体構造維持タンパク質 4 (structural maintenance of chromosomes protein 4)

ヌクレオチド配列 : 転写変異体 2

N C B I 参照配列 : N M \_ 0 0 1 0 0 2 8 0 0 . 1

10

遺伝子座 : N M \_ 0 0 1 0 0 2 8 0 0

アクセッション : N M \_ 0 0 1 0 0 2 8 0 0

バージョン : N M \_ 0 0 1 0 0 2 8 0 0 . 1 G I : 5 0 6 5 8 0 6 2

配列番号 1 9 4

タンパク質配列 :

N C B I 参照配列 : N P \_ 0 0 1 0 0 2 8 0 0 . 1

遺伝子座 : N P \_ 0 0 1 0 0 2 8 0 0

アクセッション : N P \_ 0 0 1 0 0 2 8 0 0

バージョン : N P \_ 0 0 1 0 0 2 8 0 0 . 1 G I : 5 0 6 5 8 0 6 3

配列番号 1 9 5

20

ヌクレオチド配列 : 転写変異体 1

N C B I 参照配列 : N M \_ 0 0 5 4 9 6 . 3

遺伝子座 : N M \_ 0 0 5 4 9 6

アクセッション : N M \_ 0 0 5 4 9 6

バージョン : N M \_ 0 0 5 4 9 6 . 3 G I : 5 0 6 5 8 0 6 4

配列番号 1 9 6

タンパク質配列 :

N C B I 参照配列 : N P \_ 0 0 5 4 8 7 . 3

遺伝子座 : N P \_ 0 0 5 4 8 7

アクセッション : N P \_ 0 0 5 4 8 7

バージョン : N P \_ 0 0 5 4 8 7 . 3 G I : 5 0 6 5 8 0 6 5

配列番号 1 9 7

30

## S P T A N 1

公式記号 : S P T A N 1

公式名 : スペクトリン , , 非赤血球 1

遺伝子 ID : 6 7 0 9

生物 : ホモ・サピエンス

別名 : E I E E 5、N E A S、S P T A 2

他の表記 : - I I スペクトリン ; - フォドリン ; フォドリン 鎖 ; スペクトリン 鎖 , 非赤血球 1 ; スペクトリン , 非赤血球 鎖 ; スペクトリン , 非赤血球 サブユニット

40

ヌクレオチド配列 : 転写変異体 1

N C B I 参照配列 : N M \_ 0 0 1 1 3 0 4 3 8 . 2

遺伝子座 : N M \_ 0 0 1 1 3 0 4 3 8

アクセッション : N M \_ 0 0 1 1 3 0 4 3 8

バージョン : N M \_ 0 0 1 1 3 0 4 3 8 . 2 G I : 3 0 6 9 6 6 1 3 0

配列番号 1 9 8

タンパク質配列 : アイソフォーム 1

N C B I 参照配列 : N P \_ 0 0 1 1 2 3 9 1 0 . 1

遺伝子座 : N P \_ 0 0 1 1 2 3 9 1 0

アクセッション : N P \_ 0 0 1 1 2 3 9 1 0

50

バージョン : NP\_\_001123910.1 GI : 194595509  
配列番号 199

ヌクレオチド配列 : 転写変異体 3

NCBI参照配列 : NM\_\_001195532.1

遺伝子座 : NM\_\_001195532

アクセッション : NM\_\_001195532

バージョン : NM\_\_001195532.1 GI : 306966131

配列番号 200

タンパク質配列 : アイソフォーム 3

NCBI参照配列 : NP\_\_001182461.1

遺伝子座 : NP\_\_001182461

アクセッション : NP\_\_001182461

バージョン : NP\_\_001182461.1 GI : 306966132

配列番号 201

10

ヌクレオチド配列 : 転写変異体 2

NCBI参照配列 : NM\_\_003127.3

遺伝子座 : NM\_\_003127

アクセッション : NM\_\_003127

バージョン : NM\_\_003127.3 GI : 306966129

配列番号 202

20

タンパク質配列 : アイソフォーム 2

NCBI参照配列 : NP\_\_003118.2

遺伝子座 : NP\_\_003118

アクセッション : NP\_\_003118

バージョン : NP\_\_003118.2 GI : 154759259

配列番号 203

## S T X 6

公式記号 : S T X 6

公式名 : シンタキシン 6

遺伝子ID : 10228

生物 : ホモ・サピエンス

別名 : N / A

他の表記 : n t a x i n - 6

ヌクレオチド配列 :

NCBI参照配列 : NM\_\_005819.4

遺伝子座 : NM\_\_005819

アクセッション : NM\_\_005819

バージョン : NM\_\_005819.4 GI : 58294156

配列番号 204

タンパク質配列 :

NCBI参照配列 : NP\_\_005810.1

遺伝子座 : NP\_\_005810

アクセッション : NP\_\_005810

バージョン : NP\_\_005810.1 GI : 5032131

配列番号 205

40

## T J P 2

公式記号 : T J P 2

公式名 : タイトジャンクション構成タンパク質 2

遺伝子ID : 9414

生物 : ホモ・サピエンス

50

別名：R P 1 1 - 1 6 N 1 0 . 1、C 9 D U P q 2 1 . 1 1、D F N A 5 1、D U P 9 q 2 1 . 1 1、X 1 0 4、Z O 2

他の表記：フリードライヒ運動失調症領域遺伝子(Friedreich ataxia region gene) X 1 0 4 (タイトジャンクション構成タンパク質 Z O - 2) ; タイトジャンクション構成タンパク質 Z O - 2 ; 閉鎖帯(zona occludens) 2 ; 閉鎖帯(zonula occludens)タンパク質 2

ヌクレオチド配列：転写変異体 5

N C B I 参照配列：N M \_ 0 0 1 1 7 0 4 1 4 . 2

遺伝子座：N M \_ 0 0 1 1 7 0 4 1 4

アクセッション：N M \_ 0 0 1 1 7 0 4 1 4

バージョン：N M \_ 0 0 1 1 7 0 4 1 4 . 2 G I : 3 5 8 6 7 9 2 9 3

配列番号 2 0 6

タンパク質配列：アイソフォーム 5

N C B I 参照配列：N P \_ 0 0 1 1 6 3 8 8 5 . 1

遺伝子座：N P \_ 0 0 1 1 6 3 8 8 5

アクセッション：N P \_ 0 0 1 1 6 3 8 8 5

バージョン：N P \_ 0 0 1 1 6 3 8 8 5 . 1 G I : 2 8 2 1 6 5 8 0 0

配列番号 2 0 7

ヌクレオチド配列：転写変異体 4

N C B I 参照配列：N M \_ 0 0 1 1 7 0 4 1 5 . 1

遺伝子座：N M \_ 0 0 1 1 7 0 4 1 5

アクセッション：N M \_ 0 0 1 1 7 0 4 1 5

バージョン：N M \_ 0 0 1 1 7 0 4 1 5 . 1 G I : 2 8 2 1 6 5 8 0 3

配列番号 2 0 8

タンパク質配列：アイソフォーム 4

N C B I 参照配列：N P \_ 0 0 1 1 6 3 8 8 6 . 1

遺伝子座：N P \_ 0 0 1 1 6 3 8 8 6

アクセッション：N P \_ 0 0 1 1 6 3 8 8 6

バージョン：N P \_ 0 0 1 1 6 3 8 8 6 . 1 G I : 2 8 2 1 6 5 8 0 4

配列番号 2 0 9

ヌクレオチド配列：転写変異体 3

N C B I 参照配列：N M \_ 0 0 1 1 7 0 4 1 6 . 1

遺伝子座：N M \_ 0 0 1 1 7 0 4 1 6

アクセッション：N M \_ 0 0 1 1 7 0 4 1 6

バージョン：N M \_ 0 0 1 1 7 0 4 1 6 . 1 G I : 2 8 2 1 6 5 8 0 9

配列番号 2 1 0

タンパク質配列：アイソフォーム 3

N C B I 参照配列：N P \_ 0 0 1 1 6 3 8 8 7 . 1

遺伝子座：N P \_ 0 0 1 1 6 3 8 8 7

アクセッション：N P \_ 0 0 1 1 6 3 8 8 7

バージョン：N P \_ 0 0 1 1 6 3 8 8 7 . 1 G I : 2 8 2 1 6 5 8 1 0

配列番号 2 1 1

ヌクレオチド配列：転写変異体 6

N C B I 参照配列：N M \_ 0 0 1 1 7 0 6 3 0 . 1

遺伝子座：N M \_ 0 0 1 1 7 0 6 3 0

アクセッション：N M \_ 0 0 1 1 7 0 6 3 0

バージョン：N M \_ 0 0 1 1 7 0 6 3 0 . 1 G I : 2 8 2 1 6 5 7 0 5

配列番号 2 1 2

タンパク質配列：アイソフォーム 6

N C B I 参照配列：N P \_ 0 0 1 1 6 4 1 0 1 . 1

遺伝子座：N P \_ 0 0 1 1 6 4 1 0 1

10

20

30

40

50

アクセッション : NP\_\_001164101

バージョン : NP\_\_001164101.1 GI : 282165706

配列番号 213

ヌクレオチド配列 : 転写変異体 1

NCBI 参照配列 : NM\_\_004817.3

遺伝子座 : NM\_\_004817

アクセッション : NM\_\_004817

バージョン : NM\_\_004817.3 GI : 282165795

配列番号 214

タンパク質配列 : アイソフォーム 1

NCBI 参照配列 : NP\_\_004808.2

遺伝子座 : NP\_\_004808

アクセッション : NP\_\_004808

バージョン : NP\_\_004808.2 GI : 42518070

配列番号 215

ヌクレオチド配列 : 転写変異体 2

NCBI 参照配列 : NM\_\_201629.3

遺伝子座 : NM\_\_201629

アクセッション : NM\_\_201629

バージョン : NM\_\_201629.3 GI : 318067950

配列番号 216

タンパク質配列 : アイソフォーム 2

NCBI 参照配列 : NP\_\_963923.1

遺伝子座 : NP\_\_963923

アクセッション : NP\_\_963923

バージョン : NP\_\_963923.1 GI : 42518065

配列番号 217

#### T P M 4

公式記号 : T P M 4

公式名 : トロポミオシン 4

遺伝子 ID : 7171

生物 : ホモ・サピエンス

別名 : N / A

他の表記 : T M 3 0 p 1 ; トロポミオシン - 4 鎖 ; トロポミオシン - 4

ヌクレオチド配列 : 転写変異体 1

NCBI 参照配列 : NM\_\_001145160.1

遺伝子座 : NM\_\_001145160

アクセッション : NM\_\_001145160

バージョン : NM\_\_001145160.1 GI : 223555974

配列番号 218

タンパク質配列 : アイソフォーム 1

NCBI 参照配列 : NP\_\_001138632.1

遺伝子座 : NP\_\_001138632

アクセッション : NP\_\_001138632

バージョン : NP\_\_001138632.1 GI : 223555975

配列番号 219

ヌクレオチド配列 : 転写変異体 2

NCBI 参照配列 : NM\_\_003290.2

遺伝子座 : NM\_\_003290

アクセッション : NM\_\_003290

10

20

30

40

50

バージョン : NM\_\_003290.2 GI : 223555973

配列番号 220

タンパク質配列 : アイソフォーム 2

NCBI参照配列 : NP\_\_003281.1

遺伝子座 : NP\_\_003281

アクセッション : NP\_\_003281

バージョン : NP\_\_003281.1 GI : 4507651

配列番号 221

#### T S N

公式記号 : T S N

公式名 : トランスリン

遺伝子ID : 7247

生物 : ホモ・サピエンス

別名 : B C L F - 1、C 3 P O、R C H F 1、R E H F - 1、T B R B P、T R S L N

他の表記 : R I S C のプロモーターの成分 3 ; 組換えホットスポット関連因子 ; 組換えホットスポット結合タンパク質 ; 精巣脳 RNA 結合タンパク質

ヌクレオチド配列 : 転写変異体 2

NCBI参照配列 : NM\_\_001261401.1

遺伝子座 : NM\_\_001261401

アクセッション : NM\_\_001261401

バージョン : NM\_\_001261401.1 GI : 386869379

配列番号 222

タンパク質配列 : アイソフォーム 2

NCBI参照配列 : NP\_\_001248330.1

遺伝子座 : NP\_\_001248330

アクセッション : NP\_\_001248330

バージョン : NP\_\_001248330.1 GI : 386869380

配列番号 223

ヌクレオチド配列 : 転写変異体 1

NCBI参照配列 : NM\_\_004622.2

遺伝子座 : NM\_\_004622

アクセッション : NM\_\_004622

バージョン : NM\_\_004622.2 GI : 20302160

配列番号 224

タンパク質配列 : アイソフォーム 1

NCBI参照配列 : NP\_\_004613.1

遺伝子座 : NP\_\_004613

アクセッション : NP\_\_004613

バージョン : NP\_\_004613.1 GI : 4759270

配列番号 225

#### T U B A 4 A

公式記号 : T U B A 4 A

公式名 : チューブリン , 4 a

遺伝子ID : 7277

生物 : ホモ・サピエンス

別名 : H 2 - A L P H A、T U B A 1

他の表記 : チューブリン H 2 - ; チューブリン - 1 鎖 ; チューブリン - 4 A 鎖 ; チューブリン , 1 ( 精巣特異性 )

ヌクレオチド配列 :

NCBI参照配列 : NM\_\_006000.1

10

20

30

40

50

遺伝子座 : NM\_\_006000

アクセッション : NM\_\_006000

バージョン : NM\_\_006000.1 GI : 17921988

配列番号 226

タンパク質配列 :

N C B I 参照配列 : NP\_\_005991.1

遺伝子座 : NP\_\_005991

アクセッション : NP\_\_005991

バージョン : NP\_\_005991.1 GI : 17921989

配列番号 227

10

T X N D C 5

公式記号 : T X N D C 5

公式名 : チオレドキシンドメイン含有5 (小胞体)

遺伝子 ID : 81567

生物 : ホモ・サピエンス

別名 : RP1-126E20.1、ENDOPDI、ERP46、HCC-2、PDI A15、STRF8、UNQ364

他の表記 : ERタンパク質46 ; 小胞体タンパク質ERp46 ; 小胞体内在性タンパク質46 ; 内皮性タンパク質ジスルフィドイソメラーゼ ; タンパク質ジスルフィドイソメラーゼファミリーA, メンバー15 ; チオレドキシンドメイン含有タンパク質5 ; チオレドキシ関連タンパク質 ; チオレドキシ様タンパク質p46

20

ヌクレオチド配列 : 転写変異体3

N C B I 参照配列 : NM\_\_001145549.2

遺伝子座 : NM\_\_001145549

アクセッション : NM\_\_001145549

バージョン : NM\_\_001145549.2 GI : 313482855

配列番号 228

タンパク質配列 : アイソフォーム3

N C B I 参照配列 : NP\_\_001139021.1

遺伝子座 : NP\_\_001139021

アクセッション : NP\_\_001139021

バージョン : NP\_\_001139021.1 GI : 224493972

配列番号 229

30

ヌクレオチド配列 : 転写変異体1

N C B I 参照配列 : NM\_\_030810.3

遺伝子座 : NM\_\_030810

アクセッション : NM\_\_030810

バージョン : NM\_\_030810.3 GI : 313482856

配列番号 230

タンパク質配列 : アイソフォーム1前駆体

40

N C B I 参照配列 : NP\_\_110437.2

遺伝子座 : NP\_\_110437

アクセッション : NP\_\_110437

バージョン : NP\_\_110437.2 GI : 42794771

配列番号 231

T X N L 1

公式記号 : T X N L 1

公式名 : チオレドキシ様1

遺伝子 ID : 9352

生物 : ホモ・サピエンス

50

別名：TRP32、TXL-1、TXNL、Tx1

他の表記：32kDaチオレドキシン関連タンパク質；チオレドキシン様タンパク質  
1；チオレドキシン関連32kDaタンパク質；チオレドキシン関連タンパク質1

ヌクレオチド配列：転写変異体1

NCBI参照配列：NM\_004786.2

遺伝子座：NM\_004786

アクセッション：NM\_004786

バージョン：NM\_004786.2 GI:215422360

配列番号232

タンパク質配列：

NCBI参照配列：NP\_004777.1

遺伝子座：NP\_004777

アクセッション：NP\_004777

バージョン：NP\_004777.1 GI:4759274

配列番号233

10

### VIM

公式記号：VIM

公式名：ピメンチン

遺伝子ID：431

生物：ホモ・サピエンス

別名：RP11-124N14.1

他の表記：N/A

ヌクレオチド配列：

NCBI参照配列：NM\_003380.3

遺伝子座：NM\_003380

アクセッション：NM\_003380

バージョン：NM\_003380.3 GI:240849334

配列番号234

タンパク質配列：

NCBI参照配列：NP\_003371.2

遺伝子座：NP\_003371

アクセッション：NP\_003371

バージョン：NP\_003371.2 GI:62414289

配列番号235

30

### YWHAG

公式記号：YWHAG

公式名：チロシン3-モノオキシゲナーゼ/トリプトファン5-モノオキシゲナーゼ活性化タンパク質，ポリペプチド

遺伝子ID：7532

生物：ホモ・サピエンス

別名：14-3-3GAMMA

他の表記：14-3-3；14-3-3タンパク質；KCIIP-1；タンパク質キナーゼC阻害剤タンパク質1

ヌクレオチド配列：

NCBI参照配列：NM\_012479.3

遺伝子座：NM\_012479

アクセッション：NM\_012479

バージョン：NM\_012479.3 GI:194733744

配列番号236

タンパク質配列：

40

50

N C B I 参照配列 : N P \_ 0 3 6 6 1 1 . 2

遺伝子座 : N P \_ 0 3 6 6 1 1

アクセッション : N P \_ 0 3 6 6 1 1

バージョン : N P \_ 0 3 6 6 1 1 . 2 G I : 2 1 4 6 4 1 0 1

配列番号 2 3 7

#### Z N F 2 0 7

公式記号 : Z N F 2 0 7

公式名 : ジンクフィンガータンパク質 2 0 7

遺伝子 I D : 7 7 5 6

生物 : ホモ・サピエンス

別名 : N / A

他の表記 : N / A

ヌクレオチド配列 : 転写変異体 2

N C B I 参照配列 : N M \_ 0 0 1 0 3 2 2 9 3 . 2

遺伝子座 : N M \_ 0 0 1 0 3 2 2 9 3

アクセッション : N M \_ 0 0 1 0 3 2 2 9 3

バージョン : N M \_ 0 0 1 0 3 2 2 9 3 . 2 G I : 1 4 8 8 3 9 3 5 6

配列番号 2 3 8

タンパク質配列 : アイソフォーム b

N C B I 参照配列 : N P \_ 0 0 1 0 2 7 4 6 4 . 1

遺伝子座 : N P \_ 0 0 1 0 2 7 4 6 4

アクセッション : N P \_ 0 0 1 0 2 7 4 6 4

バージョン : N P \_ 0 0 1 0 2 7 4 6 4 . 1 G I : 7 3 8 0 8 0 9 0

配列番号 2 3 9

ヌクレオチド配列 : 転写変異体 3

N C B I 参照配列 : N M \_ 0 0 1 0 9 8 5 0 7 . 1

遺伝子座 : N M \_ 0 0 1 0 9 8 5 0 7

アクセッション : N M \_ 0 0 1 0 9 8 5 0 7

バージョン : N M \_ 0 0 1 0 9 8 5 0 7 . 1 G I : 1 4 8 6 1 2 8 3 4

配列番号 2 4 0

タンパク質配列 : アイソフォーム c

N C B I 参照配列 : N P \_ 0 0 1 0 9 1 9 7 7 . 1

遺伝子座 : N P \_ 0 0 1 0 9 1 9 7 7

アクセッション : N P \_ 0 0 1 0 9 1 9 7 7

バージョン : N P \_ 0 0 1 0 9 1 9 7 7 . 1 G I : 1 4 8 6 1 2 8 3 5

配列番号 2 4 1

ヌクレオチド配列 : 転写変異体 1

N C B I 参照配列 : N M \_ 0 0 3 4 5 7 . 3

遺伝子座 : N M \_ 0 0 3 4 5 7

アクセッション : N M \_ 0 0 3 4 5 7

バージョン : N M \_ 0 0 3 4 5 7 . 3 G I : 1 4 8 8 3 9 3 1 2

配列番号 2 4 2

タンパク質配列 : アイソフォーム a

N C B I 参照配列 : N P \_ 0 0 3 4 4 8 . 1

遺伝子座 : N P \_ 0 0 3 4 4 8

アクセッション : N P \_ 0 0 3 4 4 8

バージョン : N P \_ 0 0 3 4 4 8 . 1 G I : 4 5 0 8 0 1 7

配列番号 2 4 3

#### V I . 本発明の診断 / 予測的使用

本発明は、被験体において、限定されるものではないが、自閉症またはアルツハイマー

10

20

30

40

50

病などの広汎性発達障害を診断するための方法を提供する。本発明はさらに、被験体が広汎性発達障害、例えば、自閉症またはアルツハイマー病を発症する素因を持つかどうかを予測するための方法を提供する。本発明はさらに、限定されるものではないが、自閉症またはアルツハイマー病などの広汎性発達障害の治療処置に対する応答を予測するための方法を提供する。これらの方法は、本明細書で同定され、表 2 ~ 6 に挙げられた本発明のマーカを含む。

#### 【0420】

本発明のいくつかの実施形態では、1以上のバイオマーカーが本発明の方法とともに使用される。本明細書で使用する場合、「1以上のバイオマーカー」という用語は、開示されているバイオマーカーリスト中の少なくとも1つのバイオマーカーがアッセイされ、様々な実施形態においては、そのリストに示される2以上のバイオマーカーがアッセイ可能で有り、例えば、リスト中の2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つ、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65の、65を超える、または全てのバイオマーカーがアッセイ可能であることを意味するものとする。一実施形態では、バイオマーカーのパネルが本発明の方法とともに使用され、従って、バイオマーカーのパネルは、リスト中の2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つ、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65の、65を超える、または全てのバイオマーカーを含む。一実施形態では、リスト中の2以上、3以上、4以上、5以上、6以上、7以上 (seven of more)、8以上、9以上、10以上、15以上、20以上、25以上、30以上、35以上、40以上、45以上、60以上、65以上、または全てのバイオマーカーが本発明の方法とともに使用される。

10

20

#### 【0421】

本発明の方法においてサンプル中のバイオマーカーの発現レベルを（直接的または間接的に）評価するためには、任意の好適な分析方法を使用することができる。ある実施形態では、バイオマーカーの対照発現レベルと比べた場合にバイオマーカーの発現レベルの間に差異が観察される。一実施形態では、この差異はバイオマーカーの発現レベルを決定するための方法の検出限界よりも大きい。さらなる実施形態では、この差異は、その評価方法の標準誤差以上であり、例えば、この差異は、その評価方法の標準誤差の少なくとも約2倍、約3倍、約4倍、約5倍、約6倍、約7倍、約8倍、約9倍、約10倍、約15倍、約20倍、約25倍、約100倍、約500倍または約1000倍である。ある実施形態では、対照発現レベルと比べた場合の、サンプルにおけるバイオマーカーの発現レベルは、パラメトリックまたはノンパラメトリック記述統計、比較、回帰分析などを用いて評価される。

30

#### 【0422】

ある実施形態では、被験体由来のサンプル中のバイオマーカーの発現レベルにおける差異は対照と比較して検出され、この差異は、対照または正常サンプルにおけるバイオマーカーの発現レベルの約5%、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、または約90%増または減である。

#### 【0423】

ある実施形態では、被験体に由来するサンプルにおけるバイオマーカーの発現レベルにおける差異は対象と比較して検出され、この差異は、対照または正常サンプルにおけるバイオマーカーの発現レベルの約1.1、約1.2、約1.3、約1.4、約1.5、約1.6、約1.7、約1.8、約1.9、約2、約3、約4、約5、約6、約7、約8、約9、約10、約15、約20、約25、約30、約35、約40、約45、約50、約55、約60、約65、約70、約75、約80、約85、約90、約95、または約100倍増または減である。

40

#### 【0424】

2以上のマーカーが検出される実施形態では、発現の差異は、各マーカーの差異であり得、または全てのマーカーが同等の最小変調レベルを持ち得、例えば、検出されるマーカーのそれぞれは、対照または正常サンプルにおける個々のバイオマーカーの発現レベルと

50

比較して、少なくとも約 1.1、約 1.2、約 1.3、約 1.4、約 1.5、約 1.6、約 1.7、約 1.8、約 1.9、約 2、約 3、約 4、約 5、約 6、約 7、約 8、約 9、約 10、約 15、約 20、約 25、約 30、約 35、約 40、約 45、約 50、約 55、約 60、約 65、約 70、約 75、約 80、約 85、約 90、約 95、または約 100 倍以上調節または下方調節される。

#### 【0425】

被験体から得られたサンプルにおける表 2～6 のバイオマーカー、例えば、1 以上のマーカーの発現レベルは、サンプル内のバイオマーカーを検出および/または定量可能な部分に変換する多様な技術および方法のいずれによってアッセイしてもよい。このような方法の非限定例としては、タンパク質の検出のための免疫学的方法、タンパク質精製法、タンパク質機能または活性アッセイ、核酸ハイブリダイゼーション法、核酸逆転写法、および核酸増幅法、免疫プロット法、ウエスタンプロット法、ノーザンプロット法、電子顕微鏡、質量分析、例えば、MALDI-TOF および SELDI-TOF、免疫沈降、免疫蛍光、免疫組織化学、酵素結合免疫吸着アッセイ (ELISA)、例えば、増幅 ELISA、定量的血液ベースアッセイ、例えば、血清 ELISA、定量的尿ベースアッセイ、フローサイトメトリー、サザンハイブリダイゼーション、アレイ分析など、およびそれらの任意の組合せまたは部分的組合せを用いたサンプルの分析が挙げられる。

10

#### 【0426】

一実施形態では、サンプルにおけるバイオマーカーの発現レベルは、バイオマーカー遺伝子の、転写されたポリヌクレオチド、またはその一部、例えば、mRNA または cDNA を検出することにより決定される。RNA は、例えば、酸フェノール/グアニジンイソチオシアネート抽出 (RNAzol B; Biogenesis)、RNeasy RNA 調製キット (Qiagen) または PAXgene (PreAnalytix、スイス) の使用を含む RNA 抽出技術を用いて細胞から抽出され得る。リボ核酸ハイブリダイゼーションを用いる典型的なアッセイ形式としては、核ランオンアッセイ、RT-PCR、定量的 PCR 分析、RNアーゼ保護アッセイ (Melton et al., Nuc. Acids Res. 12:7035)、ノーザンプロット法および in situ ハイブリダイゼーションが含まれる。mRNA サンプル分析のための他の好適なシステムとしては、マイクロアレイ分析 (例えば、Affymetrix のマイクロアレイシステムまたは Illumina のビーズアレイテクノロジーを使用) が含まれる。

20

30

#### 【0427】

一実施形態では、バイオマーカーの発現レベルは、核酸プローブを使用して決定される。「プローブ」という用語は、本明細書で使用する場合、特定のバイオマーカーに選択的に結合することができるいずれの分子も意味する。プローブは、当業者により合成されてもよいし、または適当な生体調製物に由来してもよい。プローブは、標識の付加または組み込みによって標識されるように特異的に設計することができる。プローブとして使用可能な分子としては、限定されるものではないが、RNA、DNA、タンパク質、抗体、および有機分子が挙げられる。

#### 【0428】

上記で示したように、単離された mRNA は、限定されるものではないが、サザンまたはノーザン分析、ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) 分析およびプローブアレイを含む、ハイブリダイゼーションまたは増幅アッセイにおいて使用可能である。mRNA レベルの決定のための 1 つの方法は、単離された mRNA を、バイオマーカー mRNA とハイブリダイズすることができる核酸分子 (プローブ) と接触させることを含む。この核酸プローブは、例えば、全長 cDNA、またはその一部、例えば、少なくとも約 7、10、15、20、25、30、35、40、45、50、100、250 または約 500 ヌクレオチド長であって、適当なハイブリダイゼーション条件下でバイオマーカーのゲノム DNA と特異的にハイブリダイズするのに十分なオリゴヌクレオチドであり得る。特定の実施形態では、プローブは、ストリンジェント条件下でバイオマーカーのゲノム DNA と結合する。このようなストリンジェント条件、例えば、6×塩化ナトリウム/クエン酸ナトリウム (

40

50

SSC)中、約45 でのハイブリダイゼーションと、その後の0.2×SSC、0.1%SDS中、50~65 での1回以上の洗浄が当業者に知られ、Current Protocols in Molecular Biology, Ausubel et al., eds., John Wiley & Sons, Inc. (1995), sections 2, 4, and 6に見出すことができ、その教示は参照により本明細書に組み入れられる。さらなるストリンジェント条件は、Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Sambrook et al., Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989), chapters 7, 9, and 11に見出すことができ、その教示は参照により本明細書に組み入れられる。

#### 【0429】

一実施形態では、例えば、単離されたmRNAをアガロースゲルに流し、そのmRNAをゲルからニトロセルロースなどの膜に移すことによってmRNAを固相表面に固定化し、プローブと接触させる。別の実施形態では、プローブを固相表面に、例えば、Affymetrix遺伝子チップアレイに固定化し、これらのプローブをmRNAと接触させる。当業者ならば、mRNA検出法をバイオマーカーmRNAのレベルの決定に使用するために容易に適合させることができる。

#### 【0430】

サンプルにおけるバイオマーカーの発現レベルはまた、例えば、サンプル中のmRNAの核酸増幅および/または逆転写酵素(cDNAを作製するため)、例えば、RT-PCR(Mullis、1987、米国特許第4,683,202号に示されている実験具体例)、リガーゼ連鎖反応(Barany(1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:189-193)、自家持続配列複製(Guatelli et al. (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:1874-1878)、転写増幅系(Kwoh et al.(1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:1173-1177)、Q-レプリカーゼ(Lizardi et al.(1988) Bio/Technology 6:1197)、ローリングサークル複製(Lizardiら、米国特許第5,854,033号)または他の任意の核酸増幅法と、その後の増幅分子の検出、の使用を含む方法を用いて決定することもできる。これらのアプローチは、核酸分子が極めて少数しか存在しない場合のこのような分子の検出に特に有用である。本発明の特定の態様では、バイオマーカーの発現レベルは、定量的蛍光RT-PCR(例えば、TaqMan(商標)システム)によって決定される。このような方法では一般に、バイオマーカーに特異的なオリゴヌクレオチドプライマー対を用いる。既知の配列に特異的なオリゴヌクレオチドプライマーを設計するための方法は当技術分野で周知である。

#### 【0431】

バイオマーカーmRNAの発現レベルは、メンブレンプロット(例えば、ノーザン、サザン、ドットなど、ハイブリダイゼーション分析において使用されるもの)、またはマイクロウェル、サンプルチューブ、ゲル、ビーズまたは繊維(または結合した核酸を含む任意の固相支持体)を用いてモニタリングすることができる。例えば、米国特許第5,770,722号;同第5,874,219号;同第5,744,305号;同第5,677,195号;および同第5,445,934号参照、これらの全内容は、それらがこれらのアッセイに関連していることから、参照により本明細書に組み入れられる。バイオマーカー発現レベルの決定はまた、液相での核酸プローブの使用も含み得る。

#### 【0432】

本発明の一実施形態では、バイオマーカーの発現レベルを検出するためにマイクロアレイが使用される。マイクロアレイは、異なる実験間で再生可能であるために、この目的に特によく適している。DNAマイクロアレイは、多数の遺伝子の発現レベルの同時測定のための1つの方法を提供する。各アレイは、固相支持体に結合された捕捉プローブの再生可能なパターンからなる。標識されたRNAまたはDNAをこのアレイ上の相補的プローブとハイブリダイズさせた後、レーザースキニングにより検出する。アレイ上の各プローブのハイブリダイゼーション強度を決定し、相対的遺伝子発現レベルを表す定量値に変換する。例えば、米国特許第6,040,138号;同第5,800,992号;同第6,020,135号;同第6,033,860号;および同第6,344,316号参照、これらの全内容は、それらがこれらのアッセイに関連していることから、参照により本

10

20

30

40

50

明細書に組み入れられる。高密度オリゴヌクレオチドアレイは、サンプル中の多数のRNAの遺伝子発現プロフィールを決定するために特に有用である。

【0433】

バイオマーカーの発現はまた、バイオマーカーのmRNAによりコードされているタンパク質産物を直接的または間接的に検出する検出試薬を用いて、タンパク質レベルで評価することもできる。例えば、検出するバイオマーカータンパク質産物に特異的に結合する抗体試薬が入手可能であれば、免疫組織化学、ELISA、FACS分析などの技術を用いて被験体由来のサンプルにおけるバイオマーカーの発現を検出するためにこのような抗体試薬を使用することができる。

【0434】

タンパク質レベルでバイオマーカーを検出するための他の既知の方法としては、電気泳動、キャピラリー電気泳動、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)、薄層クロマトグラフィー(TLC)、高速拡散クロマトグラフィーなどの方法、または流体もしくはゲル沈降反応、免疫拡散(一元または二元)、免疫電気泳動、ラジオイムノアッセイ(RIA)、酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)、免疫蛍光アッセイ、およびウエスタンブロット法などの様々な免疫学的方法が含まれる。

【0435】

サンプルからのタンパク質は、当業者に周知のものを含め、様々な技術を用いて単離することができる。使用されるタンパク質単離法は、例えば、(Harlow and Lane, 1988, Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York)に記載されているものであり得る。

【0436】

一実施形態では、発現されたタンパク質を検出するためにウエスタンブロットまたは免疫蛍光技術などの方法において抗体、または抗体フラグメントが使用される。本発明のバイオマーカーの発現を決定するための抗体は市販されている。

【0437】

抗体またはタンパク質は、ウエスタンブロットおよび免疫蛍光技術用の固相支持体に固定化することができる。好適な固相支持体または担体として、抗原または抗体を結合させることができるいずれの支持体も含まれる。周知の支持体または担体としては、ガラス、ポリスチレン、ポリプロピレン、ポリエチレン、デキストラン、ナイロン、アミラーゼ、天然および修飾セルロース、ポリアクリルアミド、斑れい岩、およびマグネタイトが挙げられる。

【0438】

当業者ならば、抗体または抗原を結合させるために好適な他の多くの担体を知っており、このような支持体を本発明と併用するために適合させることができる。例えば、細胞から単離されたタンパク質をポリアクリルアミドゲル電気泳動にかけ、ニトロセルロースなどの固相支持体上に固定化することができる。次に、この支持体を好適なバッファーで洗浄し、その後、検出可能に標識された抗体で処理することができる。次いで、この固相支持体をもう一度バッファーで洗浄し、結合していない抗体を除去することができる。次に、固相支持体上に結合している標識の量を常法により検出することができる。電気泳動技術を用いてタンパク質を検出する手段は当業者に周知である(一般に、R. Scopes (1982) Protein Purification, Springer-Verlag, N.Y.; Deutscher, (1990) Methods in Enzymology Vol. 182: Guide to Protein Purification, Academic Press, Inc., N.Y.参照)。

【0439】

他の標準的な方法としては、当業者に周知のイムノアッセイ技術が含まれ、Principles And Practice Of Immunoassay, 2nd Edition, Price and Newman, eds., MacMillan (1997)およびAntibodies, A Laboratory Manual, Harlow and Lane, eds., Cold Spring Harbor Laboratory, Ch. 9 (1988)に見出すことができる。

【0440】

本発明の一実施形態では、プロテオミクス法、例えば質量分析が使用される。質量分析は、化学化合物をイオン化して荷電分子（またはそれらのフラグメント）を生成すること、およびそれらの質量電荷比を測定することからなる分析技術である。典型的な質量分析手順では、被験体からサンプルを得、質量分析にロードし、その成分（例えば、バイオマーカー）を種々の方法（例えば、それらに電子ビームで衝撃を与えることによる）によってイオン化し、その結果、電荷を帯びた粒子（イオン）が形成される。次に、これらの粒子の質量電荷比が、それらが電磁場を通過する際の動きから算出される。

#### 【0441】

例えば、血清などの生体サンプルをタンパク質結合チップへ適用することを含むマトリックス支援レーザー脱離法/イオン化タイム・オブ・フライト型質量分析(MALDI-TOF MS)または表面増強レーザー脱離法/イオン化タイム・オブ・フライト型質量分析(SELDI-TOF MS)(Wright, G.L., Jr., et al. (2002) Expert Rev Mol Diagn 2:549; Li, J., et al. (2002) Clin Chem 48:1296; Laronga, C., et al. (2003) Dis biomarkers 19:229; Petricoin, E.F., et al. (2002) 359:572; Adam, B.L., et al. (2002) Cancer Res 62:3609; Tolson, J., et al. (2004) Lab Invest 84:845; Xiao, Z., et al. (2001) Cancer Res 61:6029)を、バイオマーカーの発現レベルをタンパク質レベルで決定するために使用することができる。

10

#### 【0442】

さらに、バイオマーカーの発現レベルを決定するための *in vivo* 技術としては、バイオマーカーと結合してそのバイオマーカーを検出可能な分子に変換する、バイオマーカーに対する標識抗体を被験体に導入することを含む。上述のように、被験体における検出可能なバイオマーカーの存在、レベル、または位置さえも標準的なイメージング技術によって検出することができる。

20

#### 【0443】

一般に、バイオマーカーの発現レベルと対照の差異が検出される場合には、広汎性発達障害（例えば、自閉症またはアルツハイマー病）を有する被験体由来のサンプルにおけるバイオマーカーの発現レベルと対照サンプルにおけるバイオマーカーの量の間の差異ができるだけ大きいことが好ましい。この差異は発現レベルを決定するための方法の検出限界と同じくらい小さいこともあるが、この差異はその方法の検出限界よりも大きいか、またはその評価方法の標準誤差よりも大きいこと、好ましくは、差異がその評価方法の標準誤差の少なくとも約2倍、約3倍、約4倍、約5倍、約6倍、約7倍、約8倍、約9倍、約10倍、約15倍、約20倍、約25倍、約100倍、約500倍、1000倍であることが好ましい。

30

#### 【0444】

広汎性発達障害（例えば、自閉症またはアルツハイマー病）を有する被験体から得られたいずれの好適なサンプルも、バイオマーカー、例えば、表2～6における1以上のマーカーの発現の欠如を含めた発現レベルの評価のために使用可能である。例えば、前記サンプルは、前記被験体から得られた任意の流体またはその成分、例えば、画分または抽出物、例えば、血液、血漿、リンパ液、滑液、囊胞液、尿、乳頭穿刺液、または生検から回収された流体、羊水、眼房水、硝子体液、胆汁、血液、母乳、脳脊髄液、耳垢、乳び、囊胞液、内リンパ液、糞便、胃酸、胃液、粘液、心膜液、外リンパ液、腹腔液、血漿、胸膜液、膿、唾液、皮脂、精液、汗、血清、痰、滑液、関節組織もしくは関節液、涙、または膈分泌物であり得る。典型的な状況では、前記流体は、前記被験体から得られた血液、またはその成分であり得、全血またはその成分（血漿、血清、および血液細胞、例えば、赤血球、白血球および血小板を含む）が含まれる。別の典型的な状況では、前記流体は滑液、関節組織もしくは関節液、または広汎性発達障害（例えば、自閉症またはアルツハイマー病）を反映する他の任意のサンプルであり得る。前記サンプルはまた、前記被験体から得られた任意の組織またはその成分、結合組織、リンパ組織または筋肉組織であり得る。

40

#### 【0445】

被験体由来のサンプルを得るための技術または方法は当技術分野で周知であり、例えば

50

、広汎性発達障害（例えば、自閉症またはアルツハイマー病）に罹患している被験体からの口腔スワブまたは口腔洗液；採血；生検採取；または他のサンプル採取によるサンプル採取を含む。流体または組織サンプルの成分（例えば、細胞またはRNAまたはDNA）の単離は、様々な技術を用いて達成することができる。サンプルが得られた後に、それをさらに処理してもよい。

【0446】

#### 予測医療

本発明は、個体を予防的に処置するために診断アッセイ、予測アッセイ、ファーマコゲノミクス、および治験モニタリングが予測(prognostic (predictive))目的で使用される、予測医療の分野に関する。よって、本発明の一態様は、ある個体が、限定されるものではないが自閉症またはアルツハイマー病などの広汎性発達障害を発症するリスクがあるかどうかを決定するために1以上のマーカータンパク質または核酸の発現レベルを決定するための診断アッセイに関する。このようなアッセイは、障害の発症前に個体を予防的に処置するために予測(prognostic (predictive))目的で使用することができる。

10

【0447】

本発明のさらに別の態様は、臨床試験において、薬剤（例えば、広汎性発達障害または広汎性発達障害の症状を処置するために投与された薬物または他の化合物）の、本発明のマーカーの発現または活性に対する影響をモニタリングすることに関する。これらの、また他の薬剤については、以下の節でさらに詳細に述べる。

20

【0448】

#### A. 診断アッセイ

生体サンプルにおけるマーカータンパク質または核酸の存在または不在を検出するための例示的方法は、試験対象から生体サンプル（例えば、広汎性発達障害関連組織または流体）を得ること、およびその生体サンプルをポリペプチドまたは核酸（例えば、mRNA、ゲノムDNA、またはcDNA）を検出することができる化合物または薬剤と接触させることを含む。このように、本発明の検出方法は、例えば、*in vitro*ならびに*in vivo*において生体サンプル中のmRNA、タンパク質、cDNA、またはゲノムDNAを検出するために使用することができる。例えば、mRNAの検出のための*in vitro*技術としては、ノーザンハイブリダイゼーションおよび*in situ*ハイブリダイゼーションが含まれる。マーカータンパク質の検出のための*in vitro*技術としては、酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)、ウエスタンブロット、免疫沈降および免疫蛍光が含まれる。ゲノムDNAの検出のための*in vitro*技術としては、サザンハイブリダイゼーションが含まれる。mRNAの検出のための*in vivo*技術としては、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)、ノーザンハイブリダイゼーションおよび*in situ*ハイブリダイゼーションが含まれる。さらに、マーカータンパク質の検出のための*in vivo*技術としては、タンパク質またはそのフラグメントに対する標識抗体を被験体に導入することを含む。例えば、前記抗体を放射性マーカーで標識し、被験体におけるその存在および位置を標準的なイメージング技術によって検出することができる。

30

【0449】

このような診断および予測アッセイの一般原理は、マーカーとプローブを含有し得るサンプルまたは反応混合物を調製すること、そして、そのマーカーとプローブを相互作用させかつ結合させるのに適当な条件下で十分な時間、複合体を形成させることを含み、その複合体は取り出すこと、および/または反応混合物中で検出することが可能である。これらのアッセイは、様々な手法で行うことができる。

40

【0450】

例えば、このようなアッセイを行うための1つの方法は、マーカーまたはプローブを固相支持体（基質とも呼ばれる）に係留すること、および反応の終了時に固相に係留されている標的マーカー/プローブ複合体を検出することを含むと考えられる。このような方法の一実施形態では、マーカーの存在および/または濃度に関してアッセイする被験体由来

50

のサンプルを担体または固相支持体に係留することができる。別の実施形態では、逆の状況が可能であり、プローブが固相に係留され、被験体由来のサンプルをそのアッセイの非係留成分として反応させることができる。

#### 【0451】

アッセイ成分を固相に係留するために確立されている方法は多数ある。これらのものとしては、限定されるものではないが、ビオチンとストレプトアビジンのコンジュゲーションによって固定化されるマーカーまたはプローブ分子が挙げられる。このようなビオチン化アッセイ成分は、当技術分野で公知の技術（例えば、ビオチン化キット、Pierce Chemicals、ロックフォード、IL）を用いてビオチン-NHS（N-ヒドロキシ-スクシンイミド）から調製し、ストレプトアビジンコーティング96ウェルプレート（Pierce Chemical）のウェル内に固定化することができる。特定の 10  
実施形態では、アッセイ成分が固定化された表面は予め調製し、保存することができる。

#### 【0452】

このようなアッセイのための他の好適な担体または固相支持体は、そのマーカーまたはプローブが属する分子種と結合し得るいずれの材料も含む。周知の支持体または担体としては、限定されるものではないが、ガラス、ポリスチレン、ナイロン、ポリプロピレン、ナイロン、ポリエチレン、デキストラン、アミラーゼ、天然および修飾セルロース、ポリ 20  
アクリルアミド、斑れい岩、およびマグネタイトが挙げられる。

#### 【0453】

上述のアプローチを用いてアッセイを行うためには、非固定化成分を、第2の成分が係留された固相に加える。反応が完了した後、複合体を形成していない成分を、形成された複合体が固相に固定化されたまま残るような条件下（例えば、洗浄による）で除去す 20  
ることができる。固相に係留されているマーカー/プローブ複合体の検出は、本明細書に概略を示したいいくつかの方法で行うことができる。

#### 【0454】

好ましい実施形態では、プローブは、それが非係留アッセイ成分である場合には、アッセイの検出および読み取りのために、本明細書に述べられ、当業者に周知である検出可能な標識で直接的または間接的に標識することができる。

#### 【0455】

どちらかの成分（マーカーまたはプローブ）のさらなる操作または標識を行うことなく、例えば、蛍光エネルギー移動の技術（例えば、Lakowiczら、米国特許第5,631,169号；Stavrianopoulosら、米国特許第4,868,103号参照）に使用によって、マーカー/プローブ複合体を直接検出することもできる。第1の「ドナー」分子上の蛍光団標識は、適当な波長の入射光による励起時に、発せられたその 30  
蛍光エネルギーが第2の「アクセプター」分子上の蛍光標識によって吸収され、この吸収されたエネルギーにより蛍光が可能となるように選択される。あるいは、「ドナー」タンパク質分子は、単に、トリプトファン残基の自然蛍光エネルギーを使用してもよい。「アクセプター」分子標識が「ドナー」と区別できるように、異なる波長の光を発する標識が 40  
選択される。これらの標識間のエネルギー移動の効率、それらの分子を隔てる距離に関係するので、分子間の空間的関係を評価することができる。これらの分子間で結合が起 40  
る場合、このアッセイの「アクセプター」分子標識の蛍光放出は最大となるはずである。FET結合イベントは、好都合には、当技術分野で周知の標準的な蛍光測定検出手段によって（例えば、蛍光計を用いて）測定することができる。

#### 【0456】

別の実施形態では、プローブのマーカー認識能の決定は、どちらかのアッセイ成分（プローブまたはマーカー）を標識することなく、リアルタイムBiomolecular Interaction Analysis（BIA）（例えば、Sjolander, S. and Urbaniczky, C., 1991, Anal. Chem. 63:2338-2345およびSzabo et al., 1995, Curr. Opin. Struct. Biol. 5:699-705参照）などの技術を使用することによって行うことができる。本明細書で使用する場合、「BIA」または「表面プラズモン共鳴」は、いずれの相互 50

作用物も標識することなく、リアルタイムで生物特異的な相互作用を研究するための技術である（例えば、B I A c o r e）。結合表面の質量変化（結合イベントの指標）は表面付近の光の屈折率に変化をもたらす（表面プラズモン共鳴（S P R）の光学的現象）、その結果、検出可能なシグナルを生じ、これを生体分子間のリアルタイム反応の指標として使用することができる。

#### 【0457】

あるいは、別の実施形態では、類似の診断および予測アッセイを、液相中の溶質としてのマーカーおよびプローブを用いて行うこともできる。このようなアッセイでは、複合体を形成したマーカーとプローブは、複合体を形成していない成分から、限定されるものではないが、分画遠心分離、クロマトグラフィー、電気泳動および免疫沈降を含むいくつかの標準的な技術のいずれかによって分離される。分画遠心分離、マーカー/プローブ複合体は、一連の遠心分離工程により、それらの大きさや密度の違いに基づく複合体の沈降平衡によって、複合体を形成していないアッセイ成分から分離し得る（Rivas, G., and Minton, A.P., 1993, Trends Biochem Sci. 18(8):284-7参照）。標準的なクロマトグラフィー技術も、複合体形成分子を、複合体を形成していないものから分離するために使用可能である。例えば、ゲル濾過クロマトグラフィーは分子を大きさに基づいて分離するが、カラム形式での適当なゲル濾過樹脂の使用により、例えば、相対的に大きな複合体が相対的に小さな非複合体成分から分離できる。同様に、非複合体成分と比べた場合のマーカー/プローブ複合体の相対的に異なる電荷特性を、例えば、イオン交換クロマトグラフィー樹脂を使用することにより、複合体を非複合体成分から区別するために使用することができる。このような樹脂およびクロマトグラフィー技術は当業者に周知である（例えば、Heegaard, N.H., 1998, J. Mol. Recognit. Winter 11(1-6):141-8; Hage, D.S., and Tweed, S.A. J Chromatogr B Biomed Sci Appl 1997 Oct 10;699(1-2):499-525参照）。また、ゲル電気泳動も、複合体アッセイ成分を非結合成分から分離するために使用可能である（例えば、Ausubel et al., ed., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, New York, 1987-1999参照）。この技術において、タンパク質または核酸複合体は、例えば、大きさまたは電荷に基づいて分離される。電気泳動工程中に結合相互作用を維持するためには、非変性ゲルマトリックス材料および還元剤不在条件が一般に好ましい。特定のアッセイおよびその成分に適当な条件は当業者に周知である。

#### 【0458】

特定の実施形態では、当技術分野で公知の方法を用い、生体サンプルにおいて *in situ* 形式および *in vitro* 形式の両方でマーカー mRNA のレベルを決定することができる。「生体サンプル」という用語は、被験体から単離された組織、細胞、生物学的流体およびそれらの単離物、ならびに被験体内に存在する組織、細胞および流体を含むものとする。多くの発現検出法では、単離された RNA を使用する。*in vitro* 法では、mRNA の単離に対しては選択しない任意の RNA 単離技術を細胞からの RNA の精製に使用することができる（例えば、Ausubel et al., ed., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, New York 1987-1999）。さらに、例えば、Chomczynski (1989年、米国特許第4,843,155号)の一段階 RNA 単離法などの当業者に周知の技術を用い、多数の組織サンプルを容易に処理することもできる。

#### 【0459】

単離された mRNA は、限定されるものではないが、サザンまたはノーザン分析、ポリメラーゼ連鎖反応分析およびプローブアレイを含むハイブリダイゼーションまたは増幅アッセイにおいて使用することができる。mRNA レベルの検出のための1つの好ましい診断方法は、単離された mRNA を、検出される遺伝子によりコードされる mRNA とハイブリダイズすることができる核酸分子（プローブ）と接触させることを含む。核酸プローブは、例えば、全長 cDNA、またはその一部、例えば、少なくとも7、15、30、50、100、250または500ヌクレオチド長であって、ストリンジェント条件下で本発明のマーカーをコードする mRNA またはゲノム DNA と特異的にハイブリダイズする

のに十分なオリゴヌクレオチドであり得る。本発明の診断アッセイにおいて使用するのに好適な他のプローブは本明細書に記載されている。mRNAとプローブのハイブリダイゼーションは、問題のマーカが発現されていることを示す。

**【0460】**

1つの形式では、例えば、単離されたmRNAをアガロースゲルに流し、そのmRNAをゲルからニトロセルロースなどの膜に移すことによってmRNAを固相表面に固定化し、プローブと接触させる。別の形式では、例えば、Affymetrix遺伝子チップアレイにおいて、プローブを固相表面に固定化し、mRNAをこれらのプローブと接触させる。当業者ならば、mRNA検出法を本発明のマーカによりコードされているmRNAのレベルの決定に使用するために容易に適合させることができる。

10

**【0461】**

サンプルにおいてmRNAマーカのレベルを決定するための別法は、例えば、RT-PCR (Mullis, 1987, 米国特許第4,683,202号に示されている実験具体例)、リガーゼ連鎖反応(Barany, 1991, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88:189-193)、自家持続配列複製(Guatelli et al., 1990, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:1874-1878)、転写増幅系(Kwoh et al., 1989, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:1173-1177)、Q-

レプリカーゼ(Lizardi et al., 1988, Bio/Technology 6:1197)、ローリングサークル複製(Lizardiら、米国特許第5,854,033号)または他の任意の核酸増幅法による核酸増幅の工程と、その後の、当業者に周知の技術を用いた増幅分子の検出の工程を含む。これらの検出スキームは、核酸分子が極めて少数しか存在しない場合のこのような分子の検出に特に有用である。本明細書で使用する場合、増幅プライマーは、遺伝子の5'または3'領域にアニーリングすることができる核酸分子対であると定義され(それぞれプラス鎖およびマイナス鎖、またはその逆)、間に短い領域を含む。一般に、増幅プライマーは約10~30ヌクレオチド長であり、約50~200ヌクレオチド長の領域を挟み込む。適当な条件下で適当な試薬を用いれば、このようなプライマーはプライマーにより挟み込まれたヌクレオチド配列を含む核酸分子の増幅を可能とする。

20

**【0462】**

in situ法では、mRNAは検出前に単離される必要は無い(mRNA does not need to be isolated from the prior to detection)。このような方法では、細胞または組織サンプルは既知の組織学的方法を用いて調製/処理される。次に、このサンプルを支持体、一般にスライドガラスに固定化し、その後、マーカをコードするmRNAにハイブリダイズすることができるプローブと接触させる。

30

**【0463】**

マーカの絶対的発現レベルに基づいて決定を行う代わりに、決定はマーカのノーマライズされた発現レベルに基づいてもよい。発現レベルは、その発現を、マーカではない、例えば、構成的に発現されるハウスキーピング遺伝子である遺伝子と比較することによって、マーカの絶対的発現レベルを補正することによりノーマライズされる。ノーマライゼーションに好適な遺伝子としては、ハウスキーピング遺伝子、例えば、アクチン遺伝子、または上皮細胞特異的遺伝子が挙げられる。このノーマライゼーションは、あるサンプル、例えば患者サンプルと、別のサンプル、例えば非罹患サンプルとの、または異なる供給源のサンプル間での発現レベルの比較を可能とする。

40

**【0464】**

あるいは、発現レベルは、相対発現レベルとして提供することもできる。マーカの相対発現レベルを決定するためには、問題のサンプルの発現レベルを決定する前に、正常細胞単離物と広汎性発達障害細胞単離物の10以上サンプル、好ましくは50以上サンプルについてマーカの発現レベルを決定する。より多数のサンプルでアッセイされた遺伝子のそれぞれの平均発現レベルを決定し、これをそのマーカのベースライン発現レベルとして用いる。次に、試験サンプルについて決定されたマーカの発現レベル(絶対的発現レベル)を、そのマーカについて得られた平均発現値で割る。これが相対発現レベルとなる。

50

## 【0465】

好ましくは、ベースライン決定において使用されるサンプルは、正常、健常な対照である被験体由来の細胞、例えば、広汎性発達障害に罹患していない被験体由来の細胞に由来する。細胞源の選択は相対発現レベルの使用に依存しない。正常組織で見られた発現を平均発現スコアとして使用すれば、アッセイされるマーカーが広汎性発達障害に特異的であるかどうか（正常細胞との比較）をバリデートする助けとなる。さらに、多くのデータが蓄積されるほど、平均発現値は修正され、蓄積されたデータに基づく改良された相対発現値を得ることができる。

## 【0466】

本発明の別の実施形態では、マーカータンパク質が検出される。本発明のマーカータンパク質を検出するための好ましい薬剤は、このようなタンパク質またはそのフラグメントと結合することができる抗体、好ましくは、検出可能な標識を有する抗体である。抗体はポリクローナル、またはより好ましくは、モノクローナルであり得る。完全抗体、またはそのフラグメントもしくは誘導体（例えば、Fabまたは $F(ab')_2$ ）が使用可能である。プローブまたは抗体に関して「標識される」という用語は、検出可能な物質をプローブまたは抗体とカップリングさせる（すなわち、物理的に連結させる）ことによるプローブまたは抗体の直接標識、ならびに直接標識された他の試薬との反応性によるプローブまたは抗体の間接的標識を包含することを意図する。間接的標識の例としては、蛍光標識二次抗体を用いた一次抗体の検出、および蛍光標識ストレプトアビジンで検出できるようなDNAプローブのビオチンによる末端標識が挙げられる。

10

20

## 【0467】

細胞由来のタンパク質は、当業者に周知の技術を用いて単離することができる。使用するタンパク質単離法は、例えば、Harlow and Lane (Harlow and Lane, 1988, Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York)に記載されているようなものであり得る。

## 【0468】

様々な形式が、サンプルが所与の抗体と結合するタンパク質を含有するかどうかを決定するために使用可能である。このような形式の例としては、限定されるものではないが、酵素イムノアッセイ（EIA）、ラジオイムノアッセイ（RIA）、ウエスタンブロット分析および酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）が挙げられる。当業者ならば、既知のタンパク質/抗体検出法を細胞が本発明のマーカーを発現するかどうかを決定するために容易に適合させることができる。

30

## 【0469】

1つの形式において、抗体、または抗体フラグメントもしくは誘導体は、発現したタンパク質を検出するためにウエスタンブロットまたは免疫蛍光技術などの方法で使用することができる。このような使用では、抗体またはタンパク質のいずれかを固相支持体に固定化することが一般に好ましい。好適な固相支持体または担体としては、抗原または抗体を結合させることができるいずれの支持体も含む。周知の支持体または担体としては、ガラス、ポリスチレン、ポリプロピレン、ポリエチレン、デキストラン、ナイロン、アミラーゼ、天然および修飾セルロース、ポリアクリルアミド、斑れい岩、およびマグネタイトが挙げられる。

40

## 【0470】

当業者ならば、抗体または抗原を結合させるために好適な他の多くの担体を知っており、このような支持体を本発明と併用するために適合させることができる。例えば、広汎性発達障害細胞から単離されたタンパク質をポリアクリルアミドゲル電気泳動にかけ、ニトロセルロースなどの固相支持体上に固定化することができる。次に、この支持体を好適なバッファーで洗浄し、その後、検出可能に標識された抗体で処理することができる。次いで、この固相支持体をもう一度バッファーで洗浄し、結合していない抗体を除去することができる。次に、固相支持体上に結合している標識の量を常法により検出することができる。その後、固相支持体上に結合している標識の量を常法により検出することができる。

50

## 【0471】

本発明はまた、生体サンプルにおいてマーカータンパク質または核酸の存在を検出するためのキットを包含する。このようなキットは、被験体が広汎性発達障害に罹患しているかどうか、または広汎性発達障害を発症する高いリスクがあるかどうかを決定するために使用することができる。例えば、前記キットは、生体サンプルにおいてマーカータンパク質または核酸を検出することができる標識化合物または薬剤と、サンプル中のタンパク質またはmRNAの量を決定するための手段（例えば、タンパク質もしくはそのフラグメントと結合する抗体、またはそのタンパク質をコードするDNAまたはmRNAと結合するオリゴヌクレオチドプローブ）とを含み得る。キットはまた、そのキットを用いて得られた結果を解釈するための説明書も含み得る。

10

## 【0472】

抗体に基づくキットでは、そのキットは、例えば、(1)マーカータンパク質と結合する第1の抗体（例えば、固相支持体に結合される）、および任意選択により、(2)前記タンパク質または第1の抗体のいずれかと結合し、かつ、検出可能な標識とコンジュゲートされている第2の異なる抗体を含み得る。

## 【0473】

オリゴヌクレオチドに基づくキットでは、そのキットは、例えば、(1)マーカータンパク質をコードする核酸配列とハイブリダイズするオリゴヌクレオチド、例えば、検出可能に標識されたオリゴヌクレオチド、または(2)マーカー核酸分子を増幅するのに有用なプライマー対を含み得る。前記キットはまた、例えば、緩衝剤、保存剤、またはタンパク質分解防止剤を含み得る。前記キットは、検出可能な標識を検出するために必要な成分（例えば、酵素または基質）もさらに含み得る。前記キットはまた、対照サンプルまたはアッセイして試験サンプルと比較することができる一連の対照サンプルも含み得る。キット内の各成分は個々の容器内に封入することができ、これら様々な容器の全てを、そのキットを用いて行ったアッセイの結果を解釈するための説明書とともに、単一のパッケージ内に入れることができる。

20

## 【0474】

B. ファーマコゲノミクス

本発明のマーカーはまた、ファーマコゲノムマーカーとしても有用である。本明細書で使用する場合、「ファーマコゲノムマーカー」とは、その発現レベルが患者の臨床的薬物応答または感受性と相関する目的生化学マーカーである（例えば、McLeod et al. (1999) Eur. J. Cancer 35(12): 1650-1652参照）。ファーマコゲノムマーカー発現の存在または量は、特定の薬物または薬物種を用いた療法に対する、患者のより詳しくは患者の障害の、予測される応答に関する。患者において1以上のファーマコゲノムマーカーの発現の存在または量を評価することにより、その患者に最も適当な、または最も大きな成功度を有すると予測される薬物療法が選択できる。例えば、患者における、特定の腫瘍マーカーによりコードされているRNAまたはタンパク質の存在または量に基づき、患者に存在すると思われる特定の広汎性発達障害の処置に対して最適化された薬物または治療コースを選択することができる。従って、ファーマコゲノムマーカーの使用により、種々の薬物または治療計画を試すことなく、各患者にとって最も適当な処置選択または設計することができる。

30

40

## 【0475】

ファーマコゲノミクスに別の態様では、薬物に対する身体作用の方法を変更する遺伝的条件を取り扱う。これらの遺伝薬理学的条件は、まれな欠乏症としてまたは多型として生じ得る。例えば、グルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ(G6PD)欠乏症は一般的な遺伝性の酵素病であり、その主要な臨床合併症は、酸化薬（抗マラリア薬、スルホンアミド、鎮痛薬、ニトロフラン）の摂取およびソラマメの消費の後の溶血である。

## 【0476】

例示的具体例として、薬物代謝酵素の活性が、薬物作用の強度および持続時間の両方の主要な決定因子となる。薬物代謝酵素（例えば、N-アセチルトランスフェラーゼ2(N

50

A T 2 ) ならびにシトクロム P 4 5 0 酵素 C Y P 2 D 6 および C Y P 2 C 1 9 ) の遺伝子多型の発見は、なぜ一部の患者が期待される薬物効果を得られないのか、または薬物の標準的かつ安全な用量を考慮した後に過大な薬物応答や深刻な毒性を示すのかということについての説明を与えた。これらの多型は、集団において、高代謝群(extensive metabolizer) ( E M ) と低代謝群(poor metabolizer) ( P M ) の2つの表現型で発現される。P M の発現率は集団によって異なる。例えば、C Y P 2 D 6 をコードする遺伝子は多型度が高く、いくつかの突然変異が P M で同定されており、それらは全て機能的 C Y P 2 D 6 の不在をもたらす。C Y P 2 D 6 および C Y P 2 C 1 9 の低代謝群は、標準的な用量を受容した際にかなり頻繁に過大な薬物応答および副作用を受ける。代謝産物が活性治療成分である場合、P M は、その C Y P 2 D 6 により形成される代謝産物モルヒネを介したコデインの鎮痛作用に関して示されているように、治療応答を示さない。他の極端なものとしては、標準用量に応答しない、いわゆる超迅速代謝群がある。最近、超迅速代謝の分子的基础が、C Y P 2 D 6 遺伝子の増幅によるものであることが確認された。

10

#### 【 0 4 7 7 】

よって、ある個体における本発明のマーカーの発現レベルを決定して、その個体の治療的または予防的処置に適切な薬剤を選択することができる。さらに、遺伝薬理学的研究を用い、薬物代謝酵素をコードする多型性対立遺伝子のジェノタイピングを個体の薬物応答性表現型の同定に適用することができる。この知見は、用量または薬物選択に適用する場合、有害な反応または治療の失敗を避け、従って、本発明のマーカーの発現の調節因子で対象を処置する場合に、治療効率または予防効率を高めることができる。

20

#### 【 0 4 7 8 】

##### C . 臨床試験のモニタリングする

本発明のマーカーの発現レベルに対する薬剤(例えば、薬物化合物)の影響のモニタリングは、基礎的薬物スクリーニングだけでなく臨床試験にも適用可能である。例えば、広汎性発達障害に関する処置を受けている被験体の臨床試験において、マーカー発現に影響を与える薬剤の有効性をモニタリングすることができる。好ましい実施形態では、本発明は、薬剤(例えば、アゴニスト、アンタゴニスト、ペプチドミメティック、タンパク質、ペプチド、核酸、低分子、または他の薬物候補)による被験体の処置の有効性をモニタリングするための方法を提供し、その方法は、( i ) 薬剤の投与前に被験体から投与前サンプルを得る工程；( i i ) その投与前サンプルにおいて、選択された1以上の本発明のマーカーの発現レベルを検出する工程；( i i i ) 前記被験体から1以上の投与後サンプルを得る工程；( i v ) 投与後サンプルにおいて、前記マーカーの発現レベルを検出する工程；( v ) 投与前サンプルのマーカーの発現レベルと投与後の1または複数のサンプルのマーカーの発現レベルを比較する工程；および( v i ) 前記被験体の薬剤の投与を相応に変更する工程を含む。例えば、処置の経過中のマーカー遺伝子の発現の増強は、用量が効果的で無く、用量増加が望ましいことを示し得る。逆に、マーカー遺伝子の発現の低下は、処置が効果的であり、用量変更の必要がないことを示し得る。

30

#### 【 0 4 7 9 】

##### D . アレイ

本発明はまた、本発明のマーカーを含むアレイを含む。このアレイは、アレイ中の1以上の遺伝子の発現をアッセイするために使用することができる。一実施形態では、前記アレイは、組織における遺伝子発現をアッセイして、アレイ中の遺伝子の組織特異性を確認するために使用することができる。この様式では、最大約7600の遺伝子を発現に関して同時にアッセイすることができる。これにより、1以上の組織で特異的に発現される遺伝子バッテリーを示すプロフィールを開発することができる。

40

#### 【 0 4 8 0 】

このような質的決定に加え、本発明は、遺伝子発現の定量化を可能とする。従って、組織における遺伝子バッテリーの組織特異性だけでなく発現レベルも確認可能である。よって、遺伝子はそれらの組織発現それ自体とその組織における発現レベルに基づいて分類することができる。これは、例えば、2つの組織間または3つ以上の組織間の遺伝子発現の

50

関係を確認する上で有用である。従って、ある組織を摂動させ、別の組織における遺伝子発現に対する影響を決定することができる。この文脈において、ある細胞種の、生物学的刺激に応答した別の細胞種に及ぼす影響を測定することができる。このような決定は、例えば、細胞-細胞相互作用の影響を遺伝子発現レベルで知るのに有用である。ある薬剤がある細胞種を処置するために治療的に投与されるが、別の細胞種には望ましくない影響を有する場合、本発明は、望ましくない影響の分子的基礎を決定するためのアッセイを提供し、従って、中和薬を共投与するか、またはそうでなければ望ましくない影響を処置する機会を提供する。同様に、単一細胞種内であっても、望ましくない生物学的効果を分子レベルで決定することもできる。よって、標的遺伝子以外の発現に対する薬剤の影響を確認し、中和することができる。

10

**【0481】**

別の実施形態では、前記アレイは、アレイにおける1以上の遺伝子の発現の経時的推移をモニタリングするために使用することができる。このようなことは、本明細書に開示されるように、例えば、広汎性発達障害、広汎性発達障害の進行、および広汎性発達障害と関連づけられた細胞形質転換などのプロセスの発症など、様々な生物学的状況で起こり得る。

**【0482】**

前記アレイはまた、ある遺伝子の、同じ細胞または異なる細胞における他の遺伝子の発現に及ぼす影響を確認するために有用である。これは例えば、最終的なまたは下流の標的が調節できない場合に、治療介入のための別の分子標的の選択を提供する。

20

**【0483】**

前記アレイはまた、正常細胞および異常細胞における1以上の遺伝子の差次的発現パターンを確認するためにも有用である。これは診断または治療介入のための分子標的として役立ち得る遺伝子バッテリーを提供する。

**【0484】****VII. サンプルを得るための方法**

本発明の方法に有用なサンプルとしては、本発明のマーカを発現する任意の組織、細胞、生検、または体液サンプルが含まれる。一実施形態では、サンプルは組織、細胞、全血、血清、血漿、頬側搔爬物、唾液、脳脊髄液、尿、糞便または気管支肺胞洗浄液であり得る。一実施形態では、組織サンプルは、脳組織サンプルを含め、広汎性発達障害サンプルである。

30

**【0485】**

身体サンプルは、例えば、生検の使用、またはある領域を搔き取るもしくは綿棒でぬぐうこと、または針を用いて体液を吸引することによるなど、当技術分野で公知の様々な技術によって被験体から得ることができる。様々な身体サンプルを回収するための方法は当技術分野で周知である。

**【0486】**

本発明のマーカを検出および定量するために好適な組織サンプルは、当業者に公知の方法に従って、新生物とするか、凍結させるか、または固定することができる。好適な組織サンプルは好ましくは切片化し、さらなる分析のために顕微鏡スライド上に置く。あるいは、固体サンプル、すなわち、組織サンプルは可溶化し、および/またはホモジナイズした後、可溶性抽出物として分析することができる。

40

**【0487】**

一実施形態では、新しく得た生検サンプルを、例えば、液体窒素またはジフルオロジクロロメタンを用いて凍結させる。この凍結サンプルを切片化のために例えばOCTを用いてマウントし、クリオスタットにて連続切片とする。これらの連続切片を顕微鏡用スライドガラスに採取する。免疫組織化学染色のために、切片がスライドに確実に固着するように、これらのスライドを例えば、クロムヨウバン、ゼラチンまたはポリ-L-リシンでコーティングしてもよい。別の実施形態では、サンプルを固定し、包埋した後切片化する。例えば、組織サンプルを例えば、ホルマリン中で固定し、一連の脱水を行い、例えば

50

、パラフィンに包埋する。

【0488】

ひと度サンプルが得られれば、本発明のマーカ-を検出し定量するために好適であることが当技術分野で知られている任意の方法を使用することができる（核酸レベルまたはタンパク質レベルのいずれかで）。このような方法は当技術分野で周知であり、限定されるものではないが、ウエスタンブロット、ノーザンブロット、サザンブロット、免疫組織化学、ELISA、例えば、増幅ELISA、免疫沈降、免疫蛍光、フローサイトメトリー、免疫細胞化学、質量分析、例えば、MALDI-TOFおよびSELDI-TOF、核酸ハイブリダイゼーション技術、核酸逆転写法、および核酸増幅法が挙げられる。特定の実施形態では、本発明のマーカ-の発現は、例えば、これらのタンパク質と特異的に結合する抗体を用いて、タンパク質レベルで検出される。

10

【0489】

サンプルは、本発明のマーカ-が抗体結合に利用されやすくするための修飾を行う必要がある場合がある。免疫細胞化学法または免疫組織化学法の特定の態様では、スライドを前処理バッファーに移し、任意選択により、抗原の接近性を高めるために加熱することができる。前処理バッファー中でサンプルを加熱すると、細胞の脂質二重膜が急速に破壊され、抗原が抗体結合により利用されやすくなる（新鮮標本の場合にはそうであり得るが、固定標本では一般にそうであるとは言えない）。「前処理バッファー」および「調製バッファー」という用語は本明細書では、細胞学的または組織学的サンプルを免疫染色用に、特に本発明のマーカ-の抗体結合への利用度を高めることにより調製するために使用されるバッファーを意味して互換的に使用される。前処理バッファーは、pH特異的塩溶液、ポリマー、洗剤、または非イオン性または陰イオン性界面活性剤（例えば、エチルオキシル化陰イオン性または非イオン性界面活性剤）、アルカノエートもしくはアルコキシレートまたはさらにこれらの界面活性剤のブレンドまたはさらに胆汁酸塩の使用を含み得る。前処理バッファーは、例えば、0.1%～1%のデオキシコール酸の溶、ナトリウム塩、またはラウレス-13-カルボン酸ナトリウム（例えば、Sandopan LS）の溶液または、およびエトキシル化陰イオン性複合体であり得る。いくつかの実施形態では、前処理バッファーはまた、スライド保存バッファーとしても使用可能である。

20

【0490】

当技術分野で公知の抗原賦活法を含め、本発明のマーカ-タンパク質を抗体結合により利用されやすくするためのいずれの方法を本発明の実施に用いてもよい。例えば、Bibbo, et al. (2002) Acta. Cytol. 46:25-29; Saqi, et al. (2003) Diagn. Cytopathol. 27: 365-370; Bibbo, et al. (2003) Anal. Quant. Cytol. Histol. 25:8-11参照、これらのそれぞれの全内容は参照により本明細書に組み入れられる。

30

【0491】

マーカ-タンパク質の利用度を高めるための前処理の後、サンプルを、適当なブロッキング剤、例えば、過酸化水素などのペルオキシダーゼブロッキング試薬を用いてブロッキングすることができる。いくつかの実施形態では、これらのサンプルは、抗体の非特異的結合を妨げるためにタンパク質ブロッキング試薬を用いてブロッキングすることができる。タンパク質ブロッキング試薬は、例えば、精製カゼインを含み得る。本発明のマーカ-と特異的に結合する抗体、特に、モノクローナルまたはポリクローナル抗体を、次にサンプルとともにインキュベートする。当業者ならば、場合によっては、患者サンプルにおいて本発明のマーカ-タンパク質上の複数のエピト-ブを検出することにより、より正確な予測または診断が得られることを認識するであろう。よって、特定の実施形態では、本発明のマーカ-の異なるエピト-ブに対する少なくとも2つの抗体が使用される。2つ以上の抗体を使用する場合、これらの抗体は、個々の抗体試薬として順次または抗体カクテルとして同時に、単一のサンプルに加えることができる。あるいは、各個の抗体を同じ患者由来の別個のサンプルに加え、得られたデータをプールしてもよい。

40

【0492】

抗体結合を検出するための技術は当技術分野で周知である。本発明のマーカ-への抗体

50

結合は、抗体結合のレベル、従ってマーカータンパク質発現のレベルに相当する検出可能なシグナルを生じる化学試薬の使用によって検出可能である。本発明の免疫組織化学法または免疫細胞化学法の1つでは、抗体結合は、標識されたポリマーにコンジュゲートされている二次抗体の使用によって検出される。標識されたポリマーの例としては、限定されるものではないが、ポリマー-酵素コンジュゲートが挙げられる。これらの複合体中の酵素は一般に、抗原-抗体結合部位において色素原の付着を触媒するために使用され、それにより、目的のバイオマーカーの発現レベルに相当する細胞染色が得られる。特に注目される酵素としては、限定されるものではないが、セイヨウワサビペルオキシダーゼ(HRP)およびアルカリ性ホスファターゼ(AP)が挙げられる。

#### 【0493】

本発明の特定の免疫組織化学法または免疫細胞化学法の1つでは、本発明のマーカーへの抗体結合は、二次抗体とコンジュゲートされたHRP標識ポリマーの使用によって検出される。抗体結合はまた、モノクローナルまたはポリクローナル抗体と結合する種特異的プローブ試薬と、その種特異的プローブ試薬と結合するHRPコンジュゲートポリマーの使用によって検出することもできる。スライドは抗体結合に関して任意の色素源(chromagen)、例えば、色素源(chromagen) 3, 3-ジアミノベンジジン(DAB)を用いて染色し、その後、ヘマトキシリンおよび任意選択により水酸化アンモニウムまたはTBS/Tween-20などの青味剤で対比染色を行う。他の好適な色素源としては、例えば、3-アミノ-9-エチルカルバゾール(AEC)が挙げられる。本発明のいくつかの態様では、スライドは、細胞染色、例えば、蛍光染色(すなわち、マーカー発現)を評価するために細胞検査士および/または病理医により顕微鏡で検証される。あるいは、サンプルは、自動顕微鏡によって、または陽性染色細胞の同定を助けるコンピューターソフトウェアの支援で人員によって検証されてもよい。

#### 【0494】

抗体結合の検出は、抗マーカー抗体を検出可能な物質とカップリングさせることによって容易にすることができる。検出可能な物質の例としては、様々な酵素、補欠分子族、蛍光物質、発光物質、生物発光物質、および放射性物質が挙げられる。好適な酵素の例としては、セイヨウワサビペルオキシダーゼ、アルカリ性ホスファターゼ、 $\alpha$ -ガラクトシダーゼ、またはアセチルコリンエステラーゼが挙げられ；好適な補欠分子族複合体の例としては、ストレプトアビジン/ビオチンおよびアビジン/ビオチンが挙げられ；好適な蛍光物質の例としては、ウンベリフェロン、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシアネート、ローダミン、ジクロロトリアジニルアミンフルオレセイン、塩化ダンシルまたはフィコエリトリンが挙げられ；発光物質の例としては、ルミノールが挙げられ；生物発光物質の例としては、ルシフェラーゼ、ルシフェリン、およびエクオリンが挙げられ；好適な放射性物質の例としては、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{35}\text{S}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、または $^3\text{H}$ が挙げられる。

#### 【0495】

本発明の一実施形態では、凍結サンプルが上記のように調製され、その後、例えば、Tris緩衝生理食塩水(TBS)を用いて適当な濃度に希釈された本発明のマーカーに対する抗体で染色される。一次抗体は、これらのスライドをビオチン化抗免疫グロブリン中でインキュベートすることによって検出することができる。このシグナルは、任意選択により、増幅し、抗原のジアミノベンジジン沈降により可視化することができる。さらに、スライドは任意選択により、細胞を可視化するために、例えば、ヘマトキシリンで対比染色することもできる。

#### 【0496】

別の実施形態では、固定および包埋されたサンプルが、本発明のマーカーに対する抗体で染色され、上記のように凍結切片に対して対比染色される。さらに、サンプルは任意選択により、抗体染色を可視化するためにシグナルを増幅する薬剤で処理してもよい。例えば、ペルオキシダーゼにより触媒されるビオチニル-チラミドの付加を用いてもよく、その後、これをペルオキシダーゼコンジュゲートストレプトアビジン(Catalyzed

10

20

30

40

50

Signal Amplification (CSA) System、DAKO、カービ  
ンテリア、CA)と反応させる。

【0497】

組織に基づくアッセイ(すなわち、免疫組織化学)は、本発明のマーカ-を検出および  
定量する好ましい方法である。一実施形態では、本発明のマーカ-の存在または不在を免  
疫組織化学により決定することができる。一実施形態では、免疫組織化学分析法では、マ  
ーカ-を欠く細胞が染まらないように低濃度の抗マーカ-抗体を使用する。別の実施形態  
では、本発明のマーカ-の存在または不在は、マーカ-タンパク質を欠く細胞が強く染ま  
るように高濃度の抗マーカ-抗体を使用する免疫組織化学法を用いて決定される。染まら  
ない細胞は、突然変異したマーカ-を含んでいて抗原性的に認識可能なマーカ-タンパク  
質を産生できないか、またはマーカ-レベルを調節する経路が調節を欠き、定常状態でこ  
わすかなマーカ-タンパク質しか発現しない細胞である。

10

【0498】

当業者ならば、本発明の方法を実施するために使用される特定の抗体の濃度は、結合時  
間、本発明のマーカ-に対する抗体の特異性のレベル、およびサンプル調製の方法などの  
因子に極めて依存的であることを認識するであろう。さらに、複数の抗体が使用される場  
合には、必要な濃度は、抗体がサンプルに適用される順序、例えば、カクテルとして同時  
にかまたは個々の抗体試薬として順次かによって影響を受け得る。さらに、所望のシグナ  
ルノイズ比を得るためには、本発明のマーカ-との抗体結合を可視化するために使用され  
る検出化学もまた最適化しなければならない。

20

【0499】

本発明の一実施形態では、プロテオミクス法、例えば、質量分析が、本発明のマーカ-  
タンパク質を検出および定量するために使用される。例えば、タンパク質結合チップへの  
、血清などの生体サンプルの適用を含むマトリックス支援レーザー脱離法/イオン化タイ  
ム・オブ・フライト型質量分析(MALDI-TOF MS)または表面増強レーザー脱  
離法/イオン化タイム・オブ・フライト型質量分析(SELDI-TOF MS)(Wright,  
G.L., Jr., et al. (2002) Expert Rev Mol Diagn 2:549; Li, J., et al. (2002) Cl  
in Chem 48:1296; Laronga, C., et al. (2003) Dis Markers 19:229; Petricoin, E.F.,  
et al. (2002) 359:572; Adam, B.L., et al. (2002) Cancer Res 62:3609; Tolson, J.  
, et al. (2004) Lab Invest 84:845; Xiao, Z., et al. (2001) Cancer Res 61:6029)が  
、PY-Shcおよび/またはp66-Shcタンパク質を検出および定量するために使用  
可能である。質量分析法は、例えば、米国特許第5,622,824号、同第5,60  
5,798号および同第5,547,835号に記載されており、これらのそれぞれの全  
内容は、参照により本明細書に組み入れられる。

30

【0500】

他の実施形態では、本発明のマーカ-の発現は核酸レベルで検出される。発現を評価す  
るための核酸に基づく技術は当技術分野で周知であり、例えば、被験体由来のサンプルに  
おけるマーカ-mRNAのレベルを決定することを含む。多くの発現検出法が単離された  
RNAを使用する。mRNAの単離に対しては選択しない任意のRNA単離技術を、本発  
明のマーカ-を発現する細胞からのRNAの精製に使用することができる(例えば、Ausu  
bel et al., ed., (1987-1999) Current Protocols in Molecular Biology (John Wiley  
& Sons, New York参照)。さらに、多数の組織サンプルを、例えば、Chomczyns  
ki(1989、米国特許第4,843,155号)の一段階RNA単離法などの当業者に  
に周知の技術を用いて容易に処理することができる。

40

【0501】

「プローブ」という用語は、本発明のマーカ-と選択的に結合することができる任意の  
分子、例えば、ヌクレオチド転写産物および/またはタンパク質を意味する。プローブは  
、当業者により合成可能であるか、または適当な生物学的調製物に由来し得る。プローブ  
は標識されるように特異的に設計することができる。プローブとして利用可能な分子の例  
としては、限定されるものではないが、RNA、DNA、タンパク質、抗体、および有機

50

分子が挙げられる。

【0502】

単離されたmRNAは、限定されるものではないが、サザンまたはノーザン分析、ポリメラーゼ連鎖反応分析およびプローブアレイを含むハイブリダイゼーションまたは増幅アッセイで使用することができる。mRNAレベルの検出のための1つの方法は、単離されたmRNAを、マーカーmRNAとハイブリダイズすることができる核酸分子(プローブ)と接触させることを含む。核酸プローブは、例えば、全長cDNA、またはその一部、例えば、少なくとも7、15、30、50、100、250または500ヌクレオチド長であって、ストリンジェント条件下でマーカーゲノムDNAと特異的にハイブリダイズするのに十分なオリゴヌクレオチドであり得る。

10

【0503】

一実施形態では、単離されたmRNAをアガロースゲルに流し、そのmRNAをゲルからニトロセルロースなどの膜に移すことによってmRNAを固相表面に固定化し、プローブと接触させる。別の実施形態では、例えば、Affymetrix遺伝子チップアレイにおいて、プローブを固相表面に固定化し、mRNAをこれらのプローブと接触させる。当業者ならば、mRNA検出法をマーカーmRNAのレベルの決定に使用するために容易に適合させることができる。

【0504】

サンプルにおいてマーカーmRNAのレベルを決定するための別法は、例えば、RT-PCR(Mullis、1987、米国特許第4、683、202号に示されている実験具体例)、リガーゼ連鎖反応(Barany(1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:189-193)、自家持続配列複製(Guatelli et al. (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:1874-1878)、転写増幅系(Kwoh et al. (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:1173-1177)、Q-レプリカーゼ(Lizardi et al. (1988) Bio/Technology 6:1197)、ローリングサークル複製(Lizardiら、米国特許第5、854、033号)または他の任意の核酸増幅法による核酸増幅の工程と、その後の、当業者に周知の技術を用いた増幅分子の検出の工程を含む。これらの検出スキームは、核酸分子が極めて少数しか存在しない場合のこのような分子の検出に特に有用である。本発明の特定の態様では、マーカー発現は、定量的蛍光RT-PCR(すなわち、TaqMan(商標)システム)によって評価される。このような方法では一般に、本発明のマーカーに特異的なオリゴヌクレオチドプライマー対を用いる。既知の配列に特異的なオリゴヌクレオチドプライマーを設計するための方法は当技術分野で周知である。

20

30

【0505】

本発明のマーカーの発現レベルは、メンブロット(例えば、ノーザン、サザン、ドットなどのハイブリダイゼーション分析で使用されるもの)、またはマイクロウェル、サンプルチューブ、ゲル、ビーズまたは繊維(または結合した核酸を含む任意の固相支持体)を用いてモニタリングすることができる。米国特許第5、770、722号、同第5、874、219号、同第5、744、305号、同第5、677、195号および同第5、445、934号参照、これらは参照により本明細書に組み入れられる。マーカー発現の決定はまた、液相での核酸プローブの使用も含み得る。

40

【0506】

本発明の一実施形態では、本発明のマーカーの発現を検出するためにマイクロアレイが使用される。マイクロアレイは、異なる実験間で再生可能であるために、この目的に特によく適している。DNAマイクロアレイは、多数の遺伝子の発現レベルの同時測定のための1つの方法を提供する。各アレイは、固相支持体に結合された捕捉プローブの再生可能なパターンからなる。標識されたRNAまたはDNAをこのアレイ上の相補的プローブとハイブリダイズさせた後、レーザースキニングにより検出する。アレイ上の各プローブのハイブリダイゼーション強度を決定し、相対的遺伝子発現レベルを表す定量値に変換する。米国特許第6、040、138号、同第5、800、992号、同第6、020、135号、同第6、033、860号、および同第6、344、316号参照、これらは参

50

照により本明細書に組み入れられる。高密度オリゴヌクレオチドアレイは、サンプル中の多数のRNAの遺伝子発現プロフィールを決定するために特に有用である。

【0507】

リン酸化されたマーカーの量、および/または本発明のマーカーの量の数学的関係を使用して、当業者に公知の回帰分析の方法を含み得る本発明の方法を用い、広汎性発達障害に関して処置される被験体における広汎性発達障害の再発リスク、広汎性発達障害に関して処置される被験体の生存率、広汎性発達障害が攻撃性であるかどうか、広汎性発達障害を治療するための治療計画の有効性を計算することができる。例えば、好適な回帰モデルとしては、限定されるものではないが、CARTモデル（例えば、Hill, T, and Lewicki, P. (2006) “STATISTICS Methods and Applications” StatSoft, Tulsa, OK）、Coxモデル（例えば、www.evidence-based-medicine.co.uk）、指数関数、正規および対数正規モデル（例えば、www.obgyn.cam.ac.uk/mrg/statsbook/stsurvan.html）、ロジスティックモデル（例えば、www.en.wikipedia.org/wiki/Logistic\_regressionまたはhttp://faculty.chass.ncsu.edu/garson/PA765/logistic.htm）、パラメトリック、ノンパラメトリック、セミパラメトリックモデル（例えば、www.socserv.mcmaster.ca/jfox/Books/Companion）、線型モデル（例えば、www.en.wikipedia.org/wiki/Linear\_regressionまたはhttp://www.curvefit.com/linear\_regression.htm）、また加法モデル（例えば、www.en.wikipedia.org/wiki/Generalized\_additive\_modelまたはhttp://support.sas.com/rnd/app/da/new/dagam.html）が挙げられる。

10

【0508】

一実施形態では、回帰分析は、リン酸化されたマーカーの量を含む。別の実施形態では、回帰分析は、マーカーの数学的関係を含む。さらに別の実施形態では、リン酸化されたマーカーの量、および/またはマーカーの数学的関係の回帰分析は、さらなる臨床的および/または分子的共変数を含み得る。このような臨床的共変数としては、限定されるものではないが、リンパ節の状態、腫瘍ステージ、腫瘍グレード、腫瘍サイズ、治療計画、例えば、化学療法および/または放射線療法、臨床転帰（例えば、再発、疾患特異的生存率、治療不成功）、ならびに/または診断後の時間、療法開始後の時間、および/もしくは治療の終了後の時間の関数としての臨床転帰が挙げられる。

20

【0509】

別の実施形態では、リン酸化されたマーカーの量、および/またはマーカーの量の数学的関係を使用して、当業者に公知の回帰分析の方法を含み得る本発明の方法を用い、腫瘍性障害に関して処置される被験体における腫瘍性障害の再発リスク、腫瘍性障害に関して処置される被験体の生存率、腫瘍性障害が攻撃性であるかどうか、腫瘍性障害を治療するための治療計画の有効性を計算することができる。例えば、好適な回帰モデルとしては、限定されるものではないが、CARTモデル（例えば、Hill, T, and Lewicki, P. (2006) “STATISTICS Methods and Applications” StatSoft, Tulsa, OK）、Coxモデル（例えば、www.evidence-based-medicine.co.uk）、指数関数、正規および対数正規モデル（例えば、www.obgyn.cam.ac.uk/mrg/statsbook/stsurvan.html）、ロジスティックモデル（例えば、www.en.wikipedia.org/wiki/Logistic\_regressionまたはhttp://faculty.chass.ncsu.edu/garson/PA765/logistic.htm）、パラメトリック、ノンパラメトリック、セミパラメトリックモデル（例えば、www.socserv.mcmaster.ca/jfox/Books/Companion）、線型モデル（例えば、www.en.wikipedia.org/wiki/Linear\_regressionまたはhttp://www.curvefit.com/linear\_regression.htm）、また加法モデル（例えば、www.en.wikipedia.org/wiki/Generalized\_additive\_modelまたはhttp://support.sas.com/rnd/app/da/new/dagam.html）が挙げられる。

30

40

【0510】

一実施形態では、回帰分析は、リン酸化されたマーカーの量を含む。別の実施形態では、回帰分析は、マーカーの数学的関係を含む。さらに別の実施形態では、リン酸化されたマーカーの量、および/またはマーカーの数学的関係の回帰分析は、さらなる臨床的および/または分子的共変数を含み得る。このような臨床的共変数としては、限定されるもの

50

ではないが、リンパ節の状態、腫瘍ステージ、腫瘍グレード、腫瘍サイズ、治療計画、例えば、化学療法および/または放射線療法、臨床転帰（例えば、再発、疾患特異的生存率、治療不成功）、ならびに/または診断後の時間、療法開始後の時間、および/もしくは治療の終了後の時間の関数としての臨床転帰が挙げられる。

#### 【0511】

##### V I I I . キット

本発明はまた、疾患または障害（例えば、広汎性発達障害、例えば、自閉症および/またはアルツハイマー障害）、障害の再発、または障害に関して処置される被験体の生存率を予測するための組成物およびキットを提供する。これらのキットには、下記のもの：本発明のマーカースと特異的に結合する検出可能な抗体、本発明のマーカースと特異的に結合する検出可能な核酸、染色用の被験体の組織サンプルを採取および/または調製するための試薬、ならびに使用説明書、のうち1以上を含む。

10

#### 【0512】

本発明のキットは、任意選択により本発明の方法を実施するために有用な付加的成分を分でもよい。例として、前記キットは、相補的核酸をアニーリングするための、または抗体をそれが特異的に結合するタンパク質と結合させるために好適な流体（例えば、SSCバッファー）、1以上のサンプルコンパートメント、本発明の方法の実施を記載した説明書類、組織特異的対照/標品を含み得る。

#### 【0513】

##### I X . スクリーニングアッセイ

本発明に標的としては、限定されるものではないが、本明細書に記載の遺伝子およびタンパク質が含まれる。同定されたマーカースの調節因子を同定するために有用なスクリーニングアッセイを以下に記載する。

20

#### 【0514】

本発明はまた、本発明のマーカースの発現および/または活性を変調することにより罹患細胞の状態を変調する調節因子、すなわち、候補または試験化合物または薬剤（例えば、タンパク質、ペプチド、ペプチドミメティック、ペプチド、低分子または他の薬物）を同定するための方法（本明細書では「スクリーニングアッセイ」とも呼ばれる）を提供する。このようなアッセイは一般に、本発明のマーカースと1以上のアッセイ成分との間の反応を含む。他の成分は、試験化合物自体か、または試験化合物と本発明のマーカースの天然結合相手の組合せかのいずれかであり得る。本明細書に記載されているものなどのアッセイによって同定された化合物は、例えば、疾患を変調する、例えば、阻害する、改善する、治療する、または予防するために有用であり得る。

30

#### 【0515】

本発明のスクリーニングアッセイにおいて使用される試験化合物は、天然および/または合成化合物の系統的ライブラリーを含む、利用可能ないずれの供給源から得られるものでもよい。試験化合物はまた、生物学的ライブラリー；ペプチドライブラリー（ペプチドの官能基を有するが、酵素分解耐性のな非ペプチド骨格を備え、それでも生物活性を残す分子のライブラリー、例えば、Zuckermann et al., 1994, J. Med. Chem. 37:2678-85 参照）；空間的にアドレス可能な固相または溶相ライブラリー；デコンヴォリューションを必要とする合成ライブラリー法；「1ピース1化合物」ライブラリー法；およびアフィニティークロマトグラフィー選択を使用する合成ライブラリー法を含む当技術分野で公知のコンビナトリアルライブラリー法における多数のアプローチのいずれによっても得られる。生物学的ライブラリーおよびペプチドライブラリーアプローチはペプチドライブラリーに限定されるが、他の4つのアプローチは、ペプチド、非ペプチドオリゴマーまたは化合物の低分子ライブラリーに適用可能である(Lam, 1997, Anticancer Drug Des. 12:145)。

40

#### 【0516】

分子ライブラリーの合成のための方法の例は、例えば、DeWitt et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 90:6909; Erb et al. (1994) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:

50

11422; Zuckermann et al. (1994). J. Med. Chem. 37:2678; Cho et al. (1993) Science 261:1303; Carrell et al. (1994) Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 33:2059; Carrell et al. (1994) Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 33:2061; および Gallop et al. (1994) J. Med. Chem. 37:1233 など、当技術分野で見出せる。

【0517】

化合物のライブラリーは、溶液中（例えば、Houghten, 1992, Biotechniques 13:412-421）、またはビーズ上(Lam, 1991, Nature 354:82-84)、チップ上(Fodor, 1993, Nature 364:555-556)、細菌およびもしくは孢子上(Ladner、米国特許第5,223,409号)、プラスミド上(Cull et al, 1992, Proc Natl Acad Sci USA 89:1865-1869)またはファージ上(Scott and Smith, 1990, Science 249:386-390; Devlin, 1990, Science 249:404-406; Cwirla et al, 1990, Proc. Natl. Acad. Sci. 87:6378-6382; Felici, 1991, J. Mol. Biol. 222:301-310; Ladner, 前掲)に作製することができる。

10

【0518】

本発明のスクリーニング方法は、細胞、例えば、罹患細胞を試験化合物と接触させること、および前記細胞において本発明のマーカの発現および/または活性を変調する試験化合物の能力を決定することを含む。本発明のマーカの発現および/または活性は、本明細書に記載されているとおりに決定することができる。

【0519】

別の実施形態では、本発明は、本発明のマーカまたはその生物学的に活性な部分の基質である候補または試験化合物をスクリーニングするためのアッセイを提供する。さらに別の実施形態では、本発明は、本発明のマーカまたはその生物学的に活性な部分と結合する候補または試験化合物をスクリーニングするためのアッセイを提供する。マーカと直接結合する試験化合物の能力の決定は、例えば、化合物と放射性同位元素または酵素標識をカップリングすることによって達成することができ、これにより、化合物のマーカとの結合が、複合体において標識マーカ化合物を検出することにより決定することができる。例えば、化合物（例えば、マーカ基質）を $^{131}\text{I}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{35}\text{S}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、または $^3\text{H}$ で、直接的または間接的に標識し、放射性同位元素を放射線放射(radioemission)の直接計数またはシンチレーション計数により検出することができる。あるいは、アッセイ成分を例えば、セイヨウワサビペルオキシダーゼ、アルカリ性ホスファターゼ、またはルシフェラーゼで酵素標識し、この酵素標識を適当な基質の生成物への変換を測定することによって検出することができる。

20

30

【0520】

本発明はさらに、上記のスクリーニングアッセイにより同定された新規な薬剤に関する。よって、適当な動物モデルで本明細書に記載のように同定された薬剤をさらに使用することも本発明の範囲内である。例えば、本明細書に記載のように同定された、本発明のマーカの発現および/または活性を変調することができる薬剤は、このような薬剤による処置の有効性、毒性、または副作用を決定するために動物モデルで使用することができる。あるいは、本明細書に記載のように同定された薬剤は、このような薬剤の作用機序を決定するために動物モデルで使用することもできる。さらに、本発明は、上記のような処置のための上記スクリーニングアッセイにより同定された新規薬剤の使用に関する。

40

【0521】

X. 疾患状態の処置

本発明は、必要とする被験体（例えば哺乳動物、例えばヒト）に表2~6に挙げられたタンパク質のうち1以上を投与することにより、広汎性発達障害、または広汎性発達障害の症状を治療するための方法を提供する。一実施形態では、広汎性発達障害は自閉症である。一実施形態では、広汎性発達障害はアルツハイマー病である。他の実施形態では、広汎性発達障害は本明細書に記載の障害のいずれか1つである。

【0522】

一態様において、本発明は、被験体において広汎性発達障害を治療する、その症状を緩和する、その進行を阻害する、または予防するための方法を提供し、その方法は、必要と

50

する被験体に表 2 ~ 6 に挙げられたマーカーのうち 1 以上を含む治療上有効な量の医薬組成物を投与することを含む。一実施形態では、マーカーはタンパク質またはそのフラグメントである。一実施形態では、マーカーは、タンパク質マーカーまたはそのフラグメントをコードまたは発現する核酸、例えば、RNA または DNA である。このような方法に好適なマーカーは、本明細書でさらに詳しく記載する。

【0523】

別の態様において、本発明は、被験体において広汎性発達障害を治療する、その症状を緩和する、その進行を阻害する、または予防するための方法を提供し、その方法は、必要とする被験体に表 2 ~ 6 に挙げられたマーカーのうち 1 以上の発現または活性を変調する薬剤を含む治療上有効な量の医薬組成物を投与することを含む。

10

【0524】

一実施形態では、表 2 ~ 6 に挙げられたマーカーのうち 1 以上の発現または活性を変調する薬剤は、本明細書に記載のスクリーニングアッセイのいずれか 1 つを用いて同定される。一実施形態では、薬剤は、表 2 ~ 6 に挙げられたマーカーのうち 1 以上の発現または活性を阻害する。一実施形態では、前記薬剤は、表 2 ~ 6 に挙げられたマーカーのうち 1 以上の発現または活性を増強する。

【0525】

本発明はさらに、被験体において広汎性発達障害または広汎性発達障害の症状を治療するための治療計画の有効性を評価するための方法を提供し、その方法は、(1) 前記被験体に治療計画の少なくとも一部を投与する前に被験体から得られた第 1 の生体サンプル中に存在する、表 2 ~ 6 に挙げられたマーカーのうち 1 以上の発現レベルを、前記マーカーを前記マーカーが検出できるように変換する試薬を用いて決定すること；(2) 前記被験体に治療計画の少なくとも一部を投与した後に被験体から得られた第 2 の生体サンプル中に存在する、表 2 ~ 6 に挙げられたマーカーのうち 1 以上の発現レベルを、前記マーカーを前記マーカーが検出できるように変換する試薬を用いて決定すること；(3) 前記被験体に治療計画の少なくとも一部を投与する前に被験体から得られた第 1 のサンプル中に存在する、表 2 ~ 6 に挙げられた 1 以上のマーカーの発現レベルを、治療計画の少なくとも一部を投与した後に被験体から得られた第 2 のサンプル中に存在する前記 1 以上のマーカーの発現レベルと比較すること；および(4) 前記治療計画が広汎性発達障害または広汎性発達障害の症状を治療するために有効であるかどうかを評価することを含む。

20

30

【0526】

一実施形態では、第 1 のサンプルに比べての第 2 のサンプルにおける 1 以上のマーカーの発現レベルの変調が、その治療計画が被験体における広汎性発達障害または広汎性発達障害の症状を治療するために有効であるという指標となる。一実施形態では、第 1 のサンプルに比べての第 2 のサンプルにおける 1 以上のマーカーの発現レベルが同等であることが、その治療計画が被験体における広汎性発達障害または広汎性発達障害の症状を治療するために有効でないという指標となる。

【0527】

いくつかの実施形態では、第 2 のサンプルにおける発現レベルの、正常または対照発現レベルに近づく変調、例えば、第 1 のサンプルにおける発現レベルよりも正常または対照発現レベルに近いことが、その治療計画が被験体における広汎性発達障害または広汎性発達障害の症状を治療するために有効であるという指標となる。

40

【0528】

一実施形態では、前記被験体は広汎性発達障害に対する治療を受けている。いくつかの実施形態では、前記方法は、前記治療計画が広汎性発達障害または広汎性発達障害の症状を治療するために有効であると判定された被験体に対して治療計画の投与を継続すること、および/または前記治療計画が広汎性発達障害または広汎性発達障害の症状を治療するために有効でないとして判定された被験体に対して治療計画の投与を中止することをさらに含む。

【0529】

50

別の態様において、本発明は、被験体において広汎性発達障害または広汎性発達障害の症状を治療するための化合物を同定する方法を提供し、その方法は、(1)生体サンプルと試験化合物を接触させること；(2)前記生体サンプル中に存在する、表2～6に挙げられた1以上のマーカーの発現および/または活性のレベルを決定すること；(3)前記生体サンプルにおける1以上のマーカーの発現および/または活性のレベルを試験化合物に接触させていない対照サンプルのレベルと比較すること；および(4)前記生体サンプルにおける1以上のマーカーの発現および/または活性のレベルを変調する試験化合物を選択し、それにより、被験体において広汎性発達障害または広汎性発達障害の症状を治療するための化合物を同定することを含む。

【0530】

一実施形態では、生体サンプルは、広汎性発達障害または広汎性発達障害の症状に罹患している被験体から得る。一実施形態では、被験体はヒトである。一実施形態では、生体サンプルは、被験体、例えば、広汎性発達障害または広汎性発達障害の症状に罹患している被験体由来の組織または生物学的流体である。一実施形態では、生体サンプルは、*in vitro*アッセイにおいて使用するための細胞、例えば、被験体由来の一次細胞または不死化細胞を含む。

【0531】

一実施形態では、試験化合物は、表2～6に挙げられた1以上のマーカーの発現および/または活性を上方調節する。一実施形態では、試験化合物は、表2～6に挙げられた1以上のマーカー(one or markers)の発現および/または活性を下方調節する。一実施形態では、試験化合物は、表2～6に挙げられた1以上のマーカーの発現および/または活性を、対照サンプルの発現レベルと類似または同一のレベルに向かって、またはそのレベルに変調する。

【0532】

別の態様において、本発明は、広汎性発達障害を有する被験体を治療計画で治療する方法を提供し、その方法は、その治療計画に応答する対照マーカーの発現レベルと比較した場合に表2～6に挙げられたマーカーのうち1以上の発現レベルの変調を示す被験体を選択する工程；およびその被験体に治療上有効な量の治療計画を投与する工程を含む。

【0533】

本発明を以下の実施例によりさらに説明するが、それらの実施例は限定と解釈されるべきでない。本出願の全体に引用されている全ての参照文献および公開特許および特許出願の内容は参照により本明細書に組み入れられる。

【0534】

本発明の具体例：

本発明を以下の実施例によりさらに説明するが、それらの実施例は限定と解釈されるべきでない。本出願の全体に引用されている全ての参照文献および公開特許および特許出願の内容は参照により本明細書に組み入れられる。

【実施例】

【0535】

実施例1：自閉症サンプルと正常サンプルにおいてユニークに上方調節または下方調節されていると同定されるタンパク質

上記のプラットフォームテクノロジーを自閉症患者および自閉症患者の正常な非罹患親または兄弟由来のリンパ芽球とともに用い、自閉症の疾患状態においてユニークに上方調節または下方調節されているタンパク質を同定するための研究を行った。4名の自閉症患者および5名の非罹患対照由来のリンパ芽球サンプル(図9参照)をCoriell Cell Repositories(403 Haddon Avenue Camden, New Jersey 08103)から入手した細胞株を使用することにより調製した。これらの研究の結果を、上記のようなプラットフォームテクノロジー内のデータ処理を用いて解析した。

【0536】

これらの研究の結果から、自閉症患者の正常な非罹患親または兄弟由来のサンプルに比

10

20

30

40

50

べて自閉症患者由来のサンプルでユニークに上方調節または下方調節されているグローバルディファレンシャルネットワークハブ/ノードとして、SPTAN1、HSP90B1、GLUD1、およびCORO1Aなどのタンパク質が同定された(図10参照)。さらに、これらの研究から、自閉症患者の正常な親または兄弟由来のサンプルに比べて自閉症患者由来のサンプルでユニークに上方調節または下方調節されているとして、SPTAN1、HSP90B1、GLUD1、およびCORO1Aのネットワーク内に以下のタンパク質が同定された。

【表2】

SPTAN1, HSP90B1, SERPINB9, LETM1, CUX1, EIF3G, LCP1, CORO1A, ANXA6, CAPG, APMAP, COTL1, FKBP4, DIABLO, HLA-DRA, HLA-DQB1, FKBP4, IGLC1, TXNDC5, GLUD1, PCNA, PDIA4, およびMGEA5

10

【0537】

これらの結果は、SPTAN1、HSP90B1、SERPINB9、LETM1、CUX1、EIF3G、LCP1、CORO1A、ANXA6、CAPG、APMAP、COTL1、FKBP4、DIABLO、HLA-DRA、HLA-DQB1、FKBP4、IGLC1、TXNDC5、GLUD1、PCNA、PDIA4、およびMGEA5などのタンパク質が、広汎性発達障害、例えば自閉症を診断するためのマーカー、広汎性発達障害、例えば自閉症を発症する素因またはリスクを同定するためのマーカーとして、および広汎性発達障害、例えば自閉症の医薬治療を開発するために有用な標的として役立つことを示した。

20

【0538】

スペクトリンA2(SPTAN1)は、自閉症により影響を受ける分子実体の1つとして同定された。SPTAN1は非赤血球で発現されるタンパク質であり、「スペクトリンA2」としても知られる。SPTAN1の突然変異は、ミエリン形成不全、四肢麻痺および発達遅延などのウエスト症候群に関連している。自閉症患者の脳およびリンパ芽球において異常なスペクトリン特徴が明白である。SPTAN1の遺伝子座はTSC1の遺伝子座と近接している。SPTAN1の発現は、T細胞の成熟およびCD4/CD8比に影響を及ぼす。SPTAN1は、T細胞の活性化において特徴的な凝集パターンを有する。

30

【0539】

コロニン1A(CORO1A)は、自閉症ネットワークにおいてハブと同定された。CORO1Aは、シグナル伝達、アポトーシス、および遺伝子調節経路(pathways)に関与しているアクチン結合タンパク質である。CORO1Aは、T細胞の生存(survival)、活性化および遊走における重要な役者である。CORO1Aの突然変異は、末梢欠乏症をもたらす胸腺からのT細胞の移出と関連づけられている。CORO1Aの突然変異は、重症複合免疫不全およびADHDと関連づけられている。

【0540】

GLUD1は、アンモニア解毒に重要な役割を果たすミトコンドリア特異的タンパク質である。自閉症患者由来のサンプルにおいて変調されるとのGLUD1の同定に基づけば、自閉症血漿に見られるアンモニアレベルの上昇は、ミトコンドリアの機能不全、例えば、GLUD1の機能不全による可能性がある。GLUD1の活性はATPレベルにより影響を受ける。

40

【0541】

HSP90B1は、GRPメンバーであるER特異的熱ショックタンパク質である。HSP90B1は、インテグリンのマスターシャペロンであり、TおよびBリンパ球生成レギュレーターである。HSP90B1は、自閉症に関連していると報告されている遺伝子と相互作用する。

【0542】

50

実施例 2：疾患状態により駆動され、かつ、自閉症およびアルツハイマー病に共通と同定された分子実体

上記のプラットフォームテクノロジーを自閉症またはアルツハイマー病患者由来および正常な対照個体、例えば、自閉症および/またはアルツハイマー患者の罹患していない親または兄弟由来のリンパ芽球とともに用い、対照に比べてユニークに上方調節または下方調節されており、かつ、自閉症およびアルツハイマー患者の両方に共通しているタンパク質を同定するための研究を行った。4名の自閉症患者と5名の非罹患対照(図9参照)、および4名のアルツハイマー患者と4名の健常対照(年齢および性別が適合する)由来のリンパ芽球サンプルを、Coriell Cell Repositories(403 Haddon Avenue Camden, New Jersey 08103)から入手した細胞株を使用することにより調製した。これらの研究の結果を、上記のようなプラットフォームテクノロジー内のデータ処理を用いて解析した。

10

【0543】

これらの研究の結果は、正常な非罹患個体(例えば、自閉症またはアルツハイマー患者の罹患していない親または兄弟)由来のサンプルに比べた場合に自閉症およびアルツハイマー病患者由来の両サンプルで共通して変調されていた、例えば、上方調節または下方調節されていたことを示した。図11参照。

【表3】

HBA2, AHSG, LMNA, P4HB, TXNDC5, VIM, DDX39A, ZNF207, EIF3G, HPRT1, PEA15, IGHM, MX1, ETFB, EIF3L, TPM4, GTF2I, TUBA4A, RPS15, HLA-A, TXNL1, PSME1, TSN, FARSA, MTHFD1, およびHSPH1

20

【0544】

これらの結果は、HBA2、AHSG、LMNA、P4HB、TXNDC5、VIM、DDX39A、ZNF207、EIF3G、HPRT1、PEA15、IGHM、MX1、ETFB、EIF3L、TPM4、GTF2I、TUBA4A、RPS15、HLA-A、TXNL1、PSME1、TSN、FARSA、MTHFD1、およびHSPH1などのタンパク質が、広汎性発達障害、例えば、自閉症および/またはアルツハイマー病を診断するためのマーカー、広汎性発達障害、例えば、自閉症およびまたはアルツハイマー病を発症する素因またはリスクを同定するためのマーカーとして、および広汎性発達障害、例えば、自閉症および/またはアルツハイマー病の医薬治療を開発するために有用な標的として役立ち得ることを示した。

30

【0545】

実施例 3：インタロガティブ・バイオロジー・ディスカバリー・プラットフォームを用いて同定された新規な自閉症スペクトラム障害(ASD)バイオマーカー

出願者らは、ここで、自閉症スペクトラム障害、例えば自閉症の新規なバイオマーカーを同定するために、細胞生物学とインタロガティブ・ディスカバリー・プラットフォーム・テクノロジー内のマルチオミクスプラットフォームの能力を組み合わせた新規なアプローチを採用した。自閉症スペクトラム障害、特に自閉症の細胞モデル系を開発して使用したが、これは、自閉症障害を表すための細胞モデルとして用いた患者から得られたリンパ芽球細胞株からなった。これらの細胞を、広汎性発達障害、例えば自閉症にユニークな病的プロテオーム変化を捕捉するために、MIMで処理するかまたは処理なしとした。細胞中および分泌型のペプチド/タンパク質をプロファイリングし、相対的に定量するために、2D-ナノLC-MSMSワークフローを開発した。本実施例ではプロテオミクス解析のみを行ったが、インサイトフルなバイオロジカルリードアウトを得るために、フローサイトメトリー、細胞ベースアッセイ(例えば、ミトコンドリアATPおよびROSアッセイ)および機能的ゲノムプラットフォーム(例えば、一塩基多型(SNP)データ)からのデータを含む、複数のデータ出力をプラットフォームテクノロジーで容易に使用、解析

40

50

することができる。in vitro、in vivo、およびin silicoモデリングを用いて一致するデータ傾向を調べることを試みて、本実施例で得られた全データ（すなわち、プロテオミクスデータ）をAIベースREFS（商標）インフォマティクスプラットフォームにかけた。このプロセスを用いることにより、疾患表現型と関連づけられた細胞シグナル伝達ネットワークの分子フィンガープリントが開発され、それにより、疾患（例えば広汎性発達障害）の発症および進行に至る分子変化を命令する機構に洞察が得られた。このアプローチを使用し、いくつかの新規なバイオマーカーが因果関係ネットワークから同定された。さらに、ミトコンドリアATP、生体エネルギー論、ROSなどの細胞機能リードアウトを用い、病態生理学的細胞挙動を駆動するマーカーを決定した。これらを考え合わせると、本明細書に記載の方法論は、自閉症スペクトラム障害（ASD）における診断および患者の層別化に有用なバイオマーカーの同定に確たる基礎を与える。

10

#### 【0546】

用いた具体的な実験アプローチの例を図8に示す。簡単に述べれば、自閉症患者および正常な非罹患親または兄弟からリンパ芽球を採取した。4名の自閉症患者および5名の非罹患対照からのリンパ芽球球サンプル（図9参照）を、Coriell Cell Repositories (403 Haddon Avenue Camden, New Jersey 08103)から入手した細胞株を使用することにより調製した。これらのサンプルに対してオミクス解析、例えば、2D-ナノLC-MSMSプロテオミクス解析を行った。マルチオミクスサンプル解析リードアウトを、上記のようにAIベースREFSインフォマティクスプラットフォームに入力した。ディファレンシャルインタラクトームネットワーク出力は、自閉症の疾患状態においてユニークに発現または変調/脱調節されるバイオマーカーを同定した。

20

#### 【0547】

自閉症患者と正常な非罹患親または兄弟を比較する1つの例示的シミュレーションディファレンシャルデルタネットワークを図12に示す。このディファレンシャルネットワークは、もっぱら採集されたデータに基づく再構築ネットワークであり、すなわち、そのネットワークの創出に既存の生物学的知識は用いられなかった。このネットワークでは、ASD病態生理学の3つの決定的な「ハブ」または「調節因子」が同定され、これらを図12で強調している。

#### 【0548】

第1のハブ（図13に示されるとおり）では、親ノードであるスペクトリンA2（SPTAN1）は、細胞シグナル伝達および末梢神経の有随化に役割を果たす。SPTAN1のドミナントネガティブ突然変異は、脳のミエリン形成不全、不十分な視覚的注意、痙性四肢麻痺、および発達遅延を伴うウエスト症候群を引き起こす。この特徴的な異常スペクトリンは、脳およびリンパ芽球で報告されている。自閉症におけるSPTAN1の役割を報告した論文はない。しかしながら、自閉症における有随化の役割はこれまでに報告されている。子ノードの1つであるシタキシン-6（STX6）については、STX6を自閉症と結びつけた報告はない。STX6突然変異は、毒素吸収に関与すること、および別の神経変性疾患である進行性核上麻痺(Progressive supranuclear)（PSP）に関与することが報告されている。子ノードのインテグリン7（ITGB7）は、自閉症小児においてその正常な兄弟に比べて差次的に発現されることが報告されている（Hu et al. BMC Genomics 2006; Szatmari et al., Nat Genet. 2007参照）。セルピンペプチダーゼ阻害剤、クレード（SPTAN1）と複数の子ノードを共有する隣接ノードのセルピンB9については、マイクロアレイ研究により、この遺伝子発現の下方調節が、その正常兄弟に比べて自閉症患者と関連づけられることが報告されている（Hu et al. Autism Res. 2009）。

30

40

#### 【0549】

第2のハブであるグルタミン酸デヒドロゲナーゼ1（GLUD1）は、図14に示される親ノードである。GLUD1は、ミトコンドリア(mitochondria)マトリックス酵素であり、窒素およびグルタミン酸代謝、ならびに脳におけるエネルギーホメオスタシスに重要な役割を果たす。GLUD1の上方調節は、初期発症段階の自閉症小児において報告されて

50

いる(Gregg et al., Genomics. 2008)。自閉症血漿中のアンモニアレベルの上昇は、ミトコンドリアの機能不全によるものであることが示唆されている。GLUD1の子ノードであるEIF3BおよびRPL3は、CNV解析により自閉症表現型に結びつけられている。GLUD1の隣接ノードであるセプチン2(SEPT2)の上方調節もまた初期発症自閉症で報告されている(Gregg et al., Genomics. 2008)。GLUD1の子ノードであるEIF3BおよびRPL3は、CNV解析により自閉症表現型と遺伝的に関連付けられている。

#### 【0550】

第3のハブであるコロニン-1A(CORO1A)は、図15に示される親ノードである。CORO1Aは、シグナル伝達、ミトコンドリア(miochondria)アポトーシス、T細胞媒介性免疫および遺伝子調節に関与している。CORO1Aの突然変異は、重篤な複合免疫不全およびADHDと関連づけられている。子ノードであるコプロポルフィリノゲンIIIオキシダーゼ(CPOX)は、ミトコンドリア内膜酵素である。CPOXは、ミトコンドリア呼吸鎖障害と関連している可能性がある。CPOXの調節不全は、自閉症患者間に観察されるような過大なポルフィリン排泄に関連づけられている。尿のポルフィリンは水銀暴露と正の相関があるので、尿のポルフィリンレベルは水銀暴露の指標として使用される。

10

#### 【0551】

これらの研究の結果から、自閉症患者の正常な非罹患親または兄弟由来のサンプルに比べた場合に自閉症患者由来のサンプルにおいてユニークに発現または変調/脱調節されるグローバルディファレンシャルネットワークハブ/ノードとして、SPTAN1、GLUD1、およびCORO1Aを含むものが同定された。さらに、これらの研究から、それぞれSPTAN1、GLUD1、およびCORO1Aのネットワーク内に、下表4~6に挙げられた下記の付加的因子が、自閉症患者の正常な非罹患親または兄弟由来のサンプルに比べた場合に自閉症患者由来のサンプルにおいてユニークに発現または変調/脱調節されるとして同定された。

20

#### 【表4】

SPTAN1, STX6, ITGB7, CPSF6, DDX6, SERPINB9, PSMA2, SMC4
---

30

#### 【表5】

GLUD1, SEPT2, OSBP, AHSAL, ERAP1, FKBP4, RPL13, PDCL3, EIF3B, AP1S1
---

#### 【表6】

CORO1A, YWHAG, HNRNPM, ERP44, CPOX, EIF4A2, SEC61A1, TJP2, LETM1, GET4
--

#### 【0552】

これらの結果は、SPTAN1、STX6、ITGB7、CPSF6、DDX6、セルピンB9、PSMA2、SMC4、GLUD1、SEPT2、OSBP、AHSAL、ERAP1、FKBP4、RPL13、PDCL3、EIF3B、AP1S1、CORO1A、YWHAG、HNRNPM、ERP44、CPOX、EIF4A2、SEC61A1、TJP2、LETM1、およびGET4などのタンパク質が、広汎性発達障害、例えば、自閉症または自閉症スペクトラム障害を診断するためのマーカー、広汎性発達障害、例えば、自閉症またはアルツハイマー病を発症する素因またはリスクを同定するためのマーカーとして、および広汎性発達障害、例えば、自閉症または自閉症スペクトラム障害の医薬治療を開発するために有用な標的として役立ち得ることを示した。

40

#### 【0553】

結論として、本実施例に使用したインタロガティブ・ディスカバリー・プラットフォーム

50

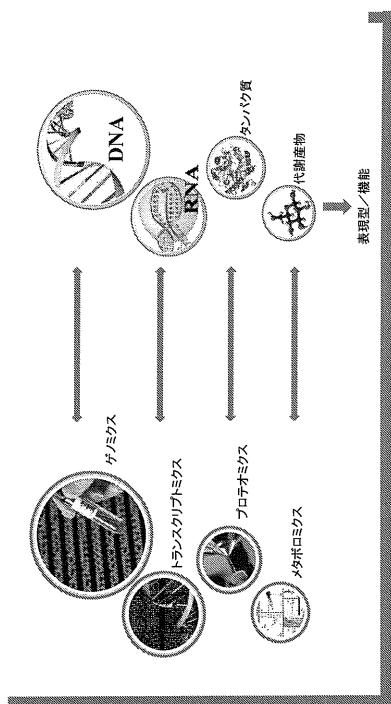
ム・テクノロジーは、もっぱらデータ駆動型である。AIベースネットワークエンジニアリングは、複雑なデータマイニングに相互作用および因果関係を理解することを可能とする。インタロガティブ「オミク」に基づくプラットフォームは細胞情報をロバストに推論する。本実施例で同定されたマーカーのうちいくつかは自閉症に関連することがこれまでに報告されているということから、このプラットフォームテクノロジー、および自閉症に関してプラットフォームテクノロジーに使用された細胞モデルが、自閉症スペクトラム下で診断および患者の層別化に有用なバイオマーカーの同定に確たる基礎を与えるということが確認される。このプラットフォームテクノロジーにおいて因果関係結果を推論するための手段として用いたデータマイニングに対するAIベースネットワークエンジニアリングアプローチでは、すぐに利用可能な生物学的情報が得られる。図12~15に示される自閉症の例示的自閉症原因相互作用ネットワークから、自閉症に関するいくつかの新規なバイオマーカーおよび潜在的治療標的が同定された。本明細書に記載のインタロガティブ・ディスカバリー・プラットフォーム・テクノロジーは、病態生理学の理解を高めることができ、それにより、自閉症スペクトラム障害を含む広汎性発達障害の治療薬およびバイオマーカーの同定を促進することができる。

【0554】

均等論：

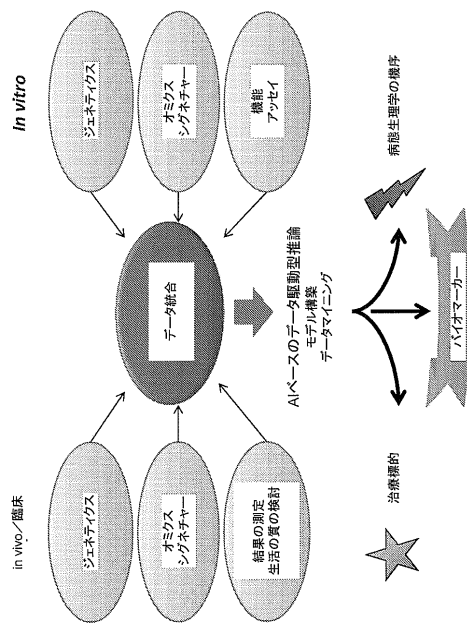
当業者ならば、慣例の実験だけを用いて、本明細書に記載の特定の実施形態および方法に対する多くの均等物を認識または確認することができるであろう。このような均等物は以下の特許請求の範囲に包含されるものとする。

【図1】



7-146646

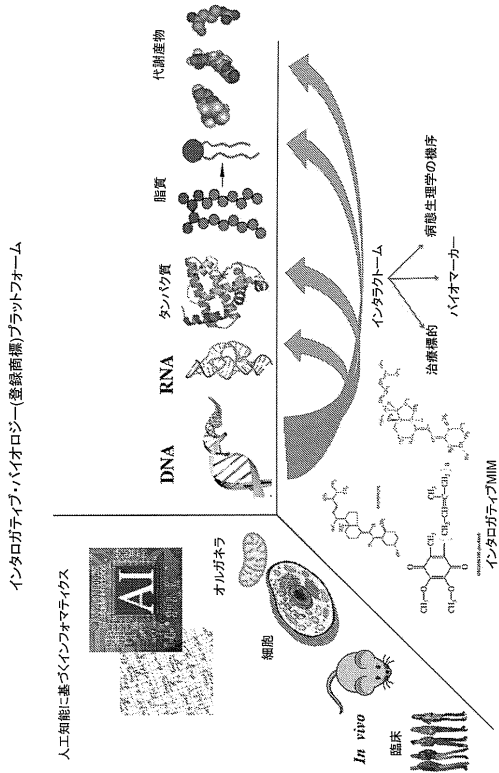
【図2】



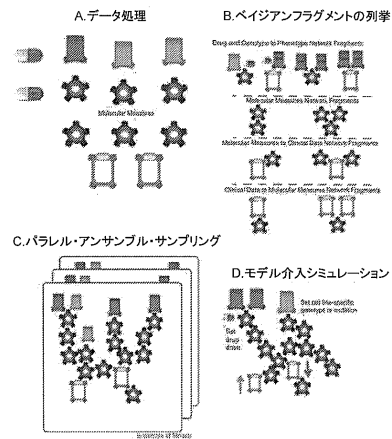
10

20

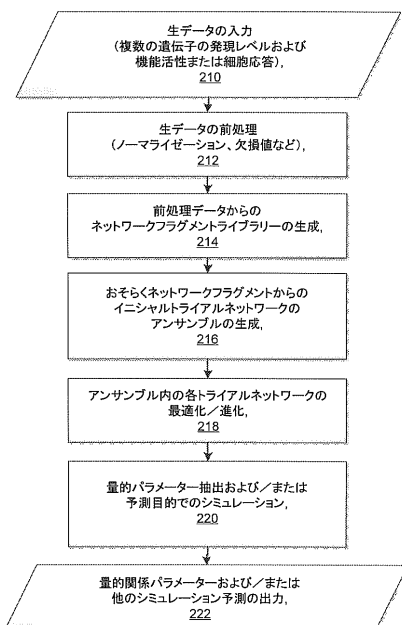
【 図 3 】



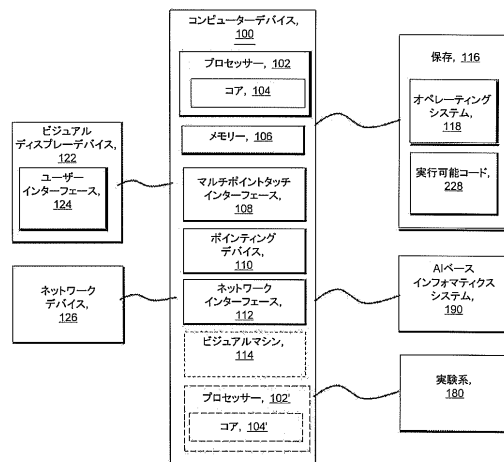
【 図 4 】



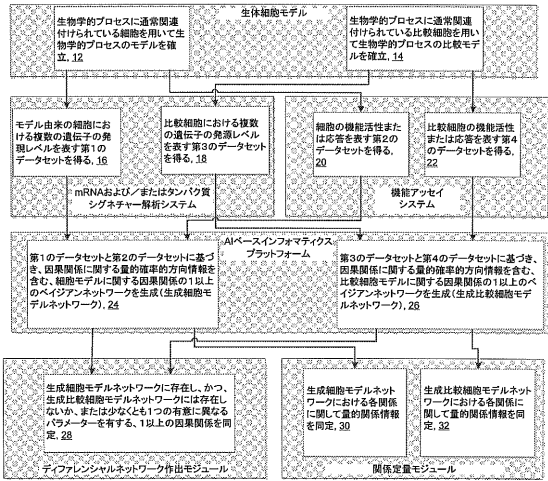
【 図 5 】



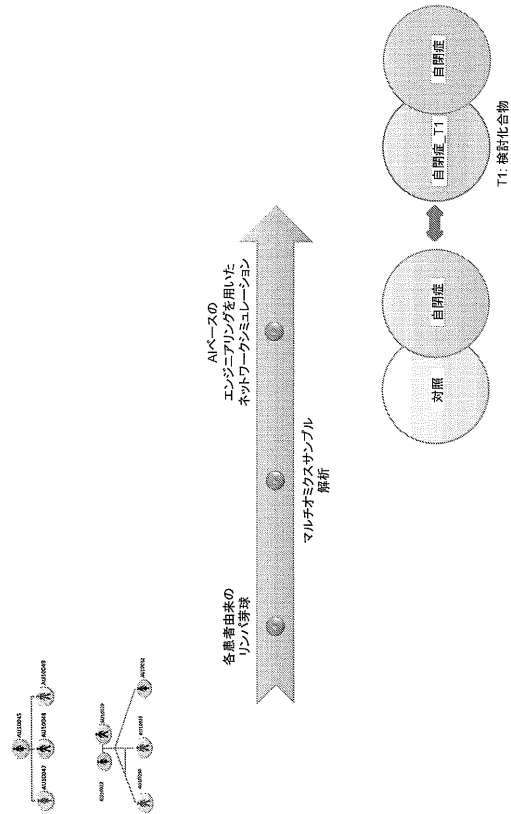
【 図 6 】



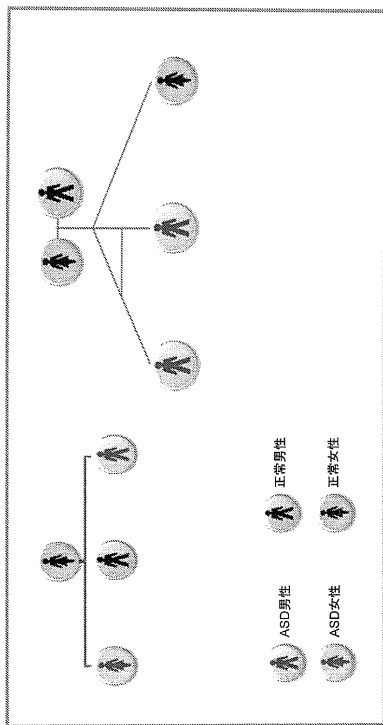
【 図 7 】



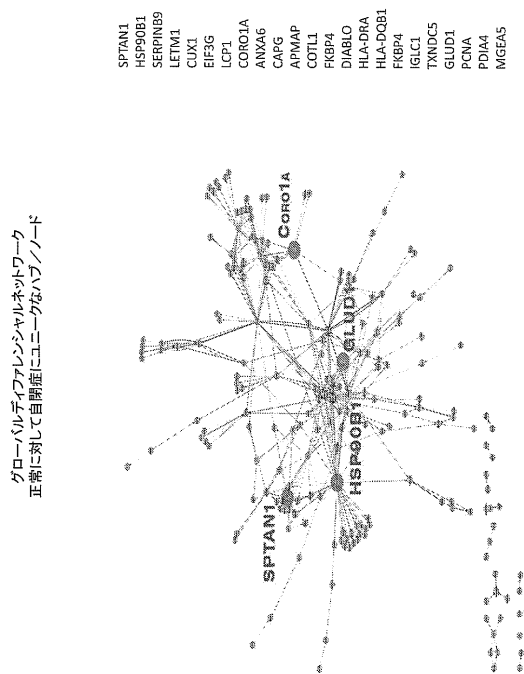
【 図 8 】



【 図 9 】



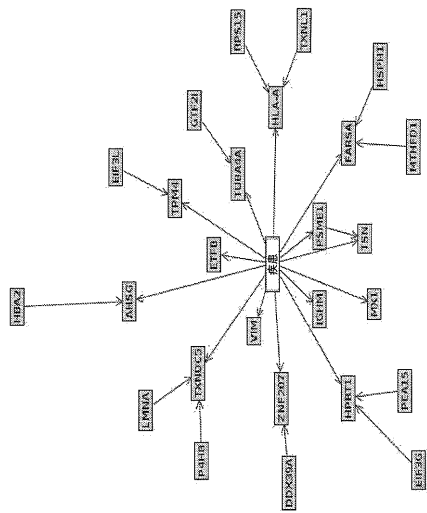
【 図 10 】



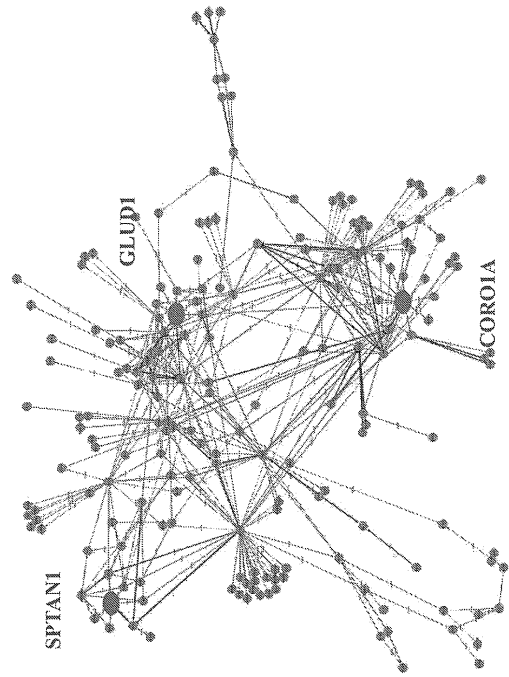
グローバルディフュージョンネットワーク  
正常に対して自閉症にユニークなハブノード

【 図 1 1 】

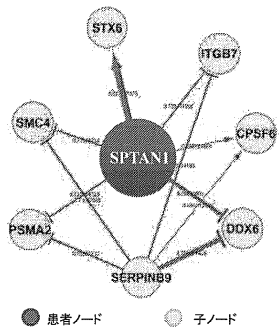
自閉症およびアルツハイマー病に共通の「病態」により駆動される分子実体のネットワーク



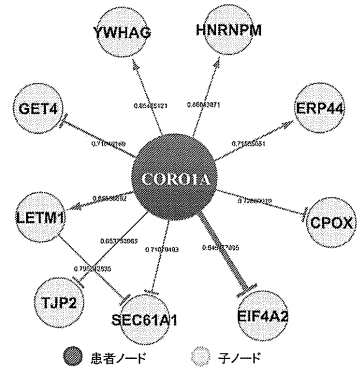
【 図 1 2 】



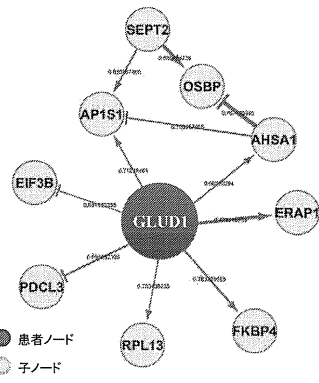
【 図 1 3 】



【 図 1 5 】



【 図 1 4 】



【配列表】

2015517801000001.app

## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 13/29201

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC(8) - C12Q 1/68; G01N 33/53 (2013.01) USPC - 435/6.1, 6.13, 7.1, 7.92 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC(8) - C12Q 1/68; G01N 33/53 (2013.01) USPC - 435/6.1, 6.13, 7.1, 7.92 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched USPC - 435/6.11, 6.12, 6.16 (text search) Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) PatBase; PubWEST (PGPB, USPT, USOC, EPAB, JPAB) and Google Scholar Search Terms: developmental disorder, pervasive, autism, Autism Spectrum Disorder (ASD), Asperger Syndrome, diagnos*, treat*, biomarker, GLUD1, CORO1A, ITGB7, SERPINB9, EIF3G, MGEA5, LETM1, nucleic acid, microarray, PCR, immunoassay,		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
<b>Category*</b>	<b>Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</b>	<b>Relevant to claim No.</b>
X	WO 2011/112961 A1 (KUNKEL et al.) 15 September 2011 (15.09.2011) Especially pg 2 ln 15-23, pg 7 ln 7-24, pg 9 ln 17- pg 11, ln 9, pg 17, ln 16-18; pg 18 ln 23- pg 19 ln 4, pg 21 ln 10-20, pg 32, ln 21-25; pg 51 table 4, pg 162, Table 4; pg 234, table 6 This document can be viewed by entering the doc number at the following url: <a href="http://worldwide.espacenet.com/numberSearch?locale=en_EP">http://worldwide.espacenet.com/numberSearch?locale=en_EP</a>	1-5, 7-10 and 39-46
X	US 2012/0015838 A1 (HU) 19 January 2012 (19.01.2012) Especially para [0011], [0012], [0055], [0062], [0085], sheet 6 table 4	3
A	GREGG, J.P. et al. Gene expression changes in children with autism. Genomics. 14 November 2007, Vol 91, Pages 22-29: Especially abstract; pg 25 col 2 para 1-2	1-3
A	US 2010/0125042 A1 (GESCHWIND et al.) 20 May 2010 (20.05.2010) entire document.	1-5, 7-10 and 39-46
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/>		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "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 "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 21 April 2013 (21.04.2013)		Date of mailing of the international search report 14 MAY 2013
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-3201		Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 13/29201

**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1.  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.: 6, 11-38 and 47  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)**

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

1.  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 additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
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.:

**Remark on Protest**

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

## フロントページの続き

(51) Int.Cl.		F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 45/00	(2006.01)	A 6 1 K 37/02	
A 6 1 P 25/00	(2006.01)	A 6 1 K 45/00	
A 6 1 P 25/28	(2006.01)	A 6 1 P 25/00	
C 1 2 N 15/09	(2006.01)	A 6 1 P 25/28	
		C 1 2 N 15/00	A

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC

(74) 代理人 100144794

弁理士 大木 信人

(72) 発明者 ナレイン, ニーブン, ラジン

アメリカ合衆国 0 2 1 3 8 マサチューセッツ州, ケンブリッジ, フレッシュ ポンド パーク  
ウェイ 7 3

(72) 発明者 ナレイン, ポーラ, パトリシア

アメリカ合衆国 0 2 1 3 8 マサチューセッツ州, ケンブリッジ, フレッシュ ポンド パーク  
ウェイ 7 3

F ターム(参考) 2G045 AA25 DA14

4B024 AA11 CA01 CA04 CA11 CA12 HA11

4B063 QA01 QA19 QQ08 QQ42 QQ52 QQ53 QQ58 QS24 QS25 QS34

4C084 AA02 AA17 BA44 NA14 ZA011 ZA161

专利名称(译)	<无法获取翻译>		
公开(公告)号	<a href="#">JP2015517801A5</a>	公开(公告)日	2016-04-21
申请号	JP2014561056	申请日	2013-03-05
[标]申请(专利权)人(译)	博格有限责任公司		
申请(专利权)人(译)	伯格LLC		
[标]发明人	ナレインニーブンラジン ナレインポーラパトリシア		
发明人	ナレイン,ニーブン,ラジン ナレイン,ポーラ,パトリシア		
IPC分类号	C12Q1/68 G01N33/50 G01N33/53 G01N33/15 A61K38/00 A61K45/00 A61P25/00 A61P25/28 C12N15/09		
CPC分类号	C12Q1/6883 C12Q2600/136 C12Q2600/158 C12Q2600/178 G01N33/6896 G01N2500/00 G01N2800/2814 G01N2800/2821 G01N2800/50 G01N2800/52 G01N2800/56 A61K38/1709 A61K38/44 A61K38/45 A61K38/46 A61K38/4813 A61P25/00 A61P25/18 A61P25/28 C12Q1/6844 C07K16/18 C07K2317/51 G01N2333/47 G01N2333/705 G01N2333/70546 G01N2333/8121 G01N2333/902 G01N2333/914 G01N2333/948 G01N2333/9643		
FI分类号	C12Q1/68.ZNA.A G01N33/50.P G01N33/53.D G01N33/50.Z G01N33/15.Z A61K37/02 A61K45/00 A61P25/00 A61P25/28 C12N15/00.A		
F-TERM分类号	2G045/AA25 2G045/DA14 4B024/AA11 4B024/CA01 4B024/CA04 4B024/CA11 4B024/CA12 4B024/HA11 4B063/QA01 4B063/QA19 4B063/QQ08 4B063/QQ42 4B063/QQ52 4B063/QQ53 4B063/QQ58 4B063/QS24 4B063/QS25 4B063/QS34 4C084/AA02 4C084/AA17 4C084/BA44 4C084/NA14 4C084/ZA011 4C084/ZA161		
代理人(译)	荒井英一 Nobuto 滤纸冲		
优先权	61/606935 2012-03-05 US		
其他公开文献	JP2015517801A		

#### 摘要(译)

描述了治疗和诊断人类普遍发育障碍的方法。