

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4101467号
(P4101467)

(45) 発行日 平成20年6月18日(2008.6.18)

(24) 登録日 平成20年3月28日(2008.3.28)

(51) Int.Cl.	F I	
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00	Z N A A
A 6 1 K 31/711 (2006.01)	A 6 1 K 31/711	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	D
A 6 1 K 48/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	N
A 6 1 P 25/00 (2006.01)	A 6 1 K 48/00	

請求項の数 8 (全 35 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2001-107694 (P2001-107694)	(73) 特許権者	503360115 独立行政法人科学技術振興機構 埼玉県川口市本町4丁目1番8号
(22) 出願日	平成13年4月5日(2001.4.5)	(74) 代理人	100107984 弁理士 廣田 雅紀
(65) 公開番号	特開2002-300884 (P2002-300884A)	(72) 発明者	白尾 智明 群馬県前橋市上小出町1-18-14
(43) 公開日	平成14年10月15日(2002.10.15)	(72) 発明者	関野 祐子 東京都世田谷区野毛3-14-15
審査請求日	平成17年1月14日(2005.1.14)	(72) 発明者	田中 聡一 群馬県前橋市荒牧町862-1 サンブライト荒牧502
		審査官	内藤 伸一

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ドレ布林A発現抑制作用を有するアンチセンスオリゴヌクレオチド

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

配列番号6に示される塩基配列からなるアンチセンスオリゴヌクレオチド。

【請求項2】

配列番号5に示される塩基配列とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつドレ布林A発現抑制作用を有するアンチセンスオリゴヌクレオチド。

【請求項3】

請求項1又は2記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドのリン酸エステル基をチオリン酸エステル基或いはメチルホスホネート基で置換したもの、及び、請求項1又は2記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドのリボース部分の水酸基をメトキシ或いはアリロキシからなるアルコキシ基、アミノ基、又はフッ素原子で置換したものを、から選択される請求項1又は2記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドの誘導体。

【請求項4】

請求項1又は2記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド及び/又は請求項3記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドの誘導体を担持したベクター。

【請求項5】

配列番号7に示されるアミノ酸配列からなるペプチドを特異的に認識する抗体。

【請求項6】

モノクローナル抗体であることを特徴とする請求項5記載の抗体。

【請求項7】

請求項 1 又は 2 記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド及び / 又は請求項 3 記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドの誘導体を有効成分とするドレブリン A の過剰発現・機能亢進に起因する疾病の治療薬。

【請求項 8】

請求項 1 又は 2 記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド及び / 又は請求項 3 記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドの誘導体と薬学的に許容される細胞内導入試薬とからなるドレブリン A の過剰発現・機能亢進に起因する疾病の治療薬。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、ドレブリン A 発現抑制作用を有するアンチセンスオリゴヌクレオチドやその誘導体、それらを担持したベクター、ドレブリン A の過剰発現・機能亢進に起因する疾病の治療薬等に関する。

【0002】

【従来の技術】

神経細胞は、他の体細胞には見られない非常に複雑な形状を有し、核をもつ原形質部分である細胞体からは、樹状突起と軸索突起という 2 種類の突起が伸びている。樹枝状に伸びる樹状突起はスパイン (spine) と呼ばれる無数の棘構造を有し、他の細胞からの情報を受け取る機能をもつシナプス後部を形成している。この神経細胞特異的形態は、神経特異的なアクチン結合タンパクにより決定される。他方、本発明者らは、発生過程の神経細胞に多量発現するアクチン結合タンパクドレブリン (Drebrin) を世界に先駆けて発見し (J. Neurochem. 44, 1210-1216(1985)、J. Biochem. 117, 231-236 (1995))、このドレブリンがアクチンファイバーの性状を変えることにより神経細胞の形態形成、特に突起形成に関わっていること (J. Neurosci. Res. 38: 149-159 (1994)、Exp. Cell Res. 215:145-153 (1994)、J. Biol. Chem. 269:29928-29933 (1994)) や、発生中で移動している神経細胞では、細胞体と突起全体に存在するが、成熟した神経細胞では棘構造中に特異的に存在すること (J. Neurosci. 15: 7161-7170 (1996)、Dev. Brain Res. 29, 233-244 (1986)、Brain Res. 413, 374-378 (1987)) を既に証明している。ドレブリンには、胚性型 (embryonic type) のドレブリン E と成体型 (adult type) のドレブリン A という 2 つのアイソフォームが存在しており (J. Biochem. 117, 231-236 (1995))、成熟した神経細胞のスパインに特異的に見られるドレブリン A は、神経細胞にしか発現しないという特徴を有している (Dev. Brain Res. 29, 233-244 (1986)、Brain Res. 413, 374-378 (1987))。ドレブリン A は alternative splicing 機構によりドレブリン E に “ins2” と呼ばれる領域が加わった配列をしている。すなわち、5'側から 956 base ~ 1093 base に g t c g t c c g t a c t g c c c t t t c a t a a a g g c a t c g g a c a g t g g g c c t t c c t c c t c c t c c t c t t c c t c c t c t t c c c c t c c a c g g a c t c c c t t t c c c t a t a t c a c c t g c c a c c g c a c c c c a a a c c t c t c t t c c t c c c t c c c a t) [配列番号 1] が挿入されて発現したものである (Mol. Brain Res. 19, 101-114 (1993)、Neuroreport 3, 109-112 (1992))。

【0003】

また最近、本発明者らは、ドレブリン A を初代培養神経細胞に発現させると自動的に樹状突起スパインに集まり、しかもその長さを長くしたり、ある一つのタンパク合成量を変化させることによってスパインの形態を変化させることができることを報告している (J. Neurosci. 19, 3918-3925 (1999))。その他、ドレブリンの所属するタンパクファミリーに関して、ドレブリンが ADF Homology Domain をもったアクチン結合タンパクの一種に分類できる可能性が示唆されている (Mol. Biol. Cell 9, 1951-1959 (1998))。また、ドレブリンのホモログとして SH3P7 が発見されているが、SH3P7 の機能が明らかになりつつある (Mol. Cell. Biol. 19, 1539-1546 (1999)、Nature Biotech. 14, 741-744 (1996))。

10

20

30

40

50

【 0 0 0 4 】

その他、神経栄養因子 BDNF (Brain-derived neurotrophic factor) を特異ノックアウトするアンチセンスオリゴヌクレオチドを作製し、外来性の BDNF がスパイン密度をインビボ及びインビトロで増加させるエストラジールの効果を遮断し、選択的なアンチセンスオリゴヌクレオチドを用いた BDNF の発現抑制がエストラジールに似た効果をもたらし、抗 BDNF 抗体によりスパイン密度が増加するなど、スパイン密度の調節に關与する BDNF の役割が明らかにされている (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95, 11412-11417, 1998)。また、脆弱 X 症候群 (fragile X syndrome) は、X 染色体にフラジャイル・サイトが存在するため起こる遺伝性の精神遅滞の原因としては最も頻度の高い病気であり、X 染色体上の遺伝子 FMR1 の発現異常、主に発現欠損により引き起こされ、FMR1 の発現異常は脳神経系の形態異常を伴うが、かかる脆弱 X 症候群などの脳神経疾患の治療法は、現在のところ見つかっていない。

10

【 0 0 0 5 】

【 発明が解決しようとする課題 】

本発明の課題は、脆弱 X 症候群の治療薬等としての有用性が期待できる、ドレブリン A の発現を特異的に抑制することができるアンチセンスオリゴヌクレオチドを提供することにある。

【 0 0 0 6 】

【 課題を解決するための手段 】

本発明者らは、発生過程の神経細胞に多量発現するアクチン結合タンパクドレブリンを世界に先駆けて発見して依頼、ドレブリンに関する研究を包括的かつ多面的に行っている。最近、本発明者らはマウสดレブリン A のゲノミック遺伝子 (Dbn1) を世界で初めて単離し、その配列を決定した。配列番号 2 で示される塩基配列からなるマウス Dbn1 のエクソン - イントロン構成を図 1 として示す。第 1 エクソンが 6767 番目から始まる全長 20674 bp のマウス Dbn1 は、図 2 に示される染色体地図から、染色体 13 番のほぼ中央に位置し、近くにインターロイキン - 9 (Il9) や paired-like homeodomain transcription factor (Pitx1) が存在することがわかる。

20

【 0 0 0 7 】

マウสดレブリン A の cDNA (アクセッション番号 ; AF187147) と、配列番号 3 で示されるラットドレブリン A の cDNA との一致率は 94.07% であり、マウสดレブリン A と、配列番号 4 で示されるラットドレブリン A とのアミノ酸レベルでの一致率は 95.35% であるが、第 11 エクソンを構成するマウス ins2 配列はラット ins2 配列と完全 (100%) に一致していた。本発明者らは、ドレブリン E に存在せず、ドレブリン A に特異的に存在し、動物種を超えてその配列がよく保存されている ins2 領域に注目し、この ins2 領域に対する 4 種類のアンチセンス鎖を作製し、神経細胞におけるドレブリン A の発現を特異的に抑制する実験を行ったところ、ラットドレブリン A の cDNA の 5' 側から 980b ~ 1003b にかけて aggcattcggacagtgggcccttcct [配列番号 5] の領域のアンチセンス鎖である 24-mer の S-オリゴ (5'-AGGAAGGCCCACTGTC CGATGCCCT-3') [配列番号 6] がドレブリン A の発現量を顕著に低下させることを見出し、本発明を完成するに至った。

30

40

【 0 0 0 8 】

すなわち本発明は、配列番号 6 に示される塩基配列からなるアンチセンスオリゴヌクレオチド (請求項 1) や、配列番号 5 に示される塩基配列とストリンジентな条件下でハイブリダイズし、かつドレブリン A 発現抑制作用を有するアンチセンスオリゴヌクレオチド (請求項 2) や、請求項 1 又は 2 記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドのリン酸エステル基をチオリン酸エステル基或いはメチルホスホネート基で置換したもの、及び、請求項 1 又は 2 記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドのリボース部分の水酸基をメトキシ或いはアリロキシからなるアルコキシ基、アミノ基、又はフッ素原子で置換したもの、から選択される請求項 1 又は 2 記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドの誘導體 (請求項 3) や、請求項 1 又は 2 記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド及び / 又は請求項 3 記載のア

50

ンチセンスオリゴヌクレオチドの誘導体を担持したベクター（請求項４）や、配列番号７に示されるアミノ酸配列からなるペプチドを特異的に認識する抗体（請求項５）や、モノクローナル抗体であることを特徴とする請求項５記載の抗体（請求項６）や、請求項１又は２記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド及び／又は請求項３記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドの誘導体を有効成分とするドレ布林Ａの過剰発現・機能亢進に起因する疾病の治療薬（請求項７）や、請求項１又は２記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド及び／又は請求項３記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドの誘導体と薬学的に許容される細胞内導入試薬とからなるドレ布林Ａの過剰発現・機能亢進に起因する疾病の治療薬（請求項８）に関する。

【０００９】

10

【発明の実施の形態】

本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドとしては、配列番号６に示される塩基配列（５'-AGGAAGGCCCACTGTCCGATGCCCT-3'）からなるDNAや、配列番号５に示される塩基配列（aggcatcggacagtgggcccttccct）とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつドレ布林Ａ発現抑制作用を有するアンチセンスオリゴヌクレオチド（アンチセンスDNA又はアンチセンスRNA）であれば特に制限されるものではないが、生体に投与した際の安定性がより高いという理由でアンチセンスDNAの方が好ましい。本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドはドレ布林Ａの発現を顕著に抑制することができる上に、その選択的ハイブリダイズ特性からしてプローブとしても使用可能であり、他の脊椎動物のcDNAライブラリーから該プローブとハイブリダイズする当該動物におけるドレ布林Ａ遺伝子のホモログ遺伝子であるcDNAを取得することもできる。

20

【００１０】

また、上記ストリンジェントな条件下でのハイブリダイゼーションの条件としては、例えば、４２℃でのハイブリダイゼーション、及び１×SSC、０．１％のSDSを含む緩衝液による４２℃での洗浄処理や、６５℃でのハイブリダイゼーション、及び０．１×SSC、０．１％のSDSを含む緩衝液による６５℃での洗浄処理を挙げることができる。なお、ハイブリダイゼーションのストリンジェンシーに影響を与える要素としては、上記温度条件以外に種々の要素があり、当業者であれば、種々の要素を適宜組み合わせ、上記例示したハイブリダイゼーションのストリンジェンシーと同等のストリンジェンシーを実現することが可能である。このようにして得られるアンチセンスオリゴヌクレオチドは、１２塩基以上３９塩基以下、特に１５塩基以上２５塩基以下のアンチセンスDNA又はアンチセンスRNAが好ましい。

30

【００１１】

本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドの合成方法としては、特に限定されないが、例えば、DNA合成機（Applied Biosystems Inc.社製「３８１Ａ」）やDNA/RNA合成機（Applied Biosystems Inc.社製「３９４」）等の通常の合成機を用いるホスホロアミダイト法、ホスホロチオエート法、ホスホトリエステル法等を挙げることができる。この場合、DNA合成機等に添付されている説明書にしたがって操作を行い、得られた合成産物を逆相クロマトグラフィー等を用いたHPLC法により精製することによって、目的のアンチセンスオリゴヌクレオチドやその誘導体を得ることができる。

40

【００１２】

また、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドの安定性や細胞に対する親和性を高めるために、その活性を著しく低下させない範囲で、リン酸エステル基又はリボース部分の水酸基を他の安定な基に置換した誘導体として用いることもできる。このようなアンチセンスオリゴヌクレオチドの誘導体の具体例としては、リン酸エステル基をチオリン酸エステル基やメチルホスホネート基等で置換したもの、リボース部分の水酸基をメトキシやアリロキシ等のアルコキシ基、アミノ基、またはフッ素原子等で置換したものを挙げることができる。

【００１３】

50

本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドやその誘導体は、神経細胞におけるドレブリン A の発現を抑制するものであるため、神経細胞におけるドレブリン A タンパクの過剰発現および機能亢進が原因の一つと考えられている疾患、例えばフラジャイル X 症候群（脆弱 X 症候群）等を有効に治療することができる可能性が大きい。かかるドレブリン A タンパクの過剰発現および機能亢進が原因の一つと考えられている疾患の治療に際しては、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその誘導体 0.01 ~ 100 μM、好ましくは 0.1 ~ 10 μM を投与することができ、また必要に応じて薬学的に許容される細胞内導入試薬、例えば、リポフェクチン試薬、リポフェクトアミン試薬、DOTAP 試薬、Tfx 試薬、人工合成脂質ベジクル、リポソーム、膜融合試薬、高分子ミセル化試薬、高分子担体、またはその他の細胞内導入試薬とともに投与することができる。この場合、発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、単独でも投与可能であるが、薬学的に許容される通常の担体、結合剤、安定化剤、賦形剤、希釈剤、pH 緩衝剤、崩壊剤、可溶化剤、溶解補助剤、等張剤などの各種調剤用配合成分を添加することができる。またかかる治療剤は、経口的又は非経口的に投与することができる。すなわち通常用いられる投与形態、例えば粉末、顆粒、カプセル剤、シロップ剤、懸濁液等の剤型で経口的に投与ことができ、あるいは、例えば溶液、乳剤、懸濁液等の剤型にしたものを注射の型で非経口に局所に投与することができる。例えば、注射剤とする場合には、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドを水、生理食塩水またはブドウ糖溶液等に溶解させて調製することができ、必要に応じて緩衝剤、保存剤あるいは安定化剤等を含ませてもよい。投与量は、各疾患の症状の度合いや投与方法等に依存して変わりうるが、目安として、静脈内投与では体重当たり 1 mg / kg から 1 g / kg、好ましくは 5 mg / kg から 500 mg / kg を例示することができる。

【0014】

また、細胞への取り込みの促進や標的とする細胞への指向性を高める目的で、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチド配列を発現させるようにデザインされたプラスミドやウイルスベクターを遺伝子治療用のベクターとして用いることもできる。このようなベクターとしては、ヘルペスウイルス（HSV）ベクター、アデノウイルスベクター、ヒト免疫不全ウイルス（HIV）ベクター等のウイルスベクターを好適に挙げるができるが、これらウイルスベクターの中でも HSV ベクターが好ましい。HSV ベクターは、神経親和性が高く、HSV が細胞の染色体 DNA に組み込まれないため安全であり、また、導入遺伝子の発現期間を調節することが可能である。また、ウイルスベクターを用いる場合、リコンビナーゼが認識する逆方向反復配列、例えば大腸菌 P1 ファージ由来の 10xP 配列又は酵母サッカロミセス・セレビスシェ由来の野生型 FRT 配列を利用すると、所望の時期に本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドを発現させることができる。

【0015】

本発明の抗体は、配列番号 5 に示される塩基配列 (a g g c a t c g g a c a g t g g g c c t t c c t) を含む塩基配列 (a a g g c a t c g g a c a g t g g g c c t t c c t c c) (ラットドレブリン A の cDNA の 5 側から 979 b ~ 1005 b) の翻訳ペプチドである K A S D S G P S S [配列番号 7] 又はこのペプチドを含む領域を特異的に認識する抗体であれば特に制限されるものではなく、かかる本発明の抗体としては、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、キメラ抗体、一本鎖抗体、ヒト化抗体等の免疫特異的な抗体を具体的に挙げることができ、これらは上記 K A S D S G P S S を抗原として用いて慣用のプロトコールに従い常法により作製することができるが、その中でもモノクローナル抗体がその特異性の点でより好ましい。かかるモノクローナル抗体等の K A S D S G P S S に特異的に結合する抗体は、例えば、ドレブリン A の変異又は欠失に起因する疾病の診断をする上で、また、神経細胞におけるドレブリン A タンパクの過剰発現および機能亢進が原因の一つと考えられている疾患の治療上有用である。

【0016】

【実施例】

以下に、実施例を挙げてこの発明を更に具体的に説明するが、この発明の範囲はこれらの

10

20

30

40

50

例示に限定されるものではない。

実施例 1 (神経細胞の培養)

妊娠 20 日の Sprague-Dawley ラットをエーテル麻酔し、断頭後、胎仔を取り出した。大脳皮質を摘出して髄膜を剥がし、パパイン添加 CGBD 溶液に入れて、37 恒温槽で 15 分間放置した。上清を吸引除去し、MEM 培地 5 ml で洗浄し、再度上清を吸引除去した後、MEM 培地 3 ml と馬血清 2 ml を加えてピペティングし、神経細胞含有溶液をフィルター濾過してから遠心し、上清を捨て、5% 牛血清、5% 馬血清を含む MEM 培地で攪拌し、直径 3.5 cm のディッシュ内に $3.0 \times 10^6 / 2 \text{ ml}$ (ウェスタンブロット用)、又は $2.0 \times 10^6 / 2 \text{ ml}$ (免疫染色用) の濃度で 2 ml ずつそれぞれ注入した。これらディッシュ内の神経細胞を CO_2 インキュベーター内で 37 で培養した。5 日目以降、Arac5 μM 入りグリアコンディション培地を用い、週に 2 回、培地を半量ずつ交換して培養を継続した。

10

【0017】

実施例 2 (アンチセンスオリゴヌクレオチドの投与)

培養開始 12 日目に、以下の 4 種類のアンチセンスオリゴヌクレオチドを最終濃度が 10 μM になるように培地内に投与し、その 2 日後に神経細胞を回収し、免疫染色とウェスタンブロットを行った。

5 -TTATGAAAGGGCAGTACGGACGAC-3 [配列番号 8]

5 -AGGAAGGCCCACTGTCCGATGCCT-3 [配列番号 6]

5 -TATAGGAAAGGGAGTCCGTGGAG-3 [配列番号 9]

5 -GGTTTGGGGTGCAGGTGA-3 [配列番号 10]

20

また、ポジティブコントロールとして、上記アンチセンス鎖の配列を逆向きにした 4 種類の reversed アンチセンス鎖を用いた。

【0018】

実施例 3 (ウェスタンブロット分析)

アンチセンス鎖投与 2 日後における神経細胞内のドレブリン A タンパクの発現量を調べるために、ウェスタンブロット分析を行った。神経細胞の抽出液を SDS - ポリアクリルアミド電気泳動法により分離し、分離したタンパク質をメンブレンフィルター (MILIPORE 社製「Immobilon transfer membranes」) にブロッティングした。このブロッティングした膜を、5% スキムミルクを含む TBS で 5 倍希釈した抗ドレブリン A 抗血清 (Exp. Cell Res. 215, 145-153 (1994); 抗ドレブリン A ポリクローナル抗体) 含有溶液中、室温で 60 分間インキュベーションした。0.05% のツイーン 20 を含む TBS で洗浄後、5% スキムミルクを含む TBS で希釈した HRP 標識化抗ラビット IgG 抗体の F(ab)_2 フラグメント (カッペル社製) 溶液に上記インキュベーションした膜を浸した。抗原特異的 HRP 反応により生じた化学ルミネッセンスを Kodak Scientific Imaging Film (X-OMAT AR, Kodak) と ECL detection kit (Amersham Pharmacia Biotech) により視覚化した。その結果、5 側から 980 base ~ 1003 base 目にかけて、aggcattcg gacagtgggccccttccct の領域に対するアンチセンス鎖 5 - AGGAAGGCCCACTGTCCGATGCCT - 3 投与の場合、アンチセンス鎖未投入のコントロールや reversed アンチセンス鎖投与のポジティブコントロールの場合に比べて、ドレブリン A の発現量を特異的に低下させることに有効であることがわかった (図 3) が、他の 3 種類のアンチセンス鎖では、ドレブリン A の発現が抑制されていなかった。

30

40

【0019】

実施例 4 [免疫染色]

アンチセンス鎖 5 - AGGAAGGCCCACTGTCCGATGCCT - 3 投与 2 日後における神経細胞を、3.5% のパラホルムアルデヒドを添加した PBS により 4 で 15 分間振盪固定した後、TBS 中で室温にて 5 分間洗浄し、3% の BSA を含む PBS 中で室温にて 10 分間ブロッティングし、抗ドレブリン A 抗血清 (Exp. Cell Res. 215, 145-153 (1994); 抗ドレブリン A ポリクローナル抗体) を 3% の BSA を含む PBS で希釈して調製した溶液を用いて、室温で 60 分間反応させた。これら反応させた標本を PB

50

S 中で室温にて 5 分間 × 3 回振盪して洗浄した後、3% の B S A を含む P B S で 1 0 0 倍希釈した F I T C 標識化抗マウス I g G 抗体（カッセル社製）を用いて室温にて 3 0 分間染色した。これら染色物を遮光したまま P B S 中で室温にて 5 分間 × 3 回振盪して洗浄した後、パーマフロ（シャンドン社製）で封入し、蛍光顕微鏡で観察した。この結果を図 4 に示す。

【 0 0 2 0 】

また、免疫染色による細胞内のドレブリン A の分布を D i I 染色による神経細胞形態と比較して調べたところ、正常の発達をしている神経細胞では、樹状突起の棘構造であるスパインに局在するドレブリン A がスパインではなく樹状突起に存在し、未熟な神経細胞と同様な局在を示しており、神経系の発達の遅れが示唆された。さらに、1 ニューロン当たり 4 0 ~ 6 3 のスパインをカウントし、各ニューロンのスパイン長を測定した。結果を図 5 に示す。図 5 から、アンチセンス鎖 5' - A G G A A G G C C C A C T G T C C G A T G C C T - 3' 投与群（AS）では、コントロールであるアンチセンス鎖未投入群（Cont）やポジティブコントロールである reversed アンチセンス鎖投与群（RAS）の場合に比べて、スパイン長が統計学上有意に短くなっていた。また、1 樹状突起当たりのスパイン密度についても測定した。結果を図 6 に示す。図 6 からわかるように、スパイン密度については、アンチセンス鎖 5' - A G G A A G G C C C A C T G T C C G A T G C C T - 3' 投与群（AS）と、コントロールであるアンチセンス鎖未投入群（Cont）やポジティブコントロールである reversed アンチセンス鎖投与群（RAS）との間に統計学上有意な差を見出すことができなかった。

【 0 0 2 1 】

【発明の効果】

本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドを用いると、ドレブリン A タンパク質の発現量が顕著に低下し、またかかるドレブリン A の発現量が低下した神経細胞では、神経細胞において重要な構造である樹状突起の棘構造の長さが短くなることから、神経シナプス機能の調節を行うことが可能となり、精神・神経疾患や神経損傷の治療に応用できる。

【 0 0 2 2 】

【配列表】

10

20

SEQUENCE LISTING

<110> JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY CORPORATION

<120> Antisense oligonucleotide with inhibitory action of
Drebrin A expression

10

<130> A091P20

<140>

<141>

<160> 10

20

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 138

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

30

<400> 1

```

gtcgtccgta ctgcccttc ataaaggcat cggacagtgg gccttctcc tcttctctt 60
ctctctcttc cctccacgg actcccttc cctatatcac ctgccaccgc accccaaacc 120
tcttctctc cctccat                                     138

```

<210> 2

40

<211> 20674

<212> DNA

<213> *Mus musculus*

<400> 2

gataccctg	tccggagct	ggagtgtgag	gctctatggc	tggaaccac	acttggaaat	60	
gaatgtctt	atgccaggca	ggggaggcca	ttagcacctt	tagagagatt	gcagggcccc	120	
cagccaacat	ggcagagctc	ctagttaggg	tcgtgtgtgg	cagcaggiga	gggaggggct	180	10
gttctctgt	ttagcagctt	tggacttctt	tgtagtcagc	aggagagagt	ggagggtagg	240	
ggaccattc	tccagaactg	aggcttctgt	gctgcctcct	ctggctcctt	cagacctctc	300	
cacgtggcct	gggtacacac	agaaggcaca	cccgcctctc	caagccttgc	tacaggaaag	360	
gagtgtggag	gcagcagctt	aaaggccctg	gtggctgccc	accagggagc	agcaggttagc	420	
tgagaccag	agccatcctt	gagaatgttg	gaagggacce	cttcccaatg	tgaggaaaga	480	
ggcttaagct	agattccagg	gtcatlggcc	attgtagtgg	gaagagatgc	ttattggatc	540	
agagccagg	gagaccttgg	gagacctcct	ttaagtgaga	aatggggata	attttccaga	600	20
agtactaggt	ggcttcagcc	atggaacact	ggatagaggt	gatagaggta	tcctctttcc	660	
cttagccttg	ctctctcatg	gggatccatc	ccaggagcac	acctgttat	ggccaaaaga	720	
cgctccattg	gactgacttg	ggtcacacac	aggctccatc	gtgatgtcac	aggtttgacc	780	
cacaaggcct	ggattacagg	gtacaggaag	aatcagaaga	tacaaacagg	aaggctgagg	840	
ataatcgagc	acaaatgtcc	agtggtgttc	agccctccac	ggtggggcct	ctgctcctgg	900	
actccatgcc	cagacctctc	agcctagctt	ccagaaaggg	tgaccaaagt	ttaggctgtt	960	
gagtcataaa	tcaagaaaat	tctgtgtctg	ctggigtgtg	tgtgtgtgtg	tgtgtgtgtg	1020	30
tgtgtaagag	agaggagaga	tagagaggta	gagaaagata	agagaaagag	gctacttagc	1080	
tatgtataac	ttaggagatt	gtttgtgtgt	tgtgtgtgtg	agagagagtg	tgtatgtgtg	1140	
tgtagagag	agagagacag	agatagagag	agataagaga	gagaggctac	ttagctatgt	1200	
ataacttggg	gagttgtttt	gtgtgtgtgt	gtgagagaga	gagagagaga	atgaatgtgt	1260	
gtgtaagaga	gagagagaga	gagagagaga	gagagagaga	gagagagaga	acgggacttt	1320	
accactcagc	tgtgtatcta	ggtagattct	tgtctggccc	ctaaccatc	cagigtacta	1380	
cttgtgtgtt	ttgctacttt	aaacaattcc	tagatacttt	ggggggggga	tcatcaaatt	1440	40
aaccacacct	gatgtccag	agtagctgag	gcaggaggat	cacaaattca	aagtttgcc	1500	

gggctacaca gtgagtttcg ggccactttg ggcaacttag tgagacctg tcttgaata 1560
 aaaaggggic taaagatata gctcagatct accagatcac ttgtagacaa aaaacgtgtg 1620
 gagcgttttc ttgattaata attgatgtgg gaggacccaa ctacatgaag gcggtgacac 1680
 cctttggtag atgatcctgg ggtgaataac aaatcaggct gagcaagtcg gagcaagcca 1740
 gcgagcagca ctctctgtg gtctctgcct cagtccagc ctacaggitt ctgccctgac 1800
 ttcctccag aatggactat aaactggtag gctaaaataa accttccctt cccaagatgc 1860
 ttgggtcat ggtgttttag cacagcaaca gaaagccac taagacaaat catcaaaccg 1920
 aagccaggca cacaggtaat ctctgtgag atgggcattt gagatacaga tcttgcctca 1980
 ctccccgcc ccatctaaag tcacaccaat gacaaggcac agttgtgiga ggatagatac 2040
 attgtgtgca agaagcagag ctaatgtact tggccccag tgccaaggic catgcctggg 2100
 gactgtgag ctgtgtattg gtgaggaggt acttttgaag gtgtactagg taggatctta 2160
 aggtcagga tgaggccagg gaaggctctg ccagctgata ctgaaataat cccgcagccc 2220
 cacatactc cctcagctt gaaacctatg aaagggtgtg tggaacacag agctggaagc 2280
 ttggggagga cagggctgcc aggaggaaaag ggtggagggt ggggtgggga gctccaggtg 2340
 tctaagttac catccagccc cattttatac tccaacaac agggctcaa aaggaaactc 2400
 agaaggggga gcgccttagc cgaagacaca cagtaaggcg ctagtctctg aatctattct 2460
 ctctgttac attctagga cccaaaagcc atggggccag cctctcaatg tgtgggggga 2520
 gctctgaggg tgggagagac tggcatgtca gtgattgca gggatgataa tgccaggggg 2580
 tggcagacac gaagcctggt gggaggacct ccaaggagac acctacgtgc cagccacca 2640
 ccacagccgg gtgtggtttt taggggctgc aaggaggcag ggtctctgag gagtgagcag 2700
 tggccatctt cctgacgac aagtacagcc aaggaaagag ctaaaataga gcaactgagc 2760
 ctggccattt aaagatgatg acgttggcca aaaaggggccc aagaagcacg gaaataagaa 2820
 aagcccaggg ctigtataag cctcagagcc cgccatccct taaaagtaaa acaggatgtg 2880
 aggtgtggg atctgagcat ccttacgaa tgttgtgtt gttgtgttc ttgttttct 2940
 tccctttggt gctaagggtt tgacattggc tagagaggag ctcttaagct caccagacg 3000
 ctgcagccc cagtctaaa atggtttcat ctctgggttt cttgtttgtt ttgttttga 3060
 gacagggccc ctctgtgtg ctctggctat ccaggagctt cataagtaga ccaggctggc 3120
 ctcaaatgca caaagatctg ctggcctctg cctccagaag gatcctgtcc tggctctggc 3180
 ccttaccac ctctacacct ggttgtttgg ctgggtttt tggaacagca gctcttggaa 3240

10

20

30

40

cccttggaga tggagaatgc tttctgcctc atctctgaat gctcggagcc cagccatcat 3300
 catgctcgcc aagctgaaac cattctaacc cagccaccac atcgggtggc ttatgcctgt 3360
 aatgcccga a tccgacccg acccggagtt tgagggcagc ttgaactaca gtgtgagctc 3420
 tgtctcaaat aacaacagaa actaaacaag ggccagtggg gtggctcagt ggatatagcc 3480
 agatggicca tcgctggtag gaggagagac cagactcttg gaagatgct tctgacttgc 3540
 ataggaagga aggcctgacc catgggatgc ttgtaccac acacatgcac aatgataatt 3600
 aaaaaaaaaat ggggggggga ggggaagcca gcagaagagg gagcatgigt gtgcgtgtgt 3660
 gtgagagagt gtgtgtgtgt ctctgtgtgt ggcaggagag gggagaggag gaataataca 3720
 aaaccaatgt cccatgatgt ggtgaagccc ggtaccctgt atgctaact aaaaattaaa 3780
 aaggagaaag aacttggatt tttatttct ttgagacaaa gtctcacaat ataagcttgg 3840
 ctgagctgga gctcacagag aaagctgctt gcctcttttt cccagggct gggttggcac 3900
 atgccaatgac acccagacaa ggtttatcta tttatctatc tatctateta tctatctatc 3960
 tagatatita ttttatttgt ttttttttaa agatttattt atttattata tghtaagtaca 4020
 ctgtagctgt ctccagacac tccagaagag ggcgtcaaat ctgtttacag atggttgtga 4080
 gccaccaatgt ggttgcctggg atttgaactt cagacctttg gaagagcagt cgggtgctct 4140
 taccaciga gccatctcac cagccccitt atttatttta agatttactt atttaagccg 4200
 ggcatggigg cgcattgcctc taatcccagc actcaggagg caaaggcagg cggatttctg 4260
 agttccaggc cagcctggtc tacaaaatga gticcaggac agccaggcta cacagagaaa 4320
 cctgtcticc aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaatttt tacttattta atgtatatga 4380
 gtacactgtt gctgtcttca gacacactag aagagggcgt cagattccat tacagatggt 4440
 tgtgagccac catgtggttg ctgggaattg aactcaggac ctttgggaaga gcagccagtg 4500
 ctctttaccg ctgagcgaaa tagaatgtcg tttttaaaaa taacgaaaac agcactggag 4560
 agatggccta gcggttaaga gcactaatig ctcttctaga ggtccctgagt tcaattccca 4620
 gcaaccataa ggtggctcac aagcactgtt aatgggatcc agtgccctct tctggtgtgt 4680
 ctgaagacag caacagtata ctcatataca taaattaaaa agacaaaaac aaaaataaaa 4740
 tgaaacaga acaaaaaaat aatgcagatg ggaggtgaac tgggcgtggc tagagacagg 4800
 tgctaggcaa ttggigggca gacaggaatc catggagaca ctccaaggt gcacttaggt 4860
 ctgctttttg cctatgaaat cgactaagta ggaggttagg agacatcaag ggtggggaag 4920
 tagcaggaag gagagatgct gaagcctagt ccigacccca accgccaact cccctctgcc 4980

10

20

30

40

caggcgagca cctagatac cgagaactgc agctctgttc ttggattttt ttggggcggg 5040
 gggtttcgag acaggggttc tctgtgtagc cctggctgtc ctggaactca cctctgtagac 5100
 caggctagcc tcgaactcag aaatctgcct gtctctgcct cctgagtgct gggatcaaag 5160
 gcgtgcgcca ccactgcctg gcttgcagct ctgttctcac ctggcttcc tgcctcttc 5220
 ctccccatc tgaigtatc tctattcccc tctgccctaa ccattgagtt ccagctgcat 5280
 ctgggatcag ggcccaggac tgaccactca ccaggactca ccataggttg gtggagaaac 5340
 tcccaaggat ggggtgcatg ggttcaatgg gtaccatag ctctgaagc agggttcttg 5400 10
 tgaagtacag aggtttaagg ccacctctc ccgtgtccca ttccaaggca ttgcagtga 5460
 tgaagtatt ggtttcttgt tggagatgat tgaccaagtc agagcaggaa ttgcacgaaa 5520
 acagccacct cctgttcaca gatcagcccc aggggaaact tgcctaggca ctgttgccctg 5580
 cctgtctgcc tgcctgcctg cctgcctgcc tgcctgcctg cctgcctggg aaatgggttg 5640
 ggatgtccag tgggtatgga aaggtaacc agagctgtgg agggcttcag tgttctccat 5700
 tccacaggaa acagtgcctg gaagctctgt gcagccatgt ccccatagag aagctctga 5760
 ggcccagtc cttctgcact cagagctttg ggaaataaaa agtgccagaa agttctccct 5820 20
 ggaatggctt tggaggagcc ctgccttggg gacctactt gggcttctt aggagggatg 5880
 gtacttggaa aagaaggcat ctttttttt ttttttttt ttgtataccc atctgggagg 5940
 aagaaaatga ctgaaagtaa aggatgaggg aggtgggggtg taaacggctt gagacaaggt 6000
 atggctaaga agaggggtct gagtggaaat cagacaggct ggcatagcaa gagggtatgg 6060
 tgactagggtg ggaigtgtgc agaggtaagc atgggctgt agctgagatg gaagtatgg 6120
 tggtagacta gggagggtcc ttccagagga aatggactac acgtaacca ggccgtgtct 6180
 gatgaggaac tgaatccggg cagggacaga gtaaggacca taaggggtt aaggtagggt 6240 30
 gtaacggacc caggaatgat gtgagctgg gctggagtta aatggatcaa ggggtgtggg 6300
 ctgggtcaat tactctgggg agatggagag ggaatgaatct gggccaggaa tcttgggtgg 6360
 tttatggcta ggaagaggg gtgtgtctgcc aggttgggga cgaggacaag acaggtgcat 6420
 gggactggcc ctgggagcag agcggaaagct cagigtccgg tgcctggccag caggtgagg 6480
 ggcgtgtgtg ggacgccccg gggcaaactg ggaagggggg gcgggctcc ccttgggccc 6540
 ggccggggcg gcgctaggac cgagcgagcc gaggagiga gccggcgga gccagcgccc 6600
 cccgcccccc gccggccggc tcccccccc cggccctgg ctctctctct ctcagcctg 6660 40
 cagaggctct gaggcggcgg cggcgactcc ctcatcccc ccttccgggt tggctggct 6720

cgccctgtgcg tgcgtctgtc cgttcggcct cggtcggcc cgcagcatgg ccggcgtcag 6780
 cttcagcggc caccgcctgg agctgtcggc ggcgtacgag gaggatgacc gggaggagag 6840
 cgcagccgac tggtagcccc cccgcccccg ccccccccc cgccccctt gtccccaggc 6900
 cgccgcgcgc ctttgtttcc ccgaggctct gccaccggga agggaggggg agacccccgaa 6960
 atggtgcaac ggcicgggag agccggggag gggctgcctt tgtgcgagcc gggggagggg 7020
 ccgctcgggc caggctgggc gcgcgggccc gggcgccctg aggccgccc aaggctcact 7080
 gggggcgcgg gaccggacgc cagccacgcg ggtgtggagc ccagacgtgg ggccctgggg 7140
 cctaccgtcc tgtcggagcc cctccccctt ctaccctgc ctccctccac gggccccggg 7200
 gacagggtgt cacgggccag ccaagggcac ctccgccacc ttcgagcggg cgaggaccgg 7260
 gtggggacgg ggcggggacc cagctagcgg agctagagca gccctgcccgg ccacagcaca 7320
 aaggaaagct agggcggggg aggagcggcg agggctgggg gccagcgtgc cccgccacc 7380
 gggggcttct cggggtgtc tcccccaaca tctaggttag ggtgtgatac aaggaggttg 7440
 attgccacat ggcaaccacg aagtgacttc ttatccctc acggatcgca gaggaagagg 7500
 caggctgag ccttctctc cctgtctgaa ggagcagatc gctaggacga ggcagatagg 7560
 caggaagaga ctcaggagat ggacggagca gcttggctag gggggcagct gggagcgtgg 7620
 agggagcctc cacagagggg tgcagatga gtagatctct gggaccctag cccctccact 7680
 cagcagcagg gggctatcaa cctccgactg gggcagagtg agtgagtggc ttatctcccc 7740
 ctccccagct gttaccctcc ctgagctgga ggggggtgtg agccaccctgc ctgggtctga 7800
 agtctcaggg tgcaggaaa accaaggggg ctccgatgcc ccattcaggg cacagcccc 7860
 aagtgttctt ctcaaaaaaa aaaatgtat ttgaatcttt tctctctctt aggcctggaag 7920
 taggctatcg ttgagaaaac cgaggccgag ttggggctga tctgaggag cctccagtgt 7980
 ggcctggcctc actctcacc tgggagggca accgggtagg ggggctggaa gatggaacaa 8040
 aataaccagg cgtccaggcc atggtactgc agcactggcc ggtagccagg ccagagggga 8100
 tggactcagg agacaagttc tegtgtcttg caggctcagtt ataggagagg ccagcacagg 8160
 gcaagcaggg cagtctccat ctatgttcc cagccctgcc cctggggggc tgagatcatg 8220
 agaggcaatc tggacaagtg gccctggtaga ggagcctgtt tgggatgtg gccctgccctg 8280
 aggagaaaca ctggccagtc tatgggggtg agacaacacc ttctatctct taacccccctg 8340
 aaagctggac actggcacc cagtgtcggg gctactaatg acttctgccc cgcactctgc 8400
 tcagaacagg cccgggccc cctcaccagc agcatccatg tagccaaagg gaaggagtt 8460

10

20

30

40

ttcatccttg gtcigtgcgc cagccccatc tgggttgtgt gtgggacatg tgcagatgca 8520
 cagatgcacc ctgccttata tgtgtgctta ctccaaggg ccttaacggc atgttgtaaa 8580
 agggttggiga gggctccatc ctgaagaaga tggcgtgggt cttctcagct cttatcctac 8640
 aaccagcagc tggctgagat ctcaaggctc aggacagacc cacatittag gagtccagca 8700
 ggaggggigt ctgggttcaa acgttgggtc atgagtattg gatgtcttcc ctgtaccttg 8760
 actctgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tatagtggag ctggggcttg 8820
 ctggccccca ggaggcagag ggtctcttaa atgcactctg tcttgtgtct ataagcaggt 8880
 cacaggggaa gtcagattgt gtggtaggaa aggccagcac caccttgggt atgatgtgat 8940
 tcattgtgtg agaagtccct gctcttctca agtgcctctga ggaagagggg gatgggcaga 9000
 gtccatctgg ggtctcttgg gcctttccag ttccagctcc ctgagagcat gccggctctg 9060
 aaccttccac tgcctagtat tctgtctgaag ccagactctc gccttgcctt agtcaggat 9120
 ctctgcctta ggtagtagat aagtgttttt gtcaacatta caaatccctg tggigtctatt 9180
 ttgtatagag gcagcagigt gtgttagcac agtcagagtc cctgccttcc caagactgac 9240
 aggacagcct gtggcagtgg ctatctccag ggcttgcctg aggtgaggtg tgcacatcta 9300
 gatttctctt ctactttgcc ctgagtgitt cagagctctt acctgccagt ctgagagtac 9360
 ctgtgttatg ttagagaaac actgtccagt agggctctggg gctagtgcag atagatgtct 9420
 ttcccgggtc ctgctgagtg ctatagcact ctggggcgtg aagctcagcc tgaggctggc 9480
 ccttggagtt ggtagcggta tcccagatgg tcttcatgta caggaaaatg caatgcaact 9540
 ctgggttaca aagigtctt caaaactgaa tctgggagcc agcgtggccc aagigtgggt 9600
 gtaatacac agtcattttg gagaggtggg ctaggcagag ctgagagggg ttgaatgaga 9660
 cacagtcctt gctgaggaag gattgtggcc ctagcagggg agagggacgg ttggaggtg 9720
 ggtgggcatg gagaaatgat aaaaggggct tcagagtctt gagatgagca gcttgcctca 9780
 gagagatgtc atggccagag cagtgtcttg gaaggagcca ggattcttgg tgcctggctca 9840
 gtgtttcact cgtgactaca gagggagaca cctatttct ttgagggctc ttgttctctg 9900
 gccatggggt tagggcagcc tgacaggigg tggggcagct gtgcggggaa agcagctgtc 9960
 ggattggctg gggcagcagt tgcaccaagg gctcggagac atgcagccca cctgtgtctc 10020
 ttgtggagc aaagcagggg gggatgcagg aaggggaggg gctgcagggg ctattttgtt 10080
 cgcttaaca ggggtcaata acccttgggg catggggtta gccctcctc gttcttctct 10140
 ctctctctc tctctctct ccttctctt ttigtctctt ttcttttct tccctctctc 10200

10

20

30

40

tccatititit atitititcca ctitccctcct gtctcttgtc tgttctcttc cccctcttct 10260
 tttcttctctc ctcccttctc cccctttcc tccatctctg ctttttcttc ttctctgcaca 10320
 ccccagctc ctgacttaga tgggaaatgg gagatgagca aggttctgag ccttctgaa 10380
 tctcagggac caagagtctc ttcttcatgt gtgtccagcg tggtgccctgc atcaggatgg 10440
 gttgaggggt ggctcaaggg aagaataact acattacctt ccatgaaatg gatgcgttag 10500
 tatgcccctgc aagaataaat acagagcaga aaaggctagg gaggaaggaa gtcattagtt 10560
 tagctttctg gtctggcttca gtctatatgg tagtcttagg aggttctcagg gagggcagag 10620
 gctgcccctag ggctagaaga ccagatctta gggctcagagt cggggagtgg tcacagcaac 10680
 ctcatcccca tctcagagag ggagagattg agtctgagga tgtccccagg gtcctttgtg 10740
 ttctgaggaga atgcagctct ggtgggctga ttctgtgtcc aattgtctggg ttgcatggt 10800
 taccagggga tgcccagcat tgagcaccag attcttctcc ctcccaaaag ggggaggggc 10860
 agcgggtacc aaggcacgca ccaggtagat tcttggctct ggccaatgag ggatgagaat 10920
 catggtctgcc agggaaacggt aaccaaggaa ccgttgcctt ggagctcca tgcacaccc 10980
 gctccaciga gttgtgggct gccagggcta gggccggacg ctgagctgac taggcagcga 11040
 ttctctcccc accgttccct gattgccatc tgaccagga ctcccggctc agcggaaacga 11100
 tgccatgctt agctttattg tcatgaccaa ccgacaacca cagcttccc cctctctgtc 11160
 ctgttctgcc ctgcccgtcc cctctgggtt cactctccct ccttagtgcc tccccacc 11220
 aaaatggct gccatggccc tgacagtct gagccatct cctctctc agggctctgt 11280
 acacatacga ggaatggctca gatgacctca agcttgcagc gtcaggaggt aagaattcca 11340
 gccgttccct ctcttccca ccaccactc tcttgtttt gtccccctc cgttctctg 11400
 ctctcatcca gcagaccac gcttgtccac ggttgtcctt cctcttggtc attcccgc 11460
 tctcagagt gtaggggggc ggggggggac tcttcttcc tgtttgactt ctgggaaggc 11520
 acagtgagga aaagcaactt gccccgcatc atacagctag ggaaggggccc tagtaggggtg 11580
 gtccagctca gtgctattct tggagctgtg agatttctt aagcaaagct tctgtacct 11640
 tcttgggac tagcaccctg aaagacacga gaggigtgat ccccagaaa tggagatgtg 11700
 ttaacagacc tttttgtcc catctcaagt caggcccagg aggttctaga ggcaaagata 11760
 caatcttacc aacccttctg cctcattaca cagaggtctg ggctctagc tctgaggaat 11820
 agaaatcccc tggcagggag gggttctagg ccttgcagg gtgacgggtg taggagatgg 11880
 ggagtcctaa catctccctg gttctccag aagggggctt gcaggagctt tccggccact 11940

10

20

30

40

tcgagaacca gaaagtgatg tatggtttct gcagcgtcaa ggactcccaa gctgccctgc 12000
 caaaatagt gctcatcaac tgggtatgtg gctgtgggat ggggciggga gctgaaggcc 12060
 cggagcggc cacattccac ccatagccac tgcitggagga aaaagcctac actagttctt 12120
 gggaaagatag cctgggcccc taggcitgctt tgccttcagg ctgttgggcc agtgggctgt 12180
 tgcaccctcc tcccgctctg agccccctt cactgggcac attgcaggtt ggtgaggatg 12240
 tgcctgatgc ccgaaaatgt gcttgcgcca gtcattgtggc caaggitggct gaattcttcc 12300
 aggtatgttg ggaccaggct tgaagtgggt acggitggtc acctagggcc aggtttgtat 12360
 gctggggttg gtgatgggaa ttggatacc acctaaacac tgcTTTTTgt atggaagggt 12420
 gttgatgtca ttgtgaatgc cagcagtggt gaagacatcg atgctgggtc cattgggcag 12480
 cggctctcca atggactggc acggctctcc agcccagtat tgcaccgctt gcgcttctgg 12540
 gaggatgaaa atgctgaacc ggtggctcagt gtattccggg gacaggctgg tctcgtgtca 12600
 cctgtgtgac ctggctccca gtccggcctc cccaggccct cttagccctc attctgcaca 12660
 tgtgagtact ggactgtgcc ttgggtctgc tcttgcgctc atgcccaggc acttgactct 12720
 gcagggtacc acctaccaga agaccgatgc agcagtgag atgaagcggg ttaaccgtga 12780
 gcagtttgg gagcaggcca aggtgggcaa tgcitgagcc ttcaggccca ggtgtcccta 12840
 cctgagcctg cggggtagct ctgacctctc tggctgaaa gagcaaacc ttttggctctc 12900
 ctgcacacag ggcicatccc cctaattccc agaaggccac ctcccagcc tgggtgggag 12960
 tagaatgga agggccgaag ctggcctggg ctgaggctt gtccttctg ggtgtgggg 13020
 gcagaaggag gaagagctgc ggaaggagga ggagcgggag aaggctctgg acgccaggct 13080
 caggtttgaa caggaacgga tggagcagga gcggcaggag caggaagaac gtgagcggcg 13140
 ctaccgggag cgggagcagc agattgagga gcacaggtaa gctcaggccc caggcgaagg 13200
 gccacccgc cccgccccgc cccgccccacc gccccgccc accgccccag cctactgccc 13260
 ccagtcacc ctgaaggggc tccccctcac ttctcttcc aggaggaaac agcagagtct 13320
 ggaagctgaa gaagccaaga ggaggttaaa ggagcagtct atctttgtaa gttcttttcc 13380
 aggggtcttg tgcctggcca ggaacgtgag gcitggctgt gtgtctgcc ctctgagggc 13440
 atgcgtgggc atccctatca tgagtgtgtc aggtccaaca cctatcttgt gggttcttgg 13500
 tgtttgtgtg aaaaacaaac agacaaataa cagcagcagc aacaacaaaa catTTTTTT 13560
 cgacgtttt ctccaaattg gaaaagaaaa tccaccttga ctgagacct cgctgacctg 13620
 gctcttccac tgcctccgcc ttgagacctg ggttcttgg ggtgtattag tcttgggctc 13680

10

20

30

40

tgcatttggg gctggggggc ttgagaatta ggtaggcttc ataatgaaag gactcagagc 13740
 tectgectga atgtaggcca gtgttgitag ggactgaaca catagacagg ctctggggca 13800
 gccctectct ccactgttgc tgtcccaatc tataattgtgc acagccattc acagcaagat 13860
 cttttgaaaa agccacgttt tgtaggaatt tccaagggtg gcgtgcacac agagaagtag 13920
 attagtgtag tgacttciga atttgcctt catctttgtc agtcaccagc atcttaagca 13980
 atggctgcag aggttttgcct cttcttcaag agttaatcca ctgcttcaaa gtatctcata 14040
 ggaaagtaac gatgtagcaa cattgtagcc agctgtgctc caagaaaggt cccaccggga 14100 10
 gctgaaattt agcactctaa aatgateccc caccaccacc caaaaatggg tttctctgta 14160
 gccctggaac ttgctctata gaccaggctg tecttgaact cataaggatc aacctgacac 14220
 tgcateccaa gtgctgggtg ccaccactat ctagctaaaa tgatttaaatt taggaatgcg 14280
 taggcgctgt atgctctctc tectgtcagt gagtttactt gtttactcag gtatatgagt 14340
 gttctgcttg cctgtatgct tgtgcactgt gtgtctgcag cgctgcaga attcagaaga 14400
 tagtggctct cctagaactg gagttacaga tggttgtgag ccagcatgtg ggtgctggga 14460
 accaaacctg ggctctctac aagagcagca aggactccta accacagagc catctctcca 14520 20
 gccccagagt tccctctgg ccttgggttc tcatgtgtca gaacacttag gcacagcaat 14580
 gctttgacce ctgagtcttc ctctccctcc tacttacage tctaacttgt ttcagtgatg 14640
 ttgacattat tcacagttaa cactctctg ataagcataa tctcttctt ttatgggtgtg 14700
 tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgta tttgtggtat ggatagtgca 14760
 ttaccctatc atgcacttgt aaagaccaga ggtccgcttc tgggtctctc ctctgtagct 14820
 acccactgta ttttttgag acaggctctc tctttgaacc tgcctactgt tcagctagtgt 14880
 agccccaggg ctctctgctt ctgctcaaat gtgggtgata tagatctatg ttctctgccc 14940 30
 agctcagtat gtgtcttgcct gaggatccaa acttgagaag tacatgcctt acccaccggag 15000
 acaactctcc agcctatata tgcctcttcc ttigtatggca gaaaaataag gcttaggta 15060
 tatgctcaaa ggtcaaacctc tgagccagga gtgggtggcac aagcctgtaa tcccaacacc 15120
 aggaaagcag aggcagacag atcacigiga cticgaggcc agcctggctt aggcctgtgag 15180
 ctccagacca cccagctata taaagtaaga aatataagaa aaaggttctg ttcttcacct 15240
 agctcttgcc cctctgccc agtttgcctc atgaatgaca gaagatgcca actaagagac 15300
 tttgatata gagagttcca ttgaacaaac acataccagc cccatgctgg ccgttcacat 15360 40
 agacttgggg cticactcgg tgtgtctcac tgagggtgag ggaagtgacc ccagaaacag 15420

gaaacacaat gctgtgcagt ctgtggatc tgctgggagc tccctgaggg gacccagaaa 15480
 aggaaatgac ctaaataaac cagggacttc ttgctctgga gttagtacc aagcagaggc 15540
 cttaaaactg gagagactgg aagagggtgt acgtgagctg gcctccgatg ccaaaggatg 15600
 gggttgggaa acgggatgac gactctaggg ttgtactgga gcatgtagag gacattatgt 15660
 ccacatctag cagaggatgt gggcgagttg gagccaggat agatgggtgg gt tggagacc 15720
 tgaagaagac tagatcagac tgaggaaggg gaacggagcc aagcaagggg cctgcccacc 15780
 tacagtctg ggcctcagtc ttaaaacata agccaagaaa tggccaaatg ggaattaggg 15840
 agtgggggac tgcagtgaac tgggctgtca ccactgtgta gggaaactag gggcttgagt 15900
 gtgcagctca gaggcagagc gctgtccagc aagcctccac cccaactccc aggggtgggac 15960
 agagtcacac agccagagag agagagagag agagagagga gagacagaga gagaatacaa 16020
 actagatact ctgaggggct gtgagagatt ctgtctcaaa aaaaaaaaaa aaaaagaaaa 16080
 aaaaaaaaaac caaaacaaaa gccaggggag gttgtaaaaac caaaagtca aggccagctc 16140
 aacagittiaa tgagactctg tctcaaaata aaaccataaa aggtgtagtc actgctaaag 16200
 cattcgcttg gcttctttga ggacctgggt acgatgcctc ggatgacaaa ataagaaacc 16260
 agattctatt ttcagttcat catgaaactg aacttcttag tgatagcagc ttaatttatg 16320
 tgggtttaaa accttgctat ttggggcctg aagagagggc tcagcagcag tgaagagcac 16380
 cggtttctct tccagaagat ctgggttcaa tccccagcgc ccacatgtcc ggagccatct 16440
 gtgtctcaa ttctagggat acaacgcctt cttttggcct ctgagggcac tgcattgcacc 16500
 tggtagcag acatccaggc aggcagaaca tccacacaca taaaaataat gttttttgtt 16560
 tttgtttct ttttttaaat ggctttaaaa tatggcattg gaacaatacc tagtccatgg 16620
 gccatattca gtccgtgctt gggtgtactt aagctagcta agggaccagg aatattctga 16680
 gtgateccag atacctggtt agatgggacg tagatgaatc agcggctcaa ggctggctg 16740
 gccggctcgg ggaatagggtg gctgcagaca ttgaaagagg aggcctgtgga cctgaattct 16800
 gagaggaaca aagcgcacc tttgagattc tgcggggttg gaaagaacca ctgaggacat 16860
 tgtccctttg gtttccagg gtgaccagcg ggaatgaagag gaagagtcct agatgaagaa 16920
 gtcggagtca gaggtggagg tgagagcggg gggagtggca agtgagacgg atgggcgggg 16980
 ctggctcag actgctagcc ccgccagct ctctaactct tccctgtgic cctcaggagg 17040
 cggctgcat cattgcccag cggcctgata acccacggga gttcttcaga cagcaggaac 17100
 gagtggcatc ggctctggtt ggcagctgtg acgcgcctgc gcctgcaccc ttaaccacc 17160

10

20

30

40

gaccaggtag tccttggccc cctccttgcc caatcagtac tcttcagact atggccctaa 17220
tccccctcgg gacttctctt tggaaaagaa gccttggcca aggaaggact ccttggagaa 17280
ggcaagaccc ccttcagtgt gcttccaccc ccagctttcc aggtgggtggc acccccggag 17340
gggctgggtt ggggggcact gtcaatgtcc ggcaatggct gagtatggct ggtactcaag 17400
gccagtggg aagatttggg gaagcttcag acacactgct ggtgttggga gtttccctgc 17460
agggttggac taggtctggc ccgaaggctt tggatgcatg gagggtggga tcttgcctcg 17520
tcttgcagtg tgagcatcct ggagcagtgg ttctctcggc tcgcttgttt ggcttctcct 17580
tgtgtagctt ctgcctcccc ttggaagcac ccttcattt cttgtctgcc ggtgtgagca 17640
tttgcattt ctgtgtgctt ggtcatgttg cgggggttcc aggagcatgg cagactagac 17700
tcattcgtgc tgctacacag aggcctggctg ttgtgtgccc atgtgtgtat ctgggtctgg 17760
ttgggtgggag gcatcagatg gctttaggct gtggcccagc ttggctgaat gtgcaccctg 17820
gctgaaggig gcttggacat ctagggtctgg ccttgggggt ggggtgaggcc ttggggcagg 17880
gggtgggggag actgaccctc tcttgtctc tgtctcttc tctgtctgtc tctctctcgg 17940
caggtcgtcc gtactgccct ttcataaagg catcggacag tgggccttcc tctctctcct 18000
cttctctctc tccccctca cggactcctt tccccatat cacctgccac cgcaccccaa 18060
acctctctc cccccctca tgtaggtagc agccccaggc ctgggcaggg tgggtaagg 18120
agggccccgc tcccagcag cccccctgcc ctttctcccc cagcctgact gccgactgct 18180
ggtgtttgtc ccagagcag gtactacctg cctcttgtcc ctggcccigt agggcactgg 18240
ccccagcgg ctgggttcac agggcttggg gcagcaatct ggccccctggg gggcctgggg 18300
agctcacagc cccaccac acttgagaca caaggtggat agtcttgatt ccacctggct 18360
cccacttct cactcactag cctgggcatt tgcctcgcag gcagccacct ggacagccac 18420
cggaggatgg caccactcc tatteccacc cggagcccat ctgattccag cacagcctct 18480
acccccatcg ctgagcagat cgagagggcc ctggatgagg tcacatctc gcagcctcca 18540
cctccacctc caccacctc accaactcaa ggtaagagaa gggccccacc ggtacctatc 18600
cttccatcag tctctgggia gggaaacctc ggttggcaca gtaacatagt tcaaagaact 18660
tggaccaatc ctaccaaca ctacactgct aaggaagtgg ctatagcaga ggagcgcctt 18720
ggtgttgcct ttagacaatg ccttctctaa cctcagtgg ctcactcctg aggaatgtgg 18780
ccttctctct ggtgggttaa aaaaagtgg tgagggtgg agagatggct ccgaggttaa 18840
gagcactggt tgcctcctt gaggctciga gtccaattcc cagcatccac atgggtggct 18900

10

20

30

40

acaaccacct ataatgagat ctggcaccct ctctgacct ggaggcgtac acgtaggcag 18960
 gatgctgtat acataataaa aatgaatctt tcaaaacata aaaatgaaaa gagtgggtga 19020
 aaggataggg aggtacagct gtagtagaag gtatctcaaa ttaccacaga agtctcaaac 19080
 tcgtcactct tcagtgggtg gacatgggtac actggcccag ggcatctatc cttecccaag 19140
 gggctgact gtattgtgtc cticatgtgc actgccacag aggccagga gactaccca 19200
 agcctggatg aagagctcag caaggaggcc aaagtaacag cagctcciga ggtctgggct 19260
 ggctgtgcgg cagagcccc tcaggcacag gaacctccc tgttgcaaag cagccccctg 19320
 gaggactcga tgtgcacaga atctccagag caggctgccc tggctgccc tgggagcct 19380
 gctgcctctg tcacctcagt agctgatgtc catgcagctg acaccatga gaccaccact 19440
 gccactactg acaccactat tgccaacaac gtcacctg ccgctgccag cctcattgat 19500
 ctatggcctg gcaacgggga agaggcctca acacttcagg ctgaaccag ggtgccaca 19560
 ccacctcag gtgctgaggg cctccctggca gaggigcccc tgcctgaatga ggccgctcag 19620
 gagccgctgc cgccggtagg cgaaggctgt gctaaccttc ttaatttga tgagctgcca 19680
 gaacctccag ccacctctg tgaccacagag gaggaagtag gagaaacgt ggtcgcctcc 19740
 caggctctaa ctatgccctc agctctagag gaggtagatc aggtgctgga gcaggagctg 19800
 gagccagaac ctacctgct gaccaatgga gagaccactc aaaaggagg gaccaggtg 19860
 ggacaggggg agcctgggtg gagggacagt attcagtgcg gagggggagg gcggattgct 19920
 ttagatcca tattgagaag cagctctatg ccacgcccc tccatctct gccattcgtt 19980
 cctggcaggg atctgtgtt cccagcaac caaggattcc aagagtggtt gctggggaaa 20040
 caggctcagg ctgatagat cagctgttgt ctgacagtt gggtcctggt gacctaaact 20100
 tttattaaac taactaaata aacaaacaaa acaaaaccaa ataacaaacc ccagcaggcc 20160
 agcgaaggat acttcagtea gtcacaggag gaagagttcg cccaatcaga agagccatgt 20220
 gcaaagggtc cgctctctgt attttacaac aagcctccag gtagtatccc cgggtgaatg 20280
 atgggaattc tggaattctg ggatgggact ggagggtcag ggggtgctact agagtcgggt 20340
 ggcacagctc ttagagggtg gggggcgggt ggcaccactg atggatctac ccagcctct 20400
 ctctctctc aatatactt agaaatcgac atcacttgc tggatgcaga ccagttcct 20460
 gaagaggaag agggcttcga gggiggigt tagtagcggc gactgcccc tggctgccc 20520
 cgccaaggct gctacctgc agtggcctct ggccagccgg ctgtagtgc cagcattagc 20580
 agcagccccg ctggctccc actctggatt ccggcactgg ccggggacct gctgcttcc 20640

10

20

30

40

ttaccacag ggcctgactt ttacagcttt tctc

20674

<210> 3

<211> 2124

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

10

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(2124)

<400> 3

atg gcc ggc gtc agc ttc agc ggc cac cgc ctg gag ctg ctg gcg gcg 48
 Met Ala Gly Val Ser Phe Ser Gly His Arg Leu Glu Leu Leu Ala Ala
 1 5 10 15

20

tac gag gag gtg atc cgg gag gag agt gca gcc gac tgg gct ctg tac 96
 Tyr Glu Glu Val Ile Arg Glu Glu Ser Ala Ala Asp Trp Ala Leu Tyr
 20 25 30

30

act tac gaa gat ggc tca gat gac ctc aag ctt gca gca tca gga gaa 144
 Thr Tyr Glu Asp Gly Ser Asp Asp Leu Lys Leu Ala Ala Ser Gly Glu
 35 40 45

gga ggc ttg cag gag ctt tca ggc cac ttc gag aac cag aaa gtg atg 192
 Gly Gly Leu Gln Glu Leu Ser Gly His Phe Glu Asn Gln Lys Val Met
 50 55 60

40

tac ggt ttc tgc agc gtc aag gac tcc cag gct gcc ttg cca aaa tat 240
 Tyr Gly Phe Cys Ser Val Lys Asp Ser Gln Ala Ala Leu Pro Lys Tyr
 65 70 75 80

gtg ctc atc aac tgg gtt ggt gag gat gtg cct gat gcc cga aaa tgt 288
 Val Leu Ile Asn Trp Val Gly Glu Asp Val Pro Asp Ala Arg Lys Cys
 85 90 95 10

gct tgt gcc agc cat gtg gcc aag gtg gct gaa ttc ttc cag ggc gtt 336
 Ala Cys Ala Ser His Val Ala Lys Val Ala Glu Phe Phe Gln Gly Val
 100 105 110

gac gta att gtg aat gcc agc agt gtg gag gat atc gat gct ggc gcc 384
 Asp Val Ile Val Asn Ala Ser Ser Val Glu Asp Ile Asp Ala Gly Ala
 115 120 125 20

att ggg cag cgg ctc tcc aat gga ctg gct cgg ctc tct agc cca gtg 432
 Ile Gly Gln Arg Leu Ser Asn Gly Leu Ala Arg Leu Ser Ser Pro Val
 130 135 140

ctg cac cgc ctg cgc ctt cgg gag gat gag aat gct gag ccg gtg ggc 480
 Leu His Arg Leu Arg Leu Arg Glu Asp Glu Asn Ala Glu Pro Val Gly
 145 150 155 160 30

acc acc tac cag aag acg gat gcg gcc gtg gag atg aag cgg att aac 528
 Thr Thr Tyr Gln Lys Thr Asp Ala Ala Val Glu Met Lys Arg Ile Asn
 165 170 175 40

cgt gag cag ttt tgg gag cag gcc aag aag gag gag gag ctg cgg aag 576

Arg Glu Gln Phe Trp Glu Gln Ala Lys Lys Glu Glu Glu Leu Arg Lys		
180	185	190
gag gag gag cgg aag aag gct ttg gat gcc agg ctc agg ttt gag cag	624	
Glu Glu Glu Arg Lys Lys Ala Leu Asp Ala Arg Leu Arg Phe Glu Gln		
195	200	205
gag cgg atg gag cag gag cgg cag gag cag gag gaa cgg gaa cgg cgc	672	
Glu Arg Met Glu Gln Glu Arg Gln Glu Gln Glu Glu Arg Glu Arg Arg		
210	215	220
tac cga gag cgg gag cag cag atc gag gag cac agg agg aaa cag cag	720	
Tyr Arg Glu Arg Glu Gln Gln Ile Glu Glu His Arg Arg Lys Gln Gln		
225	230	235
240		
agt ctg gaa gct gaa gag gcc aag agg agg tta aag gat cag tct atc	768	
Ser Leu Glu Ala Glu Glu Ala Lys Arg Arg Leu Lys Asp Gln Ser Ile		
245	250	255
ttt ggt gat cag cga gat gaa gag gaa gag tcc cag atg aag aag tcg	816	
Phe Gly Asp Gln Arg Asp Glu Glu Glu Glu Ser Gln Met Lys Lys Ser		
260	265	270
gaa tct gag gtg gag gag gca gct gcc atc att gcc cag cgg cct gat	864	
Glu Ser Glu Val Glu Glu Ala Ala Ala Ile Ile Ala Gln Arg Pro Asp		
275	280	285
aac cca cgg gag ttc ttc aga cag cag gaa cga gtg gct tca gcc tct	912	
Asn Pro Arg Glu Phe Phe Arg Gln Gln Glu Arg Val Ala Ser Ala Ser		

10

20

30

40

290	295	300		
ggt ggc agc tgt gac gca ccc tcg ccc ttc aac cac cga cca ggt cgt	960			
Gly Gly Ser Cys Asp Ala Pro Ser Pro Phe Asn His Arg Pro Gly Arg				
305	310	315	320	
ccg tac tgc cct ttc ata aag gca tcg gac agt ggg cct tcc tcc tcc	1008			10
Pro Tyr Cys Pro Phe Ile Lys Ala Ser Asp Ser Gly Pro Ser Ser Ser				
	325	330	335	
tcc tct tcc tcc tct tcc cct cca cgg act ccc ttt ccc tat atc acc	1056			
Ser Ser Ser Ser Ser Ser Pro Pro Arg Thr Pro Phe Pro Tyr Ile Thr				
	340	345	350	20
tgc cac cgc acc cca aac ctc tct tcc tcc ctc cca tgc agt cac ctg	1104			
Cys His Arg Thr Pro Asn Leu Ser Ser Ser Leu Pro Cys Ser His Leu				
	355	360	365	
gac agc cac cgg agg atg gcg ccc act ccc att ccc acc cgg agc cca	1152			
Asp Ser His Arg Arg Met Ala Pro Thr Pro Ile Pro Thr Arg Ser Pro				
	370	375	380	30
tct gat tcc agc aca gcc tcc acc ccc atc acg gag cag atc gag agg	1200			
Ser Asp Ser Ser Thr Ala Ser Thr Pro Ile Thr Glu Gln Ile Glu Arg				
	385	390	395	400
gcc ctg gat gag gtc aca tcc tcg cag cct cca ccc cca cct cca cca	1248			
Ala Leu Asp Glu Val Thr Ser Ser Gln Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro				
	405	410	415	40

ccc cca cca gct caa gag gcc cag gag tct gct ccc aga ctg gac ggt	1296	
Pro Pro Pro Ala Gln Glu Ala Gln Glu Ser Ala Pro Arg Leu Asp Gly		
420 425 430		
gaa gag gtc tgc aag gag gcc aaa gta gca gca gct cct cag gtc tgg	1344	
Glu Glu Val Cys Lys Glu Ala Lys Val Ala Ala Ala Pro Gln Val Trp		10
435 440 445		
gct ggc tgt gca gag gag cct cct cgg gca cag gaa cct ccc ctg ttg	1392	
Ala Gly Cys Ala Glu Glu Pro Pro Arg Ala Gln Glu Pro Pro Leu Leu		
450 455 460		
caa agc agc ccc acg gag gac ttg atg tgc aca gaa tct cct gag cag	1440	20
Gln Ser Ser Pro Thr Glu Asp Leu Met Cys Thr Glu Ser Pro Glu Gln		
465 470 475 480		
gct gtc ctg gcg gcc tct cca gag cct gat gcc tct gtc acc tca gta	1488	
Ala Val Leu Ala Ala Ser Pro Glu Pro Asp Ala Ser Val Thr Ser Val		
485 490 495		30
gct gat gct cat gca gct gac acc atc gag acc acc act gcc act act	1536	
Ala Asp Ala His Ala Ala Asp Thr Ile Glu Thr Thr Thr Ala Thr Thr		
500 505 510		
gcc acc act att gcc gac aac gtc acc cct gcc gcc gcc agc ctc att	1584	
Ala Thr Thr Ile Ala Asp Asn Val Thr Pro Ala Ala Ala Ser Leu Ile		40
515 520 525		

gat ctg tgg cct ggt aac ggg gaa gag gcc tca acg cct cag gct gaa	1632	
Asp Leu Trp Pro Gly Asn Gly Glu Glu Ala Ser Thr Pro Gln Ala Glu		
530 535 540		
ccc agg gtg ccc acc cca ccc tca ggt gct gag gcc tcc ctg gca gag	1680	
Pro Arg Val Pro Thr Pro Pro Ser Gly Ala Glu Ala Ser Leu Ala Glu		
545 550 555 560		10
gtg cct ctg ttg aat gag gca gct cag gag ccg ctg cca cca gtg ggc	1728	
Val Pro Leu Leu Asn Glu Ala Ala Gln Glu Pro Leu Pro Pro Val Gly		
565 570 575		
gaa ggc tgt gcc aac ctt ctt aat ttc gat gag ctg cca gaa cct cca	1776	
Glu Gly Cys Ala Asn Leu Leu Asn Phe Asp Glu Leu Pro Glu Pro Pro		20
580 585 590		
gcc acc ttc tgt gac cca gag gag gaa gcc gaa gga gag ccg ctg gct	1824	
Ala Thr Phe Cys Asp Pro Glu Glu Glu Ala Glu Gly Glu Pro Leu Ala		
595 600 605		
gcc tcc cag gtc cta act atg ccc tca gcc cta gag gag gta gat cag	1872	
Ala Ser Gln Val Leu Thr Met Pro Ser Ala Leu Glu Glu Val Asp Gln		30
610 615 620		
gtg ttg gag cag gag ttg gag cca gaa cct cat ctg ctg acc aat gga	1920	
Val Leu Glu Gln Glu Leu Glu Pro Glu Pro His Leu Leu Thr Asn Gly		
625 630 635 640		40
gag acc act cag aag gag ggg acc cag cag gcc agc gaa gga tac ttc	1968	

Glu Thr Thr Gln Lys Glu Gly Thr Gln Gln Ala Ser Glu Gly Tyr Phe
 645 650 655

agt cag tca cag gag gaa gaa ttc gcc caa tca gaa gag cca tgt gca 2016
 Ser Gln Ser Gln Glu Glu Glu Phe Ala Gln Ser Glu Glu Pro Cys Ala
 660 665 670

10

aag gct cca cct cct gta ttc tac aac aag cct cca gaa atc gac atc 2064
 Lys Ala Pro Pro Pro Val Phe Tyr Asn Lys Pro Pro Glu Ile Asp Ile
 675 680 685

acc tgc tgg gat gca gac cca gtt cct gaa gag gaa gag ggc ttc gag 2112
 Thr Cys Trp Asp Ala Asp Pro Val Pro Glu Glu Glu Glu Gly Phe Glu
 690 695 700

20

ggt ggt gat tag 2124
 Gly Gly Asp
 705

<210> 4

30

<211> 707

<212> PRT

<213> *Rattus norvegicus*

<400> 4

Met Ala Gly Val Ser Phe Ser Gly His Arg Leu Glu Leu Leu Ala Ala
 1 5 10 15
 Tyr Glu Glu Val Ile Arg Glu Glu Ser Ala Ala Asp Trp Ala Leu Tyr

40

	20		25		30	
Thr Tyr Glu Asp Gly Ser Asp Asp Leu Lys Leu Ala Ala Ser Gly Glu						
	35		40		45	
Gly Gly Leu Gln Glu Leu Ser Gly His Phe Glu Asn Gln Lys Val Met						
	50		55		60	
Tyr Gly Phe Cys Ser Val Lys Asp Ser Gln Ala Ala Leu Pro Lys Tyr						
65		70		75		80
Val Leu Ile Asn Trp Val Gly Glu Asp Val Pro Asp Ala Arg Lys Cys						
	85		90		95	
Ala Cys Ala Ser His Val Ala Lys Val Ala Glu Phe Phe Gln Gly Val						
	100		105		110	
Asp Val Ile Val Asn Ala Ser Ser Val Glu Asp Ile Asp Ala Gly Ala						
	115		120		125	
Ile Gly Gln Arg Leu Ser Asn Gly Leu Ala Arg Leu Ser Ser Pro Val						
	130		135		140	
Leu His Arg Leu Arg Leu Arg Glu Asp Glu Asn Ala Glu Pro Val Gly						
145		150		155		160
Thr Thr Tyr Gln Lys Thr Asp Ala Ala Val Glu Met Lys Arg Ile Asn						
	165		170		175	
Arg Glu Gln Phe Trp Glu Gln Ala Lys Lys Glu Glu Glu Leu Arg Lys						
	180		185		190	
Glu Glu Glu Arg Lys Lys Ala Leu Asp Ala Arg Leu Arg Phe Glu Gln						
	195		200		205	
Glu Arg Met Glu Gln Glu Arg Gln Glu Gln Glu Glu Arg Glu Arg Arg						
	210		215		220	
Tyr Arg Glu Arg Glu Gln Gln Ile Glu Glu His Arg Arg Lys Gln Gln						
225		230		235		240
Ser Leu Glu Ala Glu Glu Ala Lys Arg Arg Leu Lys Asp Gln Ser Ile						
	245		250		255	

Phe Gly Asp Gln Arg Asp Glu Glu Glu Glu Ser Gln Met Lys Lys Ser			
260	270		
Glu Ser Glu Val Glu Glu Ala Ala Ala Ile Ile Ala Gln Arg Pro Asp			
275	285		
Asn Pro Arg Glu Phe Phe Arg Gln Gln Glu Arg Val Ala Ser Ala Ser			
290	300		
Gly Gly Ser Cys Asp Ala Pro Ser Pro Phe Asn His Arg Pro Gly Arg	10		
305	310	315	320
Pro Tyr Cys Pro Phe Ile Lys Ala Ser Asp Ser Gly Pro Ser Ser Ser			
325	330	335	
Ser Ser Ser Ser Ser Ser Pro Pro Arg Thr Pro Phe Pro Tyr Ile Thr			
340	345	350	
Cys His Arg Thr Pro Asn Leu Ser Ser Ser Leu Pro Cys Ser His Leu	20		
355	360	365	
Asp Ser His Arg Arg Met Ala Pro Thr Pro Ile Pro Thr Arg Ser Pro			
370	375	380	
Ser Asp Ser Ser Thr Ala Ser Thr Pro Ile Thr Glu Gln Ile Glu Arg			
385	390	395	400
Ala Leu Asp Glu Val Thr Ser Ser Gln Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro			
405	410	415	
Pro Pro Pro Ala Gln Glu Ala Gln Glu Ser Ala Pro Arg Leu Asp Gly	30		
420	425	430	
Glu Glu Val Cys Lys Glu Ala Lys Val Ala Ala Ala Pro Gln Val Trp			
435	440	445	
Ala Gly Cys Ala Glu Glu Pro Pro Arg Ala Gln Glu Pro Pro Leu Leu			
450	455	460	
Gln Ser Ser Pro Thr Glu Asp Leu Met Cys Thr Glu Ser Pro Glu Gln	40		
465	470	475	480
Ala Val Leu Ala Ala Ser Pro Glu Pro Asp Ala Ser Val Thr Ser Val			

	485	490	495	
Ala Asp Ala His	Ala Ala Asp Thr Ile Glu Thr Thr Thr Ala Thr Thr			
	500	505	510	
Ala Thr Thr Ile	Ala Asp Asn Val Thr Pro Ala Ala Ala Ser Leu Ile			
	515	520	525	
Asp Leu Trp Pro	Gly Asn Gly Glu Glu Ala Ser Thr Pro Gln Ala Glu			
	530	535	540	10
Pro Arg Val Pro	Thr Pro Pro Ser Gly Ala Glu Ala Ser Leu Ala Glu			
	545	550	555	560
Val Pro Leu Leu	Asn Glu Ala Ala Gln Glu Pro Leu Pro Pro Val Gly			
	565	570	575	
Glu Gly Cys Ala	Asn Leu Leu Asn Phe Asp Glu Leu Pro Glu Pro Pro			
	580	585	590	
Ala Thr Phe Cys	Asp Pro Glu Glu Glu Ala Glu Gly Glu Pro Leu Ala			20
	595	600	605	
Ala Ser Gln Val	Leu Thr Met Pro Ser Ala Leu Glu Glu Val Asp Gln			
	610	615	620	
Val Leu Glu Gln	Glu Leu Glu Pro Glu Pro His Leu Leu Thr Asn Gly			
	625	630	635	640
Glu Thr Thr Gln	Lys Glu Gly Thr Gln Gln Ala Ser Glu Gly Tyr Phe			
	645	650	655	30
Ser Gln Ser Gln	Glu Glu Glu Phe Ala Gln Ser Glu Glu Pro Cys Ala			
	660	665	670	
Lys Ala Pro Pro	Pro Val Phe Tyr Asn Lys Pro Pro Glu Ile Asp Ile			
	675	680	685	
Thr Cys Trp Asp	Ala Asp Pro Val Pro Glu Glu Glu Glu Gly Phe Glu			
	690	695	700	
Gly Gly Asp				40
	705			

⟨210⟩ 5	
⟨211⟩ 24	
⟨212⟩ DNA	
⟨213⟩ <i>Rattus norvegicus</i>	10
⟨400⟩ 5	
aggcatcgga cagtgggcct tcct	24
⟨210⟩ 6	
⟨211⟩ 24	20
⟨212⟩ DNA	
⟨213⟩ Artificial Sequence	
⟨220⟩	
⟨223⟩ Description of Artificial Sequence:Antisense oligonucleotide	30
⟨400⟩ 6	
aggaaggccc actgtccgat gcct	24
⟨210⟩ 7	
⟨211⟩ 9	
⟨212⟩ PRT	40
⟨213⟩ <i>Rattus norvegicus</i>	

<400> 7

Lys Ala Ser Asp Ser Gly Pro Ser Ser

1

5

<210> 8

10

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Antisense
oligonucleotide

20

<400> 8

ttatgaaagg gcagtacgga cgac

24

<210> 9

<211> 24

30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Antisense
oligonucleotide

40

<400> 9

tatagggaaa gggagtcctt ggag

24

<210> 10

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

10

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Antisense
oligonucleotide

<400> 10

ggtttgggtt gcggtggcag gtga

24

20

【図面の簡単な説明】

【図1】マウスのレプリンAのゲノミック遺伝子のエクソン-イントロン構成を示す図である。

【図2】染色体13番におけるマウスのレプリンAのゲノミック遺伝子(Dbn1)の染色体地図を示す図である。

【図3】アンチセンス鎖5'-AGGAAGGCCCACTGTCCGATGCCT-3'を投与した場合のウエスタンブロットの結果を示す図である。

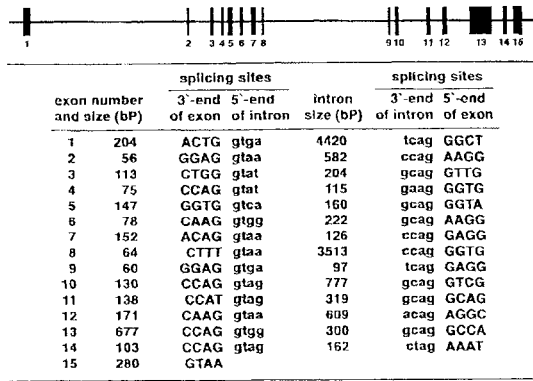
【図4】アンチセンス鎖5'-AGGAAGGCCCACTGTCCGATGCCT-3'を投与した場合の免疫染色の結果を示す図である。

【図5】アンチセンス鎖5'-AGGAAGGCCCACTGTCCGATGCCT-3'を投与した場合のスプライン長の測定結果を示す図である。

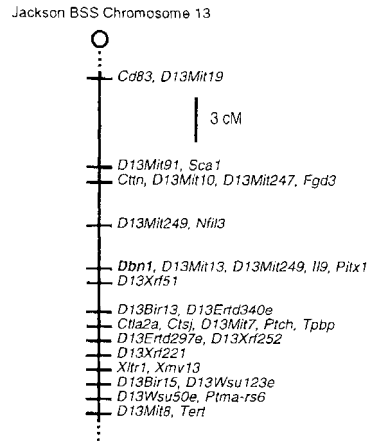
【図6】アンチセンス鎖5'-AGGAAGGCCCACTGTCCGATGCCT-3'を投与した場合のスプライン密度の測定結果を示す図である。

30

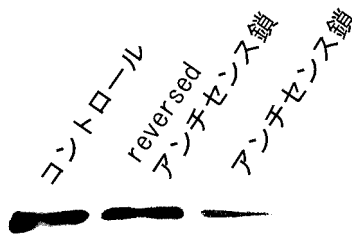
【 図 1 】



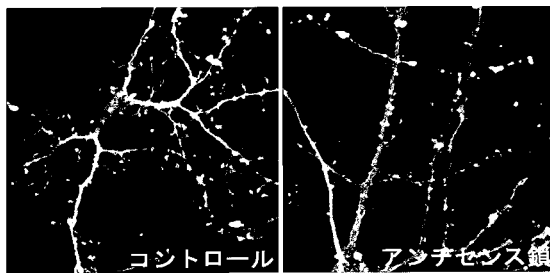
【 図 2 】



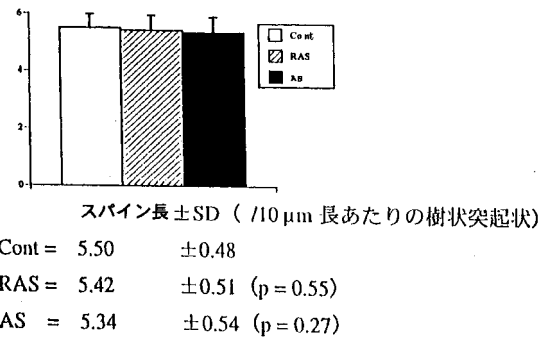
【 図 3 】



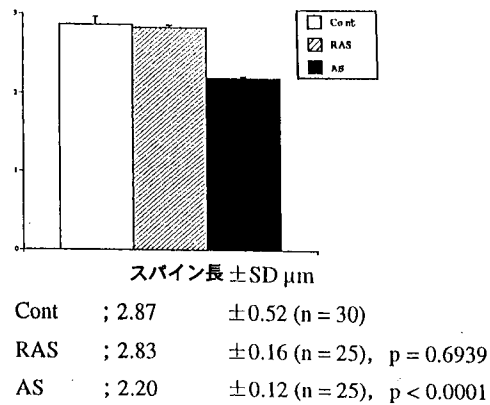
【 図 4 】



【 図 6 】



【 図 5 】



フロントページの続き

(51) Int.Cl.

A 6 1 P 43/00 (2006.01)
C 0 7 K 16/18 (2006.01)
C 1 2 P 21/08 (2006.01)

F I

A 6 1 P 25/00
A 6 1 P 43/00 1 0 5
C 0 7 K 16/18
C 1 2 P 21/08

(56) 参考文献 Developmental Brain Research (1996), 91(2), 227-36

(58) 調査した分野(Int.Cl., D B 名)

C12N 15/09
C07K 16/18
C12P 21/08
A61K 31/711
A61K 39/395
A61K 48/00
CA(STN)
BIOSIS(STN)
MEDLINE(STN)
REGISTRY(STN)
WPIDS(STN)