

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 1 部門第 1 区分

【発行日】平成 17 年 11 月 17 日 (2005.11.17)

【公表番号】特表 2003-534767(P2003-534767A)

【公表日】平成 15 年 11 月 25 日 (2003.11.25)

【出願番号】特願 2000-584067(P2000-584067)

【国際特許分類第 7 版】

C 1 2 N 15/09

C 0 7 K 14/705

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 5/10

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 0 7 K 14/705

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 5/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成 16 年 4 月 28 日 (2004.4.28)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 (a) 配列番号 8 に記載のアミノ酸配列を含むポリペプチドをコードする配列；

(b) 配列番号 7 に記載の配列；

(c) ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で (a) 又は (b) にハイブリダイズするポリヌクレオチドの配列に相補的な配列；

(d) 配列番号 7 1 及び / 又は配列番号 7 2 に記載のヌクレオチド配列を含むプライマーを用いるポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) によって増幅可能なポリヌクレオチドの配列；

(e) 配列番号 8 の構成的に活性化された変異体をコードする配列であって、当該構成的に活性化された変異体は、配列番号 8 の T M 6 ドメイン内の保存的なプロリン残基から 1 6 アミノ酸残基の位置における変異を含む；

(f) 配列番号 8 の T M 6 ドメイン内の保存的なプロリン残基をコードするコドンから 1 6 アミノ酸残基 N 末端側のアミノ酸をコードするコドンに位置する変異を含む配列番号 7 の変異体；及び

(g) 内在性の G タンパク質共役型受容体のアミノ酸配列をコードする配列であって、ヒト DNA サンプルにおいて、配列番号 7 1 及び / 又は配列番号 7 2 に記載のヌクレオチド配列を含むプライマーを用いてポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) を実施することによって取得可能な配列、

からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含む、ヒト G タンパク質共役型受容体ポリペプチドをコードする単離ポリヌクレオチド。

【請求項 2】 (a) 配列番号 8 に記載のアミノ酸配列をコードする配列；及び

(b) 配列番号 7 に記載のヌクレオチド配列、
からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含む、ヒト G タンパク質共役型受容体ポリ
ペプチドをコードする単離ポリヌクレオチド。

【請求項 3】 ヒト膵臓組織から得られる請求項 1 又は 2 に記載の単離ポリヌクレオ
チド。

【請求項 4】 当該ヌクレオチド配列は、内在的にヒト膵臓によって選択的に発現さ
れる請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の単離ポリヌクレオチド。

【請求項 5】 発現は、R T - P C R を実施することを含むプロセスを用いて決定さ
れる請求項 4 記載の単離ポリヌクレオチド。

【請求項 6】 当該ポリヌクレオチドは、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の単離
ポリヌクレオチドのヌクレオチド配列を含む、G P C R 融合タンパク質をコードする単離
ポリヌクレオチド。

【請求項 7】 G タンパク質をコードする核酸を含む請求項 6 記載の単離ポリヌクレ
オチド。

【請求項 8】 請求項 1 記載の単離ポリヌクレオチドに相補的な単離ポリヌクレオチ
ド。

【請求項 9】 請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチドを含むベクタ
ー。

【請求項 10】 当該ベクターは発現ベクターであり、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項
に記載のポリヌクレオチドは作動可能であるようにプロモーターに結合している請求項 9
記載のベクター。

【請求項 11】 請求項 9 記載のベクターを含む組換え宿主細胞。

【請求項 12】 請求項 10 記載のベクターを含む組換え宿主細胞。

【請求項 13】 請求項 11 記載の組換え宿主細胞の単離膜であって、請求項 1 ~ 7
のいずれか一項に記載の単離ポリヌクレオチドによってコードされる G タンパク質共役型
受容体を含む膜。

【請求項 14】 (a) 請求項 10 記載の発現ベクターを宿主細胞にトランスフェク
トし、それによってトランスフェクトされた宿主細胞を生産し；及び

(b) トランスフェクトされた宿主細胞を、ヒト G タンパク質共役型受容体又は G P C R
融合タンパク質を発現ベクターから発現するのに十分な条件下で培養する、
ステップを含む、ヒト G タンパク質共役型受容体又は G P C R 融合タンパク質を生産する
方法。

【請求項 15】 トランスフェクトされた宿主細胞を取得することを更に含む請求項
14 記載の方法。

【請求項 16】 宿主細胞は哺乳動物細胞である請求項 14 又は 15 記載の方法。

【請求項 17】 哺乳動物細胞は、C O S - 7 細胞、293 細胞、及び 293 T 細胞
からなる群から選択される請求項 16 記載の方法。

【請求項 18】 宿主細胞は膵臓の細胞である請求項 14 ~ 16 のいずれか一項に記
載の方法。

【請求項 19】 (a) 配列番号 8 に記載のアミノ酸配列を含む配列；

(b) ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で配列番号 7 にハイブリダイズ
するポリヌクレオチドに相補的な配列にコードされる配列；

(c) 配列番号 7 1 及び / 又は配列番号 7 2 に記載のヌクレオチド配列を含むプライマー
を用いるポリメラーゼ連鎖反応 (P C R) によって増幅可能なポリヌクレオチドにコード
される配列；

(d) 配列番号 8 の構成的に活性化される変異体の配列であって、当該構成的に活性化さ
れる変異体は、配列番号 8 の T M 6 ドメイン内の保存的なプロリン残基から 16 アミノ酸
残基 N 末端側に位置する変異を含む配列；及び

(e) 内在性の G タンパク質共役型受容体をコードする核酸配列にコードされる配列であ
って、当該核酸配列は、ヒト D N A サンプルにおいて、配列番号 7 1 及び / 又は配列番号

72に記載のヌクレオチド配列を含むプライマーを用いてポリメラーゼ連鎖反応（PCR）を実施することによって取得可能である、
からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、単離又は組換えヒトGタンパク質共役型受容体ポリペプチド。

【請求項20】 配列番号8に記載のアミノ酸配列を含む単離又は組換えヒトGタンパク質共役型受容体ポリペプチド。

【請求項21】 請求項19又は20に記載の単離又は組換えヒトGタンパク質共役型受容体ポリペプチドのアミノ酸配列を含む単離又は組換えGPCR融合タンパク質。

【請求項22】 Gタンパク質を含む請求項21記載の単離又は組換えGPCR融合タンパク質。

【請求項23】 （a）候補化合物を、請求項19又は20に記載のヒトGタンパク質共役型受容体ポリペプチドを発現する組換え宿主細胞あるいは当該ヒトGタンパク質共役型受容体ポリペプチドを含む単離膜に接触させ；及び

（b）化合物がGタンパク質共役型受容体ポリペプチドの機能性を阻害又は促進する能力を測定し、当該機能性の阻害又は促進は、候補化合物がGタンパク質共役型受容体ポリペプチドのアゴニスト、部分的アゴニスト又は反作用薬であることを示す、
ステップを含むGタンパク質共役型受容体のアゴニスト、部分的アゴニスト又は反作用薬としての1又はそれ以上の候補化合物を同定する方法。

【請求項24】 宿主細胞又は膜を提供することを更に含む請求項23記載の方法。

【請求項25】 宿主細胞は請求項10記載の発現ベクターを含む請求項23又は24記載の方法。

【請求項26】 ヒトGタンパク質共役型受容体ポリペプチドは、配列番号8に記載のアミノ酸配列を含む請求項23～25のいずれか一項に記載の方法。

【請求項27】 （a）候補化合物を、請求項21又は22に記載のGPCR融合タンパク質を発現する組換え宿主細胞あるいは当該GPCR融合タンパク質を含む単離膜に接触させ；及び

（b）化合物が当該GPCR融合タンパク質のGタンパク質共役型受容体ポリペプチド部分の機能性を阻害又は促進する能力を測定し、当該機能性の阻害又は促進は、候補化合物がGタンパク質共役型受容体ポリペプチドのアゴニスト、部分的アゴニスト又は反作用薬であることを示す、
ステップを含むGタンパク質共役型受容体のアゴニスト、部分的アゴニスト又は反作用薬としての1又はそれ以上の候補化合物を同定する方法。

【請求項28】 宿主細胞又は膜を提供することを更に含む請求項27記載の方法。

【請求項29】 宿主細胞は請求項10記載の発現ベクターを含む請求項27又は28記載の方法。

【請求項30】 GPCR融合タンパク質は、配列番号8に記載のアミノ酸配列及びGタンパク質のアミノ酸配列を含む請求項27～29のいずれか一項に記載の方法。

【請求項31】 （a）配列番号8に記載のアミノ酸配列及びGタンパク質を含むGPCR融合タンパク質を発現する組換え宿主細胞又は当該GPCR融合タンパク質を含む単離膜を提供し；

（b）候補化合物を組換え宿主細胞又は単離膜に接触させ；及び

（c）化合物が当該GPCR融合タンパク質のGタンパク質共役型受容体ポリペプチド部分の機能性を阻害又は促進する能力を測定し、当該機能性の阻害又は促進は、候補化合物がGタンパク質共役型受容体ポリペプチドのアゴニスト、部分的アゴニスト又は反作用薬であることを示す、
ステップを含むGタンパク質共役型受容体のアゴニスト、部分的アゴニスト又は反作用薬としての1又はそれ以上の候補化合物を同定する方法。

【請求項32】 請求項23～31のいずれか一項に記載の方法を実施することを含む、臍臓中のGタンパク質共役型受容体によって媒介されるシグナル伝達を変化させる化合物を同定するためのプロセス。