

【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27年8月13日(2015.8.13)

【公表番号】特表2014-525735(P2014-525735A)

【公表日】平成26年10月2日(2014.10.2)

【年通号数】公開・登録公報2014-054

【出願番号】特願2014-516358(P2014-516358)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/09	(2006.01)
C 1 2 N	1/15	(2006.01)
C 1 2 N	1/19	(2006.01)
C 1 2 N	1/21	(2006.01)
C 1 2 N	5/10	(2006.01)
C 0 7 K	16/00	(2006.01)
C 0 7 K	1/14	(2006.01)
C 1 2 P	21/02	(2006.01)
C 0 7 K	17/00	(2006.01)
G 0 1 N	33/15	(2006.01)
G 0 1 N	33/50	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	15/00	Z N A A
C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	5/00	1 0 1
C 0 7 K	16/00	
C 0 7 K	1/14	
C 1 2 P	21/02	C
C 0 7 K	17/00	
G 0 1 N	33/15	Z
G 0 1 N	33/50	Z

【手続補正書】

【提出日】平成27年6月22日(2015.6.22)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

以下の式(1) :

F R 1 - C D R 1 - F R 2 - C D R 2 - F R 3 - C D R 3 - F R 4 (1)

に従って、4つのフレームワーク領域(F R 1からF R 4)および3つの相補性決定領域(C D R 1からC D R 3)を含むアミノ酸配列を含む免疫グロブリン単一可変ドメインであって、前記免疫グロブリン単一可変ドメインが、G P C RおよびGタンパク質を含む複合体に対するか、かつ/または特異的に結合し、前記複合体中のG P C RではなくGタンパク質に特異的に結合する、免疫グロブリン単一可変ドメイン。

【請求項2】

ヘテロ三量体 G タンパク質単独への結合と比べてより高い親和性で前記複合体に結合する請求項 1 に記載の免疫グロブリン单一可変ドメイン。

【請求項 3】

前記複合体が受容体リガンドをさらに含む請求項 1 に記載の免疫グロブリン单一可変ドメイン。

【請求項 4】

前記受容体リガンドがアゴニストである請求項 3 に記載の免疫グロブリン单一可変ドメイン。

【請求項 5】

G タンパク質がヌクレオチドがない形態である請求項 1 から 4 のいずれかに記載の免疫グロブリン单一可変ドメイン。

【請求項 6】

前記 G タンパク質のアルファとベータサブユニット間の界面で立体構造エピトープに特異的に結合する請求項 1 から 5 のいずれかに記載の免疫グロブリン单一可変ドメイン。

【請求項 7】

- a ) ヌクレオチドの存在下で前記複合体の解離を防ぐか、もしくは阻害する、または
- b ) G タンパク質へのヌクレオチドの結合を防ぐか、もしくは阻害する、または
- c ) G タンパク質からヌクレオチドを置換することができる、

請求項 1 から 6 のいずれかに記載の免疫グロブリン单一可変ドメイン。

【請求項 8】

前記ヌクレオチドが、GDP もしくは GTP などのグアニンヌクレオチドまたは GTP-S などのそのアナログである請求項 5 から 7 のいずれかに記載の免疫グロブリン单一可変ドメイン。

【請求項 9】

GPCR が活性立体構造状態である請求項 1 から 8 のいずれかに記載の免疫グロブリン单一可変ドメイン。

【請求項 10】

G タンパク質が、Gs、Gi、Go、Gt、Ggust、Gz、Golf、Gq、G12、G13 からなる群から選択される請求項 1 から 9 のいずれかに記載の免疫グロブリン单一可変ドメイン。

【請求項 11】

前記 GPCR がヒトタンパク質である請求項 1 から 10 のいずれかに記載の免疫グロブリン单一可変ドメイン。

【請求項 12】

免疫グロブリン单一可変ドメインが、以下の式(1)：

FR1 - CDR1 - FR2 - CDR2 - FR3 - CDR3 - FR4 (1)

に従って、4つのフレームワーク領域(FR1 から FR4)および3つの相補性決定領域(CDR1 から CDR3)を含むアミノ酸配列を含み、CDR1 は

a ) 配列番号 13 - 18、

b ) 配列番号 13 - 18 と少なくとも 80 % のアミノ酸同一性を有するポリペプチド、

c ) 配列番号 13 - 18 と 3 つ、2 つまたは 1 つのアミノ酸差異を有するポリペプチドからなる群から選択され、CDR2 は

a ) 配列番号 25 - 30、

b ) 配列番号 25 - 30 と少なくとも 80 % のアミノ酸同一性を有するポリペプチド、

c ) 配列番号 25 - 30 と 3 つ、2 つまたは 1 つのアミノ酸差異を有するポリペプチドからなる群から選択され、CDR3 は

a ) 配列番号 37 - 42、

b ) 配列番号 37 - 42 と少なくとも 80 % のアミノ酸同一性を有するポリペプチド、

c ) 配列番号 37 - 42 と 3 つ、2 つまたは 1 つのアミノ酸差異を有するポリペプチドからなる群から選択される、請求項 1 から 11 のいずれかに記載の免疫グロブリン单一可

変ドメイン。

【請求項 13】

免疫グロブリン単一可変ドメインがナノボディ ( $V_H$ ) である請求項 1 から 12 のい  
ずれかに記載の免疫グロブリン単一可変ドメイン。

【請求項 14】

ナノボディが、配列番号 1 から 6 またはそれらのバリエントからなる群から選択される  
アミノ酸配列を有する請求項 13 に記載の免疫グロブリン単一可変ドメイン。

【請求項 15】

前記免疫グロブリン単一可変ドメインがポリペプチドに含まれる請求項 1 から 14 のい  
ずれかに記載の免疫グロブリン単一可変ドメイン。

【請求項 16】

請求項 1 から 15 のいずれかに記載の免疫グロブリン単一可変ドメインを含む複合体。

【請求項 17】

請求項 1 から 15 のいずれかに記載の免疫グロブリン単一可変ドメインのアミノ酸配列  
をコードする核酸配列。

【請求項 18】

請求項 17 に記載の核酸配列を含む組換えベクター。

【請求項 19】

請求項 18 に記載の組換えベクターまたは請求項 17 に記載の核酸配列を含む細胞。

【請求項 20】

G P C R と、G タンパク質と、任意選択的に受容体リガンドを含む複合体を活性立体構  
造で安定化するための、請求項 1 から 15 のいずれかに記載の免疫グロブリン単一可変ド  
メインの使用。

【請求項 21】

ヌクレオチド、特にグアニンヌクレオチドまたは G T P S などのそのアナログの存在  
下で前記複合体の解離を防ぐための、請求項 20 に記載の使用。

【請求項 22】

G P C R と、G タンパク質と、任意選択的に受容体リガンドを含む複合体を結晶化する  
か、かつ / または該複合体の構造を解明するための、請求項 1 から 15 のいずれかに記載  
の免疫グロブリン単一可変ドメインの使用。

【請求項 23】

G P C R のシグナル伝達活性を調節する化合物についてスクリーニングするための、請求  
項 1 から 15 のいずれかに記載の免疫グロブリン単一可変ドメインまたは請求項 19 に  
記載の細胞または請求項 19 に記載の細胞の膜調製物の使用。

【請求項 24】

G P C R および G タンパク質を含む複合体を捕捉するか、かつ / または精製する方法で  
あって、

a ) 請求項 1 から 15 のいずれかに記載の免疫グロブリン単一可変ドメインを用意する段  
階と、

b ) 前記免疫グロブリン単一可変ドメインを、G P C R と、G タンパク質と、任意選択的  
に受容体リガンドを含む複合体に結合させる段階と、

c ) 任意選択的に、段階 b ) において形成された複合体を単離する段階  
を含む方法。

【請求項 25】

G P C R および G タンパク質を含む複合体に対する、かつ / または特異的に結合する免疫  
グロブリン単一可変ドメインを產生する方法であって、

a ) 適切な細胞発現系において請求項 17 に記載の核酸を発現させる段階と、任意選択的  
に、

b ) 免疫グロブリン単一可変ドメインを単離および / または精製する段階  
を含む方法。

**【請求項 2 6】**

G P C R および G タンパク質を含む複合体に対する、かつ / または特異的に結合する免疫グロブリン単一可変ドメインについてスクリーニングする方法であって、

- a ) 複数の免疫グロブリン単一可変ドメインを用意する段階と、
- b ) G P C R および G タンパク質を含む複合体に結合する免疫グロブリン単一可変ドメインについて前記複数の免疫グロブリン単一可変ドメインをスクリーニングする段階と、
- c ) 前記複合体に結合する免疫グロブリン単一可変ドメインを単離する段階を含む方法。