

【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12月22日(2005.12.22)

【公表番号】特表2004-531224(P2004-531224A)

【公表日】平成16年10月14日(2004.10.14)

【年通号数】公開・登録公報2004-040

【出願番号】特願2002-559452(P2002-559452)

【国際特許分類第7版】

C 1 2 N 15/09

A 0 1 K 67/027

A 6 1 K 45/00

A 6 1 P 25/28

A 6 1 P 43/00

C 0 7 K 14/47

C 0 7 K 19/00

C 1 2 N 5/10

C 1 2 P 21/02

G 0 1 N 33/15

G 0 1 N 33/50

G 0 1 N 33/53

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

A 0 1 K 67/027

A 6 1 K 45/00

A 6 1 P 25/28

A 6 1 P 43/00 1 1 1

C 0 7 K 14/47

C 0 7 K 19/00

C 1 2 P 21/02 C

G 0 1 N 33/15 Z

G 0 1 N 33/50 Z

G 0 1 N 33/53 D

C 1 2 N 5/00 B

【手続補正書】

【提出日】平成16年12月15日(2004.12.15)

【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】

誘導された立体配座の重合相互作用によって、凝集性疾患タンパク質(A D P)が、病的に凝集する病態に伴う凝集性疾患タンパク質(A D P)の病理学的状態を誘導するか、またはモデル化する方法であって、(i) A D Pに由来するか、またはA D Pの病理学的凝集を開始するタンパク質に由来する凝集部分と、(ii) 異種性膜局在部分とを含む、膜局在可能な融合タンパク質を提供する工程を特徴とする方法。

【請求項2】

融合タンパク質の凝集部分が、A D Pに由来し、融合タンパク質の膜局在が、A D Pタンパク質の高親和性捕捉部位を別のA D Pの凝集を促進するように暴露させるようにし、そして病態におけるA D Pの病理学的凝集が、コアドメインフラグメントへのA D Pのタンパク質分解性プロセッシングをもたらす、請求項1記載の方法。

【請求項3】

- (a) 融合タンパク質を提供することと；
- (b) それを膜に導入することと；

の工程を含む、請求項1または請求項2記載の方法。

【請求項4】

病態におけるA D Pの凝集が、神経変性および/または臨床的痴呆に伴う、請求項1～請求項3のいずれか一項記載の方法。

【請求項5】

凝集部分が、少なくともA D Pのコアフラグメントを含むか、または本質的に少なくともA D Pのコアフラグメントからなる、請求項4記載の方法。

【請求項6】

膜局在部分が、膜アンカー配列および/または輸送停止配列を含む、請求項1～請求項5のいずれか一項記載の方法。

【請求項7】

疾患が、ピック病、進行性核上性麻痺、アルツハイマー病から選択される、請求項1～請求項6のいずれか一項記載の方法。

【請求項8】

A D Pが、タウタンパク質である、請求項1～請求項7のいずれか一項記載の方法。

【請求項9】

融合タンパク質の凝集部分がタウのコアフラグメントを含み、タウのフラグメントが図5に示す全長のタウタンパク質のアミノ酸186～296から390～441にわたる、請求項8記載の方法。

【請求項10】

融合タンパク質の凝集部分が、全長のタウタンパク質のアミノ酸残基296～390、190～441または190～390からなる、請求項9記載の方法。

【請求項11】

- (a) 膜局在形態の融合タンパク質を提供することと；
- (b) 融合タンパク質を一以上の可能性のある結合パートナーと接触させることと（ここで、該接触工程は、細胞内であり、結合パートナーは、細胞内に存在する）；
- (c) 可能性のある結合パートナーが、融合タンパク質に結合するかどうかを決定することと；

の工程を含む、A D P高親和性捕捉部位の特異的結合パートナーに関してスクリーニングするための、請求項2～請求項10のいずれか一項記載の方法。

【請求項12】

- (a) 膜局在形態の融合タンパク質を提供することと；
- (b) 融合タンパク質、およびA D Pまたはその誘導体である別のA D P分子間の立体配座の重合相互作用の誘導を引き起こすか、または可能にすることと；
- (c) 場合によっては別のA D P分子の凝集の程度をモニターリングすることと；

の工程を含む、A D P分子の凝集を誘導するための、請求項1～請求項10のいずれか一項記載の方法。

【請求項13】

膜が、細胞膜であり、そして凝集が、細胞内で生じる、請求項12記載の方法。

【請求項14】

工程(a)が、
細胞内に融合タンパク質を導入して、それが細胞内の膜で膜局在化するようにすること、または

融合タンパク質をコードする核酸を細胞またはその祖先内に導入して、融合タンパク質を細胞において発現させ、そして細胞内の膜で膜局在化するようにすること、のいずれかからなる、請求項 13 記載の方法。

【請求項 15】

別の ADP 分子が、細胞に生来のものである、全長の可溶性 ADP である、請求項 14 記載の方法。

【請求項 16】

別の ADP 分子をコードする核酸を、細胞またはその祖先内に導入し、別の ADP 分子が細胞において発現される工程を含み、別の ADP 分子が、細胞に対して異種性である、請求項 13 または請求項 14 記載の方法。

【請求項 17】

融合タンパク質が、構成プロモーターの転写制御下で発現され、そして別の ADP 分子が、適当な誘導剤の存在下、誘導プロモーターの転写制御下で発現される、請求項 16 記載の方法。

【請求項 18】

別の ADP 分子が、(i) ADP のフラグメント、(ii) ADP の突然変異体または (iii) 全長の可溶性 ADP である、ADP の誘導體である、請求項 16 または請求項 17 記載の方法。

【請求項 19】

別の ADP 分子が、病態に伴うことが解っているか、または推測されるものに対応する ADP に変異を組み込む、請求項 16 または請求項 18 記載の方法。

【請求項 20】

以下の種類：(i) 非凝集融合タンパク質および/または別の ADP 分子；(ii) 融合タンパク質および/または別の ADP 分子の凝集物；(iii) その凝集の結果である融合タンパク質および/または別の ADP 分子のタンパク質分解性フラグメント；のいずれか一つまたはそれ以上の濃度またはレベルをモニターリングすることにより凝集をモニターリングする、請求項 12 ~ 請求項 19 のいずれか一項記載の方法。

【請求項 21】

ADP が、タウであり、そしてタウのおよそ 18 または 25 kDa のフラグメントのレベルの増加に基づいて凝集をモニターリングする、請求項 20 記載の方法。

【請求項 22】

モニターリングの工程が、(i) 融合タンパク質；(ii) 別の ADP 分子；(iii) その凝集の結果である融合タンパク質および/または別の ADP 分子のタンパク質分解性フラグメント、のいずれかに特異的な抗体の使用を含む、請求項 20 または請求項 21 記載の方法。

【請求項 23】

融合タンパク質が、別の ADP タンパク質と免疫学的に区別され、そして ADP が、タウであり、そして (i) タウの Gly - 16 および Glu - 26 の間の領域に位置するヒト特異的エピトープに特異的であるか、(ii) Glu - 391 でランケートされたコアタウフラグメントに特異的であるか、(iii) 反復ドメインにおける一般的なタウエピトープに特異的であるか、または (iv) Ser - 208 および Ser - 238 の間に位置する種特異的でない一般的なタウエピトープに特異的であるモノクローナル抗体から抗体が選択される、請求項 22 記載の方法。

【請求項 24】

(a) 凝集を調整できることが予測される作用物質の存在下で、請求項 12 ~ 請求項 23 のいずれか一項記載の方法を実施すること；

(b) 凝集の程度をモニターリングすること；および場合によっては、

(c) 凝集の程度を作用物質の調整活性と相関させること；および場合によっては、

(d) 作用物質の存在下で得られた結果を作用物質の不在下で得られた結果と比較すること；

を含む、立体配座の重合相互作用の誘導によって凝集性疾患タンパク質（ADP）が病理学的に凝集する病態に伴う凝集性疾患タンパク質（ADP）の凝集モジュレーターを同定する方法。

【請求項 25】

細胞内で実施される、請求項 24 記載の方法。

【請求項 26】

細胞が、ニューロン細胞系または繊維芽細胞系に由来する、請求項 25 記載の方法。

【請求項 27】

細胞が、トランスジェニック動物内に含まれ、そして作用物質を動物に投与する、請求項 25 記載の方法。

【請求項 28】

(i) 立体配座の重合相互作用の誘導によって、凝集性疾患タンパク質（ADP）が、病理学的に凝集する病態に伴う凝集性疾患タンパク質（ADP）に由来する凝集部分と；
(ii) 異種性膜局在部分とを有する膜局在融合タンパク質をコードするキメラヌクレオチド配列を含む、単離された核酸分子。

【請求項 29】

キメラヌクレオチド配列が、外来性 3' 非翻訳領域配列を含み、そして膜局在部分が、シグナル配列および、場合によっては膜アンカードメインまたは輸送停止配列をコードする配列を含む、請求項 28 記載の核酸。

【請求項 30】

凝集部分ヌクレオチド配列が、タウ、またはタウのコアフラグメントをコードする、請求項 28 または請求項 29 記載の核酸。

【請求項 31】

凝集部分ヌクレオチド配列が、全長タンパク質のアミノ酸 186 ~ 296 から 390 ~ 441 の間から伸びるタウのランケートされたフラグメントをコードする、請求項 30 記載の核酸。

【請求項 32】

凝集部分ヌクレオチド配列が、アミノ酸 296 ~ 390、190 ~ 441 または 190 ~ 390 をコードする、請求項 31 記載の核酸。

【請求項 33】

凝集部分をコードする核酸を異種性膜局在部分をコードする核酸にライゲートする工程を含み、

そして異種性膜局在部分をコードする核酸が、凝集部分をコードする核酸が挿入される組換えベクターの一部である、請求項 28 ~ 請求項 32 のいずれか一項記載の核酸を製造する方法。

【請求項 34】

核酸が、場合によっては宿主細胞の転写に関するプロモーターに作動可能に連結されており、ここでプロモーターが場合によっては誘導プロモーターである、請求項 28 ~ 請求項 32 のいずれか一項記載の核酸を含む組換えベクター。

【請求項 35】

プロモーターが、組織特異的プロモーター、プリオン特異的プロモーター、または神経特異的エノラーゼプロモーターから選択される、請求項 34 記載のベクター。

【請求項 36】

請求項 34 または請求項 35 記載のベクターを宿主細胞内に導入する工程を含む方法。

【請求項 37】

請求項 34 または請求項 35 記載の異種性ベクターを含有するか、またはこれで形質転換された宿主細胞。

【請求項 38】

動物の受精卵に請求項 34 または請求項 35 のいずれか一項記載のベクターを導入する工程を含む、凝集性疾患タンパク質（ADP）が、病理学的に凝集する病態に関して増強

された、または加速された病理を伴うヒト以外のトランスジェニック動物モデルを調製する方法。

【請求項 39】

(i) 立体配座の重合相互作用の誘導によって凝集性疾患タンパク質 (ADP) が、病理学的に凝集する病態に伴う凝集性疾患タンパク質 (ADP) に由来する凝集部分と (ii) 異種性膜局在部分とを含む膜局在可能な融合タンパク質をコードするヌクレオチド配列に作動可能に連結されたプロモーターをその複数の細胞の内部に含む、ヒト以外のトランスジェニック動物。

【請求項 40】

膜局在可能な融合タンパク質をコードするヌクレオチド配列に作動可能に連結されたプロモーターを含む、請求項 39 の動物の細胞または組織サンプル。

【請求項 41】

動物が、げっ歯類である、請求項 38 ~ 請求項 40 のいずれか一項記載の方法、動物またはサンプル。

【請求項 42】

請求項 28 ~ 請求項 32 のいずれか一項記載のキメラヌクレオチド配列によりコードされる単離された融合タンパク質。

【請求項 43】

適当な宿主細胞において、請求項 28 ~ 請求項 32 のいずれか一項の核酸からの発現を引き起こすか、または可能にする工程を含む、請求項 42 のタンパク質を作製する方法。

【請求項 44】

膜局在可能な融合タンパク質をコードするヌクレオチド配列の発現を引き起こすか、または可能にすることを含む、凝集性疾患タンパク質 (ADP) が病理学的に凝集する病態を請求項 39 のヒト以外のトランスジェニック動物に誘導する方法。

【請求項 45】

凝集を調整できると推測される作用物質の存在下で請求項 44 記載の方法を実施することを含む、凝集性疾患タンパク質 (ADP) が、病理学的に凝集する病態において治療、予後または診断用薬剤として使用するための作用物質をスクリーニングする方法。

【請求項 46】

作用物質が、血液脳関門を通過することができる、請求項 27 または請求項 45 記載の方法。

【請求項 47】

以下のいずれか：

(i) ADP のタンパク質分解性プロセッシングの程度；

(ii) 作用物質が形成される ADP 凝集の量を低下させる能力；

(iii) 作用物質が既に形成されている ADP 凝集のレベルを排除または低減させる能力；

を動物の脳内で測定する、請求項 27、45 または 46 記載の方法。

【請求項 48】

(i) 請求項 24 ~ 請求項 27 または請求項 45 ~ 請求項 47 のいずれか一項記載の方法を実施して作用物質を同定することと；

(ii) 単離された形態の作用物質を提供することと；

(iii) 場合によっては病態の処置において使用するための組成物として作用物質を処方すること；

を含む、ADP が病理学的に凝集する病態において治療、予後または診断用物質として使用するための作用物質を製造する方法。

【請求項 49】

(i) 請求項 48 記載の方法により作用物質を生成することと；

(ii) 治療上有効量の該作用物質を同一物を必要とする患者に投与することと；

を含む、ADP が、病理学的に凝集する病態を処置または予防する方法。

【請求項 50】

A D P がタウであり、そして病態が、アルツハイマー病に相当する、請求項 12 ~ 請求項 20、請求項 24 ~ 請求項 27、請求項 44 ~ 請求項 49 のいずれか一項記載の方法または動物。