【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６部門第１区分
【発行日】平成27年8月6日(2015.8.6)

【公表番号】特表2015-507200(P2015-507200A)
【公表日】平成27年3月5日(2015.3.5)
【年通号数】公開・登録公報2015-015
【出願番号】特願2014-555836(P2014-555836)
【国際特許分類】
Ｇ０１Ｎ　33/53　(2006.01)
Ｃ１２Ｑ　1/34　(2006.01)
Ｃ１２Ｑ　1/48　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　15/09　(2006.01)
Ｃ０７Ｋ　19/00　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　9/12　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　9/38　(2006.01)
【ＦＩ】
Ｇ０１Ｎ　33/53　Ｄ
Ｃ１２Ｑ　1/34　ＺＮＡ
Ｃ１２Ｑ　1/48　Ｚ
Ｃ１２Ｎ　15/00　Ａ
Ｃ０７Ｋ　19/00
Ｃ１２Ｎ　9/12
Ｃ１２Ｎ　9/38

【手続補正書】
【提出日】平成27年6月19日(2015.6.19)
【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】
細胞における標的ペプチドの結合部位に対する化合物の結合を評価するための方法であって、
（ａ）細胞中に、（ｉ）不安定化変異を有する標的ペプチドと（ｉｉ）標識化ペプチドとを含む融合タンパク質を提供するステップ；
（ｂ）（ａ）の細胞および化合物の混合物を、標的ペプチドの結合部位に対する化合物の結合を可能にし、結合による融合タンパク質の安定化を可能にするのに十分な期間にわたって、インキュベートするステップ、次いで、
（ｃ）ステップ（ｂ）の混合物を、インキュベートするステップの後に残留する標識化ペプチドの量を検出する標識と合わせるステップ
を含み、
検出される標識化ペプチドの量の変化が、標的ペプチドに対する化合物の結合を示す、方法。
【請求項２】
化合物が、小分子、ペプチドおよび全長タンパク質のうちの１つである、請求項１に記載の方法。
【請求項３】

化合物が、標的ペプチドのネイティブリガンドに対する標的ペプチドの結合を阻害する、請求項１に記載の方法。
【請求項４】
結合部位が、（ａ）ＡＴＰ結合部位、（ｂ）ブロモドメイン配列、（ｃ）触媒部位または（ｄ）アロステリック部位のうちの１つである、請求項１に記載の方法。
【請求項５】
標識化ペプチドが、（ａ）β－ガラクトシダーゼの酵素ドナー断片、および（ｂ）二次標識に対する結合エピトープを有するペプチドからなる群から選択される、請求項１に記載の方法。
【請求項６】
標識化ペプチドが、配列番号１、配列番号２、配列番号３または配列番号４のうちの１つに従う配列を有する酵素ドナー（「ＥＤ」）である、請求項５に記載の方法。
【請求項７】
酵素アクセプター（「ＥＡ」）が、配列番号５に従う配列を有する、請求項６に記載の方法。
【請求項８】
細胞が哺乳動物細胞である、請求項１に記載の方法。
【請求項９】
化合物の非存在下でステップ（ａ）から（ｃ）を実施して、検出される標識化ペプチドの量の変化を決定するための対照を提供するステップをさらに含む、請求項１に記載の方法。
【請求項１０】
前記標的ペプチドが、トランケーションである変異を含み、前記変異が、結合部位の外側に存在する、請求項１、５および６のいずれかに記載の方法。
【請求項１１】
前記標的ペプチドが、全長タンパク質の配列の少なくとも１０％の欠失である変異を含む、請求項１、５および６のいずれかに記載の方法。
【請求項１２】
細胞における標的ペプチド上の結合部位に対する結合に関して化合物を評価するための方法であって、
（ａ）（ｉ）前記標的ペプチドと（ｉｉ）標識化ペプチドとを含む融合タンパク質を発現する細胞を提供するステップ
（ｂ）ステップ（ａ）の第１の数の細胞を前記化合物と共に、ステップ（ａ）の第２の数の細胞を前記化合物なしで、標的ペプチドの結合部位に対する化合物の結合を可能にし、化合物の結合による融合タンパク質の安定化を可能にするのに十分な期間にわたって、インキュベートするステップ、次いで、
（ｃ）ステップ（ｂ）でインキュベートした試料ウェルに、前記インキュベートするステップの後に細胞中に残留する標識化ペプチドの量を検出する標識を添加するステップ
を含み、それにより、第１の数の細胞と第２の数の細胞との間の標識化ペプチドの量の差異が、標的ペプチドに対する化合物の結合を示す、方法。
【請求項１３】
前記化合物が、小分子、ペプチドおよび全長タンパク質のうちの１つである、請求項１２に記載の方法。
【請求項１４】
ステップ（ｂ）の化合物と結合について競合する第２の化合物を添加するステップをさらに含む、請求項１２に記載の方法。
【請求項１５】
前記第２の化合物が、小分子、ペプチドおよび全長タンパク質のうちの１つである、請求項１４に記載の方法。
【請求項１６】

前記結合部位が、（ａ）ＡＴＰ結合部位、（ｂ）ブロモドメイン配列、（ｃ）触媒部位または（ｄ）アロステリック部位のうちの１つである、請求項１２に記載の方法。
【請求項１７】
前記標識化ペプチドが、（ａ）ＥＤまたは（ｂ）標識化ペプチドに対する結合エピトープである、請求項１２に記載の方法。
【請求項１８】
前記標識化ペプチドが、配列番号１、配列番号２または配列番号３のうちの１つに従う配列を有するＥＤである、請求項１７に記載の方法。
【請求項１９】
前記細胞が哺乳動物細胞である、請求項１２に記載の方法。
【請求項２０】
ステップ（ｄ）を除くステップ（ａ）、（ｂ）、（ｃ）および（ｅ）を実施して、標識化ペプチドの量の前記変化を決定するための対照を提供するステップをさらに含む、請求項１２に記載の方法。
【請求項２１】
前記標的ペプチドが、トランケーションである変異を含み、前記変異が、結合部位の外側に存在する、請求項１２に記載の方法。
【請求項２２】
前記標的ペプチドが、欠失である変異を含み、前記変異が、結合部位の外側に存在する、請求項１２に記載の方法。
【請求項２３】
標的ペプチドと化合物との相互作用をモニタリングするステップを実施するためのキットであって、（ａ）標的とβ－ガラクトシダーゼ断片のＥＤ断片とを含む融合タンパク質を含む細胞；（ｂ）β－ガラクトシダーゼのＥＡ断片；および（ｃ）β－ガラクトシダーゼ基質を含む、キット。
【請求項２４】
細胞中への化合物の導入の影響を研究するためのキットであって、（ａ）標的とβ－ガラクトシダーゼ断片のＥＤ断片とを含む融合タンパク質を含む細胞；（ｂ）化合物、（ｃ）β－ガラクトシダーゼのＥＡ断片；および（ｄ）β－ガラクトシダーゼ基質を含む、キット。
【請求項２５】
細胞相互作用を媒介することに対する化合物の影響を研究するためのキットであって、（ａ）標的とβ－ガラクトシダーゼ断片のＥＤ断片とを含む融合タンパク質を含む細胞；（ｂ）化合物、（ｃ）β－ガラクトシダーゼのＥＡ断片；および（ｄ）β－ガラクトシダーゼ基質を含む、キット。
【請求項２６】
細胞相互作用に対する小分子阻害剤の影響を研究するためのキットであって、（ａ）標的とβ－ガラクトシダーゼ断片のＥＤ断片とを含む融合タンパク質を含む細胞；（ｂ）小分子、（ｃ）β－ガラクトシダーゼのＥＡ断片；および（ｄ）β－ガラクトシダーゼ基質を含む、キット。
【請求項２７】
相互作用界面をモニタリングするためのキットであって、（ａ）バリアント配列長の標的とβ－ガラクトシダーゼ断片のＥＤ断片とを含む融合タンパク質を含む細胞；（ｂ）β－ガラクトシダーゼのＥＡ断片；および（ｃ）β－ガラクトシダーゼ基質を含む、キット。
【請求項２８】
標的とβ－ガラクトシダーゼのＥＤ断片とを含む融合タンパク質をコードする発現構築物を含むキット。