

【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21年9月3日(2009.9.3)

【公表番号】特表2009-501516(P2009-501516A)

【公表日】平成21年1月22日(2009.1.22)

【年通号数】公開・登録公報2009-003

【出願番号】特願2008-520763(P2008-520763)

【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/48 (2006.01)

C 1 2 Q 1/02 (2006.01)

G 0 1 N 33/573 (2006.01)

G 0 1 N 33/543 (2006.01)

【F I】

C 1 2 Q 1/48 Z

C 1 2 Q 1/02

G 0 1 N 33/573 A

G 0 1 N 33/543 5 7 5

【手続補正書】

【提出日】平成21年7月13日(2009.7.13)

【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】

キナーゼ阻害剤の存在下での前記キナーゼ阻害剤の非存在下と比較した1種または複数のチロシンキナーゼの自己リン酸化の測定方法であって、

(a) 血清除去によって細胞を飢餓状態にするステップと、

(b) キナーゼ阻害剤の存在下または非存在下で、血清、増殖因子および／またはサイトカインを添加することによってキナーゼ自己リン酸化を誘導するステップと、

(c) 細胞を可溶化して、細胞から細胞溶解物を遊離させるステップと、

(d) 様々なチロシンキナーゼ特異的結合タンパク質を添加することによって、細胞溶解物中のキナーゼを捕捉するステップであって、様々な結合タンパク質それぞれが特有の色素と結合しているステップと、

(e) d) の特有の色素のいずれかから区別できるマーカーをタグ付けしたリン酸化チロシン特異的抗体を添加するステップと、

(f) d) の特有の色素および e) のリン酸化チロシン特異的抗体のマーカーを有する自己リン酸化チロシンキナーゼを同定するステップと、

(g) キナーゼ阻害剤の存在下での誘導から生じた f) の自己リン酸化チロシンキナーゼと前記キナーゼ阻害剤の非存在下での誘導を比較するステップとを含む方法。

【請求項2】

キナーゼ阻害剤の存在下での前記キナーゼ阻害剤の非存在下と比較した1種または複数のチロシンキナーゼの自己リン酸化の測定方法であって、

(a) 限定したチロシンキナーゼを特有の色素に結合するステップと、

(b) キナーゼ阻害剤の存在下または非存在下で、キナーゼ反応をするステップと、

(c) a) の特有の色素のいずれかから区別できるマーカーをタグ付けしたリン酸化チロシン特異的抗体を添加するステップと、

(d) a) の特有の色素および c) のリン酸化チロシン特異的抗体のマーカーを有する自己リン酸化チロシンキナーゼを同定するステップと、

(e) キナーゼ阻害剤の存在下での誘導から生じた d) の自己リン酸化チロシンキナーゼと前記キナーゼ阻害剤の非存在下での誘導を比較するステップとを含む方法。

【請求項 3】

ステップ (b) でキナーゼ活性化因子を試験する、請求項 1 および 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記色素が蛍光またはルミネセンス色素である、請求項 1 から 3 に記載の方法。

【請求項 5】

前記マーカーが蛍光またはルミネセンスマーカーである、請求項 1 から 3 に記載の方法。

。

【請求項 6】

細胞飢餓 (a) の前に、細胞中でリン酸化を誘導することができるタンパク質のポリペプチドをコードする核酸で前記細胞を形質転換する、請求項 1、4 および 5 に記載の方法。

。

【請求項 7】

前記細胞は真核細胞である、請求項 1、4、5、6 に記載の方法。

【請求項 8】

前記真核細胞は哺乳類細胞である、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

チロシンキナーゼを阻害する特異性についてキナーゼ阻害剤をプロファイリングするための請求項 1、2、4 から 8 に記載の方法の使用。

【請求項 10】

チロシンキナーゼを活性化する特異性についてキナーゼ活性化因子をプロファイリングするための請求項 1、2、3 から 8 に記載の方法の使用。

【請求項 11】

キナーゼ阻害剤の特異性をプロファイリングするための請求項 1、4 から 8 のいずれかに記載の方法で使用するためのキットであって、

(a) 捕捉抗体が特異的に結合できるエピトープを有する限定されたチロシンキナーゼに特異的に結合する異なる捕捉抗チロシンキナーゼ抗体と結合した 1 から 100 個の特有の色素の組成物、および

(b) a) の色素から区別可能な色素で標識された抗リン酸化チロシン抗体を含むキット。

【請求項 12】

キナーゼ活性化因子の特異性をプロファイリングするための請求項 1、3 から 8 のいずれかに記載の方法で使用するためのキットであって、

(a) 捕捉抗体が特異的に結合できるエピトープを有する限定されたチロシンキナーゼに特異的に結合する異なる捕捉抗チロシンキナーゼ抗体と結合した 1 から 100 個の特有の色素の組成物、および

(b) a) の色素から区別可能な色素で標識された抗リン酸化チロシン抗体を含むキット。

【請求項 13】

キナーゼ阻害剤の特異性をプロファイリングするための請求項 2、4、5 のいずれかに記載の方法で使用するためのキットであって、

(a) 異なる限定されたチロシンキナーゼに関連した 1 から 100 個の特有の色素の組成物、および

(b) a) の色素から区別可能な色素で標識された抗リン酸化チロシン抗体を含むキット。

【請求項 14】

キナーゼ活性化因子の特異性をプロファイリングするための請求項 2、4、5 のいずれ

かに記載の方法で使用するためのキットであって、

(a) 異なる限定されたチロシンキナーゼと関連した1から100個の特有の色素の組成物、および

(b) a)の色素から区別可能な色素で標識された抗リン酸化チロシン抗体を含むキット。

【請求項15】

前記色素が蛍光またはルミネセンス色素である、請求項11から14に記載のキット。

【請求項16】

捕捉抗体が特異的に結合できるエピトープを有する限定されたチロシンキナーゼに特異的に結合する、前記の異なる捕捉抗チロシンキナーゼ抗体とそれぞれ関連した1から100個の特有の色素を含有する組成物。

【請求項17】

1から20個の特有の蛍光色素で着色した小球体を有する、請求項16に記載の組成物。

【請求項18】

1から40個の特有の蛍光色素で着色した小球体を有する、請求項16に記載の組成物。

【請求項19】

1から60個の特有の蛍光色素で着色した小球体を有する、請求項16に記載の組成物。

【請求項20】

1から80個の特有の蛍光色素で着色した小球体を有する、請求項16に記載の組成物。

【請求項21】

キナーゼ阻害剤の非存在下で、チロシンキナーゼのリン酸化状態をプロファイリングするための請求項1に記載の方法であって、

請求項1c)の溶解物は、診断および腫瘍病期の腫瘍標本、血液試料または動物材料から得られる方法。