

【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】令和 2 年 9 月 24 日 (2020.9.24)

【公表番号】特表 2019-526792 (P2019-526792A)

【公表日】令和 1 年 9 月 19 日 (2019.9.19)

【年通号数】公開・登録公報 2019-038

【出願番号】特願 2019-508836 (P2019-508836)

【国際特許分類】

G 0 1 N 33/557 (2006.01)

G 0 1 N 33/53 (2006.01)

C 4 0 B 30/04 (2006.01)

C 1 2 N 9/12 (2006.01)

C 0 7 K 5/037 (2006.01)

【F I】

G 0 1 N 33/557

G 0 1 N 33/53 D

G 0 1 N 33/53 V

C 4 0 B 30/04

C 1 2 N 9/12 Z N A

C 0 7 K 5/037

【手続補正書】

【提出日】令和 2 年 8 月 11 日 (2020.8.11)

【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】

標的分子とリガンド候補との間の反応速度を測定する方法であって、

a) 目的の結合部位と目的の結合部位内またはその近傍にあるチオール基とを含む標的分子を提供する、工程；

b) 反応混合物中で標的分子をリガンド候補と接触させる工程、リガンド候補は、前記チオール基と不可逆的共有結合を形成することができる官能基を含む、工程；

c) 標的分子のチオール基とリガンド候補の官能基との間で不可逆的な共有結合を形成させ、それによって標的分子 - リガンドコンジュゲートを形成させる、工程；

d) 反応中の定義された時点で前記反応混合物またはそのアリコートでチオール定量試薬と接触させる工程、前記チオール定量試薬は、遊離チオール基に結合して、前記反応混合物またはそのアリコートに生物物理学的方法によって評価可能な生物物理学的性質を付与する定量化コンジュゲートを形成することができる、工程；

e) 前記反応混合物またはそのアリコートの前記生物物理学的性質を測定する、工程；

f) 前記標的分子と前記リガンド候補との間の反応速度を計算する、工程；を含む方法。

【請求項 2】

工程 d) が、

i) 前記反応混合物のアリコートを前記チオール定量試薬と接触させることを含み、工程 d) および e) がさらに 1 回以上繰り返され、各繰り返しの間、工程 d) が反応中の

1つ以上のさらなる異なる時点で実施される、または、

i i ) 前記反応混合物全体またはその実質的な割合を前記チオール定量化試薬と接触させることを含み、工程 a ) ~ e ) がさらに1回以上繰り返され、各繰り返しの間、工程 d ) が反応中の1つ以上のさらなる異なる時点で実施される、または、

i i i ) 反応中の単一の時点で実施され、工程 f ) がその時点での前記標的分子の前記標的分子 - リガンド候補への変換を計算することを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

工程 f ) が、前記標的分子 - リガンドコンジュゲートの形成についての速度定数の近似値を計算することを含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

工程 f ) が、前記標的分子 - リガンドコンジュゲートの形成についての速度定数を計算することを含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 5】

a ) 前記標的分子が、タンパク質、ポリペプチド、核タンパク質、糖ペプチド、およびリタンパク質からなる群より選択される、および / または、

b ) 前記チオール基がシステイン残基によって提供される、および / または、

c ) 前記リガンド候補がフラグメントである、および / または、

d ) 前記官能基が求電子剤である、および / または、

e ) 前記チオール定量化試薬がチオール反応性染料である、

請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6】

前記リガンド候補が薬物様フラグメントである、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

前記求電子剤が、アクリルアミド、アクリレート、  
、 - 不飽和ケトン、ビニルスルホンアミド、ビニルスルホン、ビニルスルホネート、  
- ハロゲン化カルボニル誘導体、エポキシド、ニトリル誘導体、SNA<sub>r</sub>基質、ならびにそれらの置換誘導体からなる群から選択される、請求項 5 または 6 に記載の方法。

【請求項 8】

前記求電子剤がマイケルアクセプターである、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

前記標的分子と前記リガンド候補とを還元剤の存在下で接触させる、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 10】

前記還元剤が固定化されている、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

g ) 前記標的分子の代わりにモデルチオールを用いて工程 a ) ~ f ) を繰り返し、同じリガンド候補を用いて、前記モデルチオールと前記リガンド候補との間の反応速度を計算する工程；ならびに

h ) 前記標的分子と前記リガンド候補との間の反応速度を、前記モデルチオールと前記リガンド候補との間の反応速度と比較することによって、前記リガンド候補についての速度増大を計算する工程；をさらに含む、請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 12】

前記モデルチオールがグルタチオンである、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 13】

i ) 前記リガンド候補についての速度増大が、選択された閾値レベルを上回るかどうかを決定する工程、この閾値レベルを上回る速度増大を伴うリガンド候補はヒットリガンドとして分類される、工程、をさらに含む、請求項 11 または 12 に記載の方法。

【請求項 14】

j ) 1つ以上のさらなるリガンド候補を用いて工程 a ) ~ i ) を繰り返す工程をさらに含む、請求項 13 に記載の方法。

**【請求項 15】**

前記リガンド候補が、リガンド候補のライブラリーを含む、請求項 13 に記載の方法。

**【請求項 16】**

k) ヒットリガンドを薬物または他の阻害剤に開発する工程をさらに含む、請求項 13 に記載の方法。

**【請求項 17】**

前記チオール基が標的分子に対して内因性であり、かつ

a) 前記ヒットリガンドが不可逆的な共有結合的阻害剤に開発されるか；または

b) 前記ヒットリガンドが非共有結合的類似体に修飾されて、可逆的な阻害剤に開発されるか；のいずれかである、請求項 16 に記載の方法。

**【請求項 18】**

前記標的分子が前記チオール基を含むように修飾され、かつ前記ヒットリガンドが非共有結合的類似体に修飾されて、可逆的な阻害剤に開発される、請求項 16 に記載の方法。

**【請求項 19】**

チオールと、前記チオールと反応することができる分子との間の反応速度を測定する方法であって、

a) チオールを、前記チオールと反応することができる分子と接触させて、反応混合物中に反応生成物を形成する工程；

b) 反応中の定義された時点で前記反応混合物またはそのアリコートでチオール定量試薬と接触させる工程、前記チオール定量試薬は、遊離チオール基に結合して、前記反応混合物またはそのアリコートに生物物理学的方法によって評価可能な生物物理学的性質を付与する定量化コンジュゲートを形成することができる、工程；

c) 前記反応混合物またはそのアリコートの前記生物物理学的性質を測定する工程；ならびに

d) 前記チオールと、前記チオールと反応することができる分子との間の反応速度を計算する工程；を含む方法。

**【請求項 20】**

前記工程 b) が、

i) 前記反応混合物のアリコートを前記チオール定量試薬と接触させることを含み、工程 b) および c) がさらに 1 回以上繰り返され、各繰り返しの間、工程 b) が反応中の 1 つ以上のさらに異なる時点で実施される、または、

i i) 前記反応混合物全体またはその実質的な割合を前記チオール定量試薬と接触させることを含み、工程 a) ~ c) がさらに 1 回以上繰り返され、各繰り返しの間、工程 b) が反応中の 1 つ以上のさらに異なる時点で実施される、または、

i i i) 反応中の単一の時点で実施され、工程 d) がその時点で前記チオールの前記反応生成物への変換を計算することを含む、請求項 18 に記載の方法。

**【請求項 21】**

工程 d) が、反応生成物の形成についての速度定数の近似値を計算することを含む、請求項 20 に記載の方法。

**【請求項 22】**

工程 d) が、反応生成物の形成についての速度定数を計算することを含む、請求項 20 に記載の方法。

**【請求項 23】**

工程 a) において、前記チオールを、前記チオールと反応することができる分子と並行して還元剤とも接触させ、前記還元剤は、前記反応混合物またはそのアリコートをチオール定量試薬と接触させる前に、工程 b) において除去される、請求項 19 に記載の方法。

**【請求項 24】**

前記チオール定量試薬が前記チオールに不可逆的に結合する、請求項 19 ~ 23 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 25】

標的分子とリガンド候補との間の解離定数を測定する方法であって、

a) 目的の結合部位と、目的の結合部位内またはその近傍にあるチオール基とを含む標的分子を提供する工程；

b) 反応混合物中で標的分子をリガンド候補と接触させる工程、リガンド候補は、チオール基と不可逆的な共有結合を形成することができる官能基を含む、工程；

c) 標的分子のチオール基とリガンド候補の官能基との間で不可逆的な共有結合を形成させ、それによって標的分子 - リガンドコンジュゲートを形成させる工程；

d) 反応中の定義された時点で前記反応混合物またはそのアリコートでチオール定量試薬と接触させる工程、前記チオール定量試薬は、遊離チオール基に結合して、前記反応混合物またはそのアリコートに生物物理学的方法によって評価可能な生物物理学的性質を付与する定量化コンジュゲートを形成することができる、工程；

e) 前記反応混合物またはそのアリコートの前記生物物理学的性質を測定する工程；

f) 前記標的分子と前記リガンド候補との間の反応速度を計算する工程；

g) 複数の異なる濃度の前記リガンド候補を用いて工程 a) ~ f) を繰り返す工程；  
ならびに

h) 標的分子とリガンド候補との間の解離定数を計算する工程；を含む方法。