

【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25年1月24日 (2013.1.24)

【公表番号】特表2012-512633(P2012-512633A)

【公表日】平成24年6月7日 (2012.6.7)

【年通号数】公開・登録公報2012-022

【出願番号】特願2011-541228(P2011-541228)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 Q 1/44 (2006.01)

C 1 2 N 9/16 (2006.01)

C 0 7 K 16/10 (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)

A 6 1 K 39/395 (2006.01)

A 6 1 P 31/16 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

A 6 1 K 38/55 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 1 2 Q 1/44

C 1 2 N 9/16 C

C 0 7 K 16/10

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

A 6 1 K 39/395 P

A 6 1 P 31/16

A 6 1 P 43/00 1 1 1

A 6 1 K 37/64

A 6 1 K 39/395 D

A 6 1 K 39/395 S

【手続補正書】

【提出日】平成24年11月30日 (2012.11.30)

【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】

エンドヌクレアーゼ活性を有するウイルス RNA 依存性 RNA ポリメラーゼの P A サブユニットのアミノ末端断片を含むポリペプチド断片であって、前記 P A サブユニットがオルトミクソウイルス科に属するウイルス由来のものであり、

(i) N 末端のアミノ酸は配列番号 2 に示される P A サブユニットのアミノ酸配列の 1 位

のアミノ酸と同一又は対応し、かつC末端のアミノ酸は配列番号2に示されるPAサブユニットのアミノ酸配列の196位～209位から選択される1つのアミノ酸と同一又は対応するか、

(ii) N末端のアミノ酸は配列番号4に示されるPAサブユニットのアミノ酸配列の1位のアミノ酸と同一又は対応し、かつC末端のアミノ酸は配列番号4に示されるPAサブユニットのアミノ酸配列の195位～206位から選択される1つのアミノ酸と同一又は対応するか、又は

(iii) N末端のアミノ酸は配列番号6に示されるPAサブユニットのアミノ酸配列の1位のアミノ酸と同一又は対応し、かつC末端のアミノ酸は配列番号6に示されるPAサブユニットのアミノ酸配列の178位～189位から選択される1つのアミノ酸と同一又は対応するものであり、

並びにエンドヌクレアーゼ活性を保持する上記ポリペプチド断片の変異体である、ポリペプチド断片。

【請求項2】

可溶性及び／又は結晶化能である、請求項1に記載のポリペプチド断片。

【請求項3】

20 mM Tris (pH 8.0)、100 mM NaCl及び2.5 mM MnCl₂中における5 mg/ml～10 mg/mlのタンパク質溶液、並びに1.2 M Li₂SO₄、100 mM MES (pH 6.0)、10 mM 酢酸マグネシウム及び3%エチレングリコールからなるリザーバ溶液を使用して結晶化可能である、請求項2に記載のポリペプチド断片。

【請求項4】

PAサブユニットが、インフルエンザAウイルス、インフルエンザBウイルス若しくはインフルエンザCウイルス由来のものである、又はその変異体である、請求項1～3のいずれか一項に記載のポリペプチド断片。

【請求項5】

2つの二価の陽イオンが結合し、該二価の陽イオンはマンガンである、請求項1～4のいずれか一項に記載のポリペプチド断片。

【請求項6】

配列番号2に示すアミノ酸配列のアミノ酸1～209、及び任意にアミノ酸配列GMGS GMA (配列番号19)を有するアミノ末端リンカーからなり、表2に示される構造座標により規定される構造を有する、請求項1～5のいずれか一項に記載のポリペプチド断片。

【請求項7】

ポリペプチド断片が、空間群P4₃2₁2、及びa = b = 6.71 ± 0.2 nm、c = 30.29 nm ± 0.4 nmの単位格子寸法を有する結晶形態を有し、任意で結晶が、2.5以上、又は2.1以上の分解能までX線を回折する、請求項1～6のいずれか一項に記載のポリペプチド断片。

【請求項8】

請求項1～7のいずれか一項に記載の単離ポリペプチドをコードする単離ポリヌクレオチド。

【請求項9】

請求項8に記載の単離ポリヌクレオチドを含む組換えベクター。

【請求項10】

請求項8に記載の単離ポリヌクレオチド又は請求項9に記載の組換えベクターを含む組換え宿主細胞。

【請求項11】

オルトミクソウイルス科由来のウイルスRNA依存性RNAポリメラーゼのPAサブユニットのエンドヌクレアーゼ活性を調節する化合物を同定する方法であって、

(a) 表2に示される請求項6に記載のポリペプチド断片の構造座標により規定される活

性部位のコンピュータモデルを構築する工程、

(b) 活性調節可能性のある化合物を選択する工程であって、

(i) 分子断片を集合化させて前記化合物とすること、

(ii) 小分子データベースから化合物を選択すること、及び

(iii) 前記化合物の新規リガンド設計

からなる群から選択される方法により活性調節可能性のある化合物を選択する工程、

(c) 演算手段を利用する工程であって、該活性部位における前記化合物のエネルギーを最小化した立体配置を提供するために、前記化合物と前記活性部位とのコンピュータモデル間のフィッティングプログラム操作を行う、利用する工程、並びに

(d) 前記フィッティング操作の結果を評価する工程であって、前記化合物と該活性部位モデルとの間の会合を定量化し、それにより前記活性部位と会合する前記化合物の能力を評価する、評価する工程

を含む、方法。

【請求項12】

活性部位が、配列番号2に示されるPAサブユニットのアミノ酸Asp108、Ile120及びLys134に対応するアミノ酸を含む、任意で、配列番号2に示されるPAサブユニットのアミノ酸His41、Glu80及びGlu119に対応するアミノ酸をさらに含む、また任意で、配列番号2に示されるPAサブユニットのアミノ酸Tyr24、Arg84、Leu106、Tyr130、Glu133及びLys137に対応するアミノ酸をさらに含む、請求項11に記載の方法。

【請求項13】

(e) 化合物を合成すると共に、任意に、1つ又は複数の薬学的に許容可能な添加物及び/又は担体と共に化合物又はその薬学的に許容可能な塩を配合するさらなる工程を含む、及び任意で、

(f) PAサブユニットポリペプチド断片のエンドヌクレアーゼ活性を調節する化合物の能力を確定する、化合物と請求項1～7のいずれか一項に記載のポリペプチド断片又は請求項10に記載の組換え宿主細胞とを接触させるさらなる工程を含む、

請求項12に記載の方法。

【請求項14】

PAサブユニット又はそのポリペプチド変異体のエンドヌクレアーゼ活性を調節する化合物を同定する方法であって、(i) 請求項1～7に記載のポリペプチド断片又は請求項10に記載の組換え宿主細胞を試験化合物と接触させる工程、及び(ii) 前記PAサブユニットポリペプチド断片のエンドヌクレアーゼ活性を調節する前記試験化合物の能力を分析する工程を含む、方法。

【請求項15】

PAサブユニットポリペプチド断片のエンドヌクレアーゼ活性を阻害する試験化合物の能力を分析する、請求項14に記載の方法。

【請求項16】

ハイスループット設定において行われる、請求項14又は15に記載の方法。

【請求項17】

試験化合物が小分子、ペプチド又はタンパク質である、請求項14～16のいずれか一項に記載の方法。

【請求項18】

1つ又は複数の薬学的に許容可能な添加物及び/又は担体と共に前記化合物又はその薬学的に許容可能な塩を配合する工程をさらに含む、請求項11～13及び14～17のいずれか一項に記載の方法。

【請求項19】

請求項18に記載の方法により製造される薬学的組成物。

【請求項20】

請求項11～13及び14～17のいずれか一項に記載の方法により同定可能な化合物で

あって、前記化合物が、P Aサブユニット又はその変異体のエンドヌクレアーゼ活性を調節することができるか、又は請求項1～7に記載のP Aサブユニットポリペプチド断片又はその変異体である、化合物。

【請求項21】

オルトミクソウイルス科のウイルス又はインフルエンザAウイルス、インフルエンザBウイルス及びインフルエンザCウイルスからなる群から選択されるウイルスによるウイルス感染により引き起こされる疾患状態を治療、改善又は予防する薬物の製造のための、請求項20に記載の化合物、請求項19に記載の薬学的組成物の使用。