

【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19年2月1日(2007.2.1)

【公表番号】特表2006-508665(P2006-508665A)

【公表日】平成18年3月16日(2006.3.16)

【年通号数】公開・登録公報2006-011

【出願番号】特願2004-557611(P2004-557611)

【国際特許分類】

|         |        |           |
|---------|--------|-----------|
| C 1 2 N | 15/09  | (2006.01) |
| A 6 1 K | 39/395 | (2006.01) |
| A 6 1 P | 35/00  | (2006.01) |
| A 6 1 P | 35/04  | (2006.01) |
| C 1 2 N | 9/18   | (2006.01) |
| C 1 2 P | 17/18  | (2006.01) |
| A 6 1 K | 38/46  | (2006.01) |
| C 1 2 N | 9/99   | (2006.01) |

【F I】

|         |        |         |
|---------|--------|---------|
| C 1 2 N | 15/00  | Z N A A |
| A 6 1 K | 39/395 | D       |
| A 6 1 K | 39/395 | N       |
| A 6 1 P | 35/00  |         |
| A 6 1 P | 35/04  |         |
| C 1 2 N | 9/18   |         |
| C 1 2 P | 17/18  | C       |
| A 6 1 K | 37/54  |         |
| C 1 2 N | 9/99   |         |

【手続補正書】

【提出日】平成18年12月4日(2006.12.4)

【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】

配列番号：32、54、86および180、またはその機能フラグメントからなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、ブチリルコリンエステラーゼ変異体。

【請求項2】

アミノ酸配列が配列番号：180を含む、請求項1記載のブチリルコリンエステラーゼ変異体。

【請求項3】

ブチリルコリンエステラーゼに比べてカンプトシン誘導体をトポイソメラーゼ阻害剤に変換する高い能力を示す、配列番号：32、54、86および180、またはその機能フラグメントからなる群から選択される有効量のブチリルコリンエステラーゼ変異体を含有する、癌を処置するための組成物。

【請求項4】

ブチリルコリンエステラーゼ変異体が配列番号：180に示されるアミノ酸配列、またはその機能フラグメントを含む、請求項3記載の組成物。

**【請求項 5】**

ブチリルコリンエステラーゼ変異体が、抗体または抗体フラグメントをさらに含む、請求項4記載の組成物。

**【手続補正2】**

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0066

【補正方法】変更

【補正の内容】

**【0066】**

ブチリルコリンエステラーゼの構造的モデル化に加えて、生化学的データは、目的とするブチリルコリンエステラーゼ変異体に的を絞ったライブラリーを製造する場合に、カンプトテシン変換または加水分解活性について重要なブチリルコリンエステラーゼの領域を決定または推定するのに用いられ得る。これに関して、変化を加えられたカンプトテシン変換または加水分解活性を有する天然ブチリルコリンエステラーゼ変異体の特徴は、ブチリルコリンエステラーゼの触媒活性について重要な領域を同定するために有用である。同様に、部位特異的突然変異誘発の研究は、例えば、Schwartz et al., Pharmac. Ther. 67: 283-322 (1992); (出典明示により本明細書の一部とする)に論評されているように、触媒的に重要なアミノ酸残基に関するデータを提供し得る。

**【手続補正3】**

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0085

【補正方法】変更

【補正の内容】

**【0085】**

適当なリコンビナーゼは、ブチリルコリンエステラーゼ変異体をコードしている核酸を含有しているベクターを用いて同時形質移入されるベクターにコードされ得る。一方、リコンビナーゼの発現エレメントは、ブチリルコリンエステラーゼ変異体をコードしている核酸を発現する同一ベクターに導入され得る。リコンビナーゼをコードしている核酸を、ブチリルコリンエステラーゼ変異体をコードしている核酸と同時に形質移入することに加えて、リコンビナーゼをコードしているベクターは、細胞に形質移入され得るし、また該細胞はリコンビナーゼの発現について選択され得る。リコンビナーゼを安定に発現する細胞は、変異体核酸をコードしている核酸を用いて連続的に形質移入され得る。

**【手続補正4】**

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0086

【補正方法】変更

【補正の内容】

**【0086】**

Creリコンビナーゼによって媒介される正確な部位特異的DNA組換えは、ブチリルコリンエステラーゼ変異体をコードしている外因性DNAの1つのコピーを含有する安定な哺乳類形質転換体を構築するのに使用され得る。下記例示のように、Cre媒介性標的化事象の頻度は、修飾された二重loxストラテジーを用いて実質的に増強されうる。二重loxストラテジーは、lox部位のコア領域内の特定のヌクレオチド変化が、組換え効率についてほとんど影響を及ぼさないでCre-媒介組換えの部位選択特異性を変化させるという知見を基にされる(Hoess et al., Nucleic Acids Res. 14:2287-2300 (1986))。標的化ベクターおよび宿主細胞ゲノムの両方における、loxPおよび改変loxP部位、いわゆるlox511の導入は、二重クロスオーバー事象による部位特異的組換えを生じる。二重loxアプローチは、1つのクロスオーバー挿入組換え以上に、部位特異的な組換え体の回収を20倍まで増加させ、不正な組換え(illegitimate)頻度を越えるように部位特異的組換えの絶対的頻度を増加させる(Bethke and Sauer, Nuc. Acids Res., 25:2828-2834 (1997))。