

【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18年8月10日(2006.8.10)

【公表番号】特表2002-532094(P2002-532094A)

【公表日】平成14年10月2日(2002.10.2)

【出願番号】特願2000-588357(P2000-588357)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 0 7 K 14/47 (2006.01)

C 0 7 K 14/715 (2006.01)

C 0 7 K 16/24 (2006.01)

C 0 7 K 16/28 (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 P 21/02 (2006.01)

C 1 2 P 21/08 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 0 7 K 14/47

C 0 7 K 14/715

C 0 7 K 16/24

C 0 7 K 16/28

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 P 21/02 C

C 1 2 P 21/08

C 1 2 N 5/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成18年6月20日(2006.6.20)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】 下記よりなる群から選択される核酸分子を含む、単離されたポリヌクレオチド：

(a) 配列番号：1のポリヌクレオチド；

(b) 配列番号：5のポリヌクレオチド；

(c) 配列番号：6のポリヌクレオチド；

(d) 配列番号：7のポリヌクレオチド；及び

(e) (a) - (d)のポリヌクレオチドに、50%ホルムアミドおよび6×SSC中、約42の中等度ストリンジェンシー条件、60、0.5×SSC、0.1%SDSの洗浄条件下でハイブリダイズ可能なポリヌクレオチドであって、当該ポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドがIL-1Rファミリーメンバーに結合する、前記ポ

リヌクレオチド。

【請求項 2】 下記よりなる群から選択されるポリペプチドをコードする核酸分子を含む、単離されたポリヌクレオチド：

- (a) 配列番号 3 を含むポリペプチド；
- (b) 配列番号 8 を含むポリペプチド；
- (c) 配列番号 9 を含むポリペプチド；
- (d) 配列番号 10 を含むポリペプチド；
- (e) (a) - (d) のポリペプチドに少なくとも 80% 同一のポリペプチドであって、IL-1R ファミリーメンバーに結合する前記ポリペプチド；及び
- (f) (a) - (e) のポリペプチドの断片であって、IL-1R ファミリーメンバーに結合する前記断片。

【請求項 3】 下記よりなる群から選択される核酸分子を含む、単離されたポリヌクレオチド：

- (a) 配列番号 2 のポリヌクレオチド；
- (b) 配列番号 4 を含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；及び
- (c) 配列番号 4 に少なくとも 80% 同一であり、IL-1 ファミリーメンバーに結合する前記ポリペプチドを含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチド。

【請求項 4】 下記よりなる群から選択されるポリペプチドを含むポリペプチド：

- (a) 配列番号 3 を含むポリペプチド；
- (b) 配列番号 8 を含むポリペプチド；
- (c) 配列番号 9 を含むポリペプチド；
- (d) 配列番号 10 を含むポリペプチド；
- (e) (a) - (d) のポリペプチドに少なくとも 80% 同一のポリペプチドであって、IL-1R ファミリーメンバーに結合する前記ポリペプチド；及び
- (f) (a) - (e) のポリペプチドの断片であって、IL-1R ファミリーメンバーに結合する前記断片。

【請求項 5】 下記よりなる群から選択されるポリペプチドを含むポリペプチド：

- (a) 配列番号 4 のポリペプチド；
- (b) (a) のポリペプチドに少なくとも 80% 同一であり、IL-1 ファミリーメンバーに結合する前記ポリペプチド；及び
- (c) (a) 又は (b) のポリペプチドの断片であって、IL-1 ファミリーメンバーに結合する前記断片。

【請求項 6】 請求項 1、2 又は 3 に記載のポリヌクレオチドを含む、発現ベクター

。

【請求項 7】 請求項 6 に記載の発現ベクターで形質転換又はトランスフェクションした宿主細胞。

【請求項 8】 請求項 7 に記載の宿主細胞を、ポリペプチドの発現を促進する条件下で培養することを含む、ポリペプチドの製造方法。

【請求項 9】 請求項 4 又は 5 に記載のポリペプチドを含むオリゴマーポリペプチド

。

【請求項 10】 請求項 4、5 又は 9 のポリペプチドに結合する抗体。

【請求項 11】 抗体がモノクローナル抗体である、請求項 10 に記載の抗体。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0192

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0192】

実施例 2：精製 IL-1ゼータおよび Xrec2 ポリペプチドの使用

ポリペプチド特異的 ELISA：

IL-1ゼータまたはXrec2を含有する試料の系列希釈液(50mM NaHCO<sub>3</sub>中、NaOHでpH9に調整)を、Linbro/Titer tek 96ウェル平底E.I.A.マイクロタイションプレート(ICN Biomedical社、オハイオ州オーローラ)に塗布する(100  $\mu$ l/ウェル)。4で16時間のインキュベーション後、0.05% Tween-20を含有する200  $\mu$ l PBS(PBS-Tween)でウェルを6回洗浄する。次いで、5%ウシ胎仔血清(FCS)を含有するPBS-Tween中1mg/mlのFLAG(登録商標)結合パートナーと共に、ウェルを90分間インキュベートする(100  $\mu$ l/ウェル)。次いで5%FCSを含有するPBS-Tween中1mg/mlの抗-FLAG(登録商標、モノクローナル抗体M2)と共に各ウェルを90分間インキュベートし(100  $\mu$ l/ウェル)、次いで前記に従って洗浄する。続いてウェルをポリクローナルヤギ抗-mIgG1特異性西洋ワサビペルオキシダーゼ結合抗体(5%FCSを含有するPBS-Tween中の市販原液1:5000希釈液)と共に、ウェルを90分間インキュベートする(100  $\mu$ l/ウェル)。HRP結合抗体はSouthern Biotechnology Associates社(アラバマ州バーミングハム)から得られる。ウェルを前記に従って6回洗浄する。

【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0193

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0193】

ELISAを実施するために、基質ミックス[100  $\mu$ l/ウェルのTMB ペルオキシダーゼ基質とペルオキシダーゼ溶液B(Kirkegaard Perry Laboratories、メリーランド州ガイザースバーグ)の1:1プレミックス]をウェルに添加する。十分な発色反応の後、2N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(50  $\mu$ l/ウェル)の添加により酵素反応を停止する。色濃度(リガンド受容体結合を指示する)を、V Maxプレートリーダー(Molecular Devices、カリフォルニア州サニーベール)で450nmにおける吸光を測定することにより判定する。