

【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7月5日(2007.7.5)

【公表番号】特表2002-543825(P2002-543825A)

【公表日】平成14年12月24日(2002.12.24)

【出願番号】特願2000-618312(P2000-618312)

【国際特許分類】

C 1 2 N	5/06	(2006.01)
A 6 1 K	45/00	(2006.01)
A 6 1 P	7/00	(2006.01)
A 6 1 P	29/00	(2006.01)
A 6 1 P	37/06	(2006.01)
A 6 1 P	43/00	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	5/00	Z N A E
A 6 1 K	45/00	
A 6 1 P	7/00	
A 6 1 P	29/00	
A 6 1 P	37/06	
A 6 1 P	43/00	1 1 1

【手続補正書】

【提出日】平成19年5月11日(2007.5.11)

【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】 細胞におけるP D Zタンパク質とP Lタンパク質の結合を阻害する拮抗剤を細胞に導入し、それによって生物機能を調節することを含む、内皮細胞又は造血系細胞の生物機能を調節する方法。

【請求項2】 P Lタンパク質が、CD6、CD49E、CD49F、CD138、Clasp-1、Clasp-4、VCAM-1、Clasp-2、CD95、DNAM-1、CD83、CD44、CD97、CD3、CD4、DOCK2、CD34、FcεRIb及びFasリガンドから成る群から選択される請求項1の方法。

【請求項3】 P Lタンパク質が、X-S-X-A、X-A-D/E-V、X-V/I/L-X\*-V、又はX-S/T-X-Fから選択されるカルボキシ末端アミノ酸モチーフを有し、その際、Xはアミノ酸であり、X\*是非芳香族アミノ酸である請求項1の方法。

【請求項4】 P Lタンパク質が、X-S-X-A、X-A-D/E-V、X-V/I/L-X\*-V、又はX-S/T-X-Fから選択されるカルボキシ末端アミノ酸モチーフを有し、その際、Xはアミノ酸であり、X\*是非芳香族アミノ酸である請求項1の方法。

【請求項5】 P Lタンパク質が、CD6、CD4、CD49E、CD49F、CD138、Clasp-1、Clasp-4、VCAM-1、Clasp-2、CD95、DNAM-1、CD83、CD44、CD97、CD3n、DOCK2、CD34、FcεRIb及びFasリガンドから成る群から選択される請求項1の方法。

【請求項6】 拮抗剤がP L阻害剤配列ペプチドのペプチド模倣体である請求項1の

方法。

【請求項 7】 該物質が、膜貫通トランスポータアミノ酸配列及びPL配列を含む融合ポリペプチドである請求項1の方法。

【請求項 8】 膜貫通トランスポータアミノ酸配列が、HIVのtat、ショウジョウバエのアンテナペディア、単純ヘルペスウイルスのVP22及び抗DNAのCDR2並びに3から成る群から選択される請求項7の方法。

【請求項 9】 試験化合物がPDZタンパク質とPLタンパク質との間の結合の阻害剤であるかどうかを決定する方法であって：

a) それらが複合体を形成する条件下で、i) PDZタンパク質由来の配列を有するPDZドメインポリペプチドとii) PLペプチドを接触させること、ここで、PLペプチドは、CD6、CD49E、CD49F、CD138、Clasp-1、Clasp-4、CD4、VCAM-1、Clasp-2、CD95、DNAM-1、CD83、CD44、CD97、CD3n、DOCK2、CD34、FcεRIb及びFasリガンドから成る群から選択されるPLタンパク質のC末端配列を含み、ここで、前記接触は試験化合物の存在下及び非存在下で行われる；及び

b) 試験化合物の存在下及び非存在下にて複合体の形成を検出することを含むここで、試験化合物非存在下に比べて試験化合物存在下での複合体形成が少ないと示す、試験化合物がPDZタンパク質-PLタンパク質の結合の阻害剤であることを示す、前記方法。

【請求項 10】 PDZドメインポリペプチドが融合ポリペプチドである請求項9の方法。

【請求項 11】 阻害剤が、CD6、CD49E、CD49F、CD138、Clasp-1、Clasp-4、VCAM-1、Clasp-2、CD95、DNAM-1、CD83、CD44、CD4、CD97、CD3n、DOCK2、CD34、FcεRIb及びFasリガンドから成る群から選択されるPLペプチドから成る群から選択されるペプチドとPDZドメインのポリペプチドとの結合を低下させることを特徴とするPDZタンパク質とPLタンパク質の結合の前記阻害剤。

【請求項 12】 a) CD6、CD49E、CD49F、CD138、Clasp-1、Clasp-4、VCAM-1、Clasp-2、CD95、DNAM-1、CD83、CD44、CD4、CD97、CD3n、CD4、DOCK2、CD34、FcεRIb及びFasリガンドから選択されるPLタンパク質のC末端配列の3～約20の残基である配列を含むペプチドであり；

b) Xがアミノ酸であり、X\*が非芳香族アミノ酸である、モチーフ、X-S-X-A、X-A-D/E-V、X-V/I/L-X\*-V、又はX-S/T-X-Fを有するペプチドであり；

c) (a)又は(b)項のペプチドのペプチド模倣体であり；又は

d) 分子量1kD未満の小型有機分子である

請求項11の阻害剤。

【請求項 13】 細胞においてPDZタンパク質とPLタンパク質の結合を阻害する拮抗剤を細胞に導入することを含む、造血系細胞の生物機能を調節する方法であって、ここで、

(a) PLタンパク質は、DNAM-1であり、且つPDZタンパク質はMPP1、MPP2、DLG1、NeDLG、PSD95、LIM、AF6、41.8若しくはRGSL2であり；又は

(b) PLタンパク質はLAPPであり、且つPDZタンパク質はDLG1若しくはMINT1である、前記方法。

【請求項 14】 PLタンパク質がDNAM-1であり、且つPDZタンパク質がPSD95又はMPP2である請求項13の方法。

【請求項 15】 PDZタンパク質が、CASK、MPP1、DLG1、PSD95、NeDLG、SYN1a、TAX43、LDP、LIM、LIMK、AF6、PTN-4、prIL16、41.8、RGSL2、DVL1、TAX40、TLAM1、MIN

T 1、K I A A 0 3 0 3、T A X 2、及びK I A A 0 5 6 1から成る群から選択される請求項1の方法。

【請求項16】 試験化合物がP D Zタンパク質とP Lタンパク質との間の結合の作動薬であるかどうかを決定する方法であって：

a) それらが複合体を形成する条件下で、i ) P D Zドメインポリペプチドとi i ) P Lペプチドを接触させること、ここで、P Lペプチドは、C D 6、C D 4 9 E、C D 4 9 F、C D 1 3 8、C l a s p - 1、C l a s p - 4、C D 4、V C A M - 1、C l a s p - 2、C D 9 5、D N A M - 1、C D 8 3、C D 4 4、C D 9 7、C D 3 n、D O C K 2、C D 3 4、F c e R I b 及びF a sリガンドから成る群から選択されるP Lタンパク質のC末端配列を含み、ここで、前記接触は試験化合物の存在下及び非存在下で行われる；及び

b) 試験化合物の存在下及び非存在下にて複合体の形成を検出することを含む、ここで、試験化合物非存在下に比べて試験化合物存在下での複合体形成が増加することは、試験化合物がP D Zタンパク質・P Lタンパク質の結合の作動薬であることを示す、前記方法。

【請求項17】 アッセイ・プレートに付着されたP D Zタンパク質のアレイ。

【請求項18】 前記アッセイ・プレートがマイクロタイター・プレートである、請求項17に記載のアレイ。

【請求項19】 P D Zドメイン・ポリペプチドとP D Zリガンド・タンパク質(P L)の間の相互作用を検出する方法であって、以下のステップ：

(a) P D Zドメイン・ペプチドをP Lタンパク質と接触させ；そして

(b) 上記P D Zドメインと上記P Lタンパク質の間の結合を検出するを含み、ここで、上記P D Zドメイン・ポリペプチドは固定化され、かつ、上記P Lタンパク質は可溶化されているか、又はその逆である

前記方法。

【請求項20】 前記P D Zドメイン・ポリペプチドがドメインに融合されて、支持体への固定化が容易にされている、請求項19に記載の方法。

【請求項21】 前記融合タンパク質が、固定化されたP D Z融合タンパク質のアレイの一部である、請求項19に記載の方法。

【請求項22】 トランスメンブラン・トランスポーター・アミノ酸配列に結合されているP Lペプチド。

【請求項23】 C - 末端モチーフE - S / T - X - V / Iを含有する、請求項22に記載のP Lペプチド。

【請求項24】 X - S - X - A、X - A - D / E - V、X - V / I / L - X<sup>\*</sup> - V、及びX - S / T - X - F {式中、Xはいずれかのアミノ酸であり、そしてX<sup>\*</sup>はいずれかの非芳香族アミノ酸である。}から選ばれるC - 末端モチーフを含有する請求項22に記載のP Lペプチド。

【請求項25】 前記トランスメンブラン・トランスポーター・アミノ酸配列は、H I V t a t、ドロソフィラ・アンテナペディア(D r o s o p h i l a a n t e n a p e d i a)、単純ヘルペス・ウイルスV P 2 2又は抗-D N A C D R 2及び3トランスポーター・アミノ酸配列である、請求項22に記載のP Lペプチド。