

【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、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、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、C D 4、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 * は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 * は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、C D 6、C D 4、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、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 P L 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、H I V の t a t、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 V P 2 2 及び抗 D N A の C D R 2 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 P D Z タンパク質と P L 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) P D Z タンパク質由来の配列を有する 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少ないことは、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阻害剤であることを示す、前記方法。

【請求項 10】 P D Z 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、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、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 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 ペプチドから成る群から選択されるペプチドと P D Z 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 P D Z タンパク質と P L タンパク質の結合の前記阻害剤。

【請求項 12】 a) 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、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、C D 4、D O C K 2、C D 3 4、F c e R I b 及び F a s リガンドから選択される P L タンパク質の C 末端配列の 3 ~ 約 2 0 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 1 k D 未満の小型有機分子である

請求項 1 1 の阻害剤。

【請求項 13】 細胞において 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) P L タンパク質は、D N A M - 1 であり、且つ P D Z タンパク質は M P P 1、M P P 2、D L G 1、N e D L G、P S D 9 5、L I M、A F 6、4 1 . 8 若しくは R G S 1 2 であり；又は

(b) P L タンパク質は L P A P であり、且つ P D Z タンパク質は D L G 1 若しくは M I N T 1 である、前記方法。

【請求項 14】 P L タンパク質が D N A M - 1 であり、且つ P D Z タンパク質が P S D 9 5 又は M P P 2 である請求項 1 3 の方法。

【請求項 15】 P D Z タンパク質が、C A S K、M P P 1、D L G 1、P S D 9 5、N e D L G、S Y N 1 a、T A X 4 3、L D P、L I M、L I M K、A F 6、P T N - 4、p r I L 1 6、4 1 . 8、R G S 1 2、D V L 1、T A X 4 0、T L A M 1、M I N

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 1 6】 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 1 7】 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 1 8】 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 1 7 に記載のアレイ。

【請求項 1 9】 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 2 0】 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 1 9 に記載の方法。

【請求項 2 1】 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 1 9 に記載の方法。

【請求項 2 2】 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 2 3】 C - 末端モチーフ E - S / T - X - V / I を含有する、請求項 2 2 に記載の P L ペプチド。

【請求項 2 4】 X - S - X - A、X - A - D / E - V、X - V / I / L - X^{*} - 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^{*} 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 2 2 に記載の P L ペプチド。

【請求項 2 5】 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 2 2 に記載の P L ペプチド。