

【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8月23日(2007.8.23)

【公表番号】特表2003-504020(P2003-504020A)

【公表日】平成15年2月4日(2003.2.4)

【出願番号】特願2001-508334(P2001-508334)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)
A 6 1 K 31/7088 (2006.01)
A 6 1 K 45/00 (2006.01)
A 6 1 K 48/00 (2006.01)
A 6 1 P 9/04 (2006.01)
A 6 1 P 9/06 (2006.01)
A 6 1 P 9/12 (2006.01)
A 6 1 P 25/08 (2006.01)
A 6 1 P 25/20 (2006.01)
A 6 1 P 43/00 (2006.01)
C 0 7 K 14/47 (2006.01)
C 0 7 K 16/18 (2006.01)
C 1 2 P 21/02 (2006.01)
C 1 2 Q 1/02 (2006.01)
C 1 2 Q 1/68 (2006.01)
G 0 1 N 33/15 (2006.01)
G 0 1 N 33/50 (2006.01)
G 0 1 N 33/53 (2006.01)
G 0 1 N 33/566 (2006.01)
G 0 1 N 33/58 (2006.01)
C 1 2 N 5/10 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A
A 6 1 K 31/7088
A 6 1 K 45/00
A 6 1 K 48/00
A 6 1 P 9/04
A 6 1 P 9/06
A 6 1 P 9/12
A 6 1 P 25/08
A 6 1 P 25/20
A 6 1 P 43/00 1 1 1
C 0 7 K 14/47
C 0 7 K 16/18
C 1 2 P 21/02 C
C 1 2 Q 1/02
C 1 2 Q 1/68 A
G 0 1 N 33/15 Z
G 0 1 N 33/50 Z
G 0 1 N 33/53 M
G 0 1 N 33/53 Y
G 0 1 N 33/566

G 0 1 N 33/58 A
C 1 2 N 5/00 B

【手続補正書】

【提出日】平成19年7月3日(2007.7.3)

【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】 発現カセットを含む単離された組換えDNA分子であって、ここで該発現カセットは、T型カルシウムチャネル₁サブユニットをコードするヌクレオチド配列を含み、該₁サブユニットは、配列番号24、配列番号26、配列番号28または配列番号37と同一のアミノ酸配列を有し、該コード配列は、制御配列に作動可能に連結されてその発現をもたらす、単離された組換えDNA分子。

【請求項2】 前記₁サブユニットが、配列番号37のアミノ酸配列を有する、請求項1に記載のDNA分子。

【請求項3】 前記₁サブユニットが、配列番号28のアミノ酸配列を有する、請求項1に記載のDNA分子。

【請求項4】 前記₁サブユニットが、配列番号26のアミノ酸配列を有する、請求項1に記載のDNA分子。

【請求項5】 前記₁サブユニットが、配列番号24のアミノ酸配列を有する、請求項1に記載のDNA分子。

【請求項6】 請求項1～5のいずれかに記載のDNA分子を含むように改変された、組換え宿主細胞。

【請求項7】 哺乳動物細胞である、請求項6に記載の細胞。

【請求項8】 組換え機能的カルシウムチャネルの産生をもたらす方法であって、該方法は、該機能的カルシウムチャネルが産生される条件下で、請求項6または7に記載の細胞を培養する工程を包含する、方法。

【請求項9】 T型哺乳動物カルシウムチャネルのための調節因子である化合物を同定するための方法であって、該方法は、請求項8に記載されるような細胞を該化合物と接触させる工程、および該化合物の該細胞に対する効果を評価する工程を包含する、方法。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0008

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0008】

Stea, A.ら、(1994)(前記)で記述されているように、₁サブユニットは、一般的に、2000アミノ酸オーダーの長さがあり、ウサギ由来の_{1S}の1873アミノ酸長から、ウサギ由来_{1A}の2424アミノ酸長の範囲に及ぶ。一般的にこれらのサブユニットには、3個または4個のアミノ酸ごとに正に荷電した残基を持つ一つのセグメント(S4)とともにそれぞれが6個の推定のアルファヘリックス膜貫通セグメント(S1-S6)を持つ4個の内部相同的繰り返し(I-IV)を含む。スプライシングの相違による例外が少数存在する。ドメインIIとドメインIIIとの間に、_{1S}において興奮収縮連関を仲介し、また、サブタイプの間で、100～400アミノ酸残基の範囲であると考えられている細胞質ドメインがある。ドメインI-IVは、分子の大体2/3を占め、ドメインIVのS6領域に隣接するそのカルボキシル末端は、カルシウムチャネルの細胞内側にあると考えられている。Stea, A.ら(前記)によりクローニングされ記述

されている、サブユニット結合部位であるドメイン I S 6 膜貫通セグメントの下流の全てのサブユニットにおいて共通モチーフ (Q Q - E - L - G Y - W I - E) (配列番号 3 6) がある。

【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 6 3

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 6 3】

ヒト視床 c D N A ライブラリにおいて、M D - 1 9 - センスプライマー (5 ' G C G T G G A G C T C T T T G G A G 3 ') (配列番号 3 7) および、G - 2 6 アンチセンスプライマー (5 ' G C A C C C A G T G G A G A A A G G T G 3 ') (配列番号 3 8) を用いて P C R 法により、3 ' 1 G サブユニット c D N A の残りの領域を得た。用いた P C R プロトコールは、9 4 にて 3 0 秒、5 8 にて 3 0 秒、7 2 にて 3 0 秒を 2 5 サイクル繰り返す、というものであった (B i o - R a d G e n e C y c l e r) 。 p G e m - T - E a s y プラスミドベクター (P r o m e g a) に、1 6 1 7 b p の c D N A フラグメントをサブクローニングし、配列決定した。3 ' P C R c D N A を、停止コドンを含む、ドメイン I V - S 5 からカルボキシル末端に広がるヒト 1 G サブユニットとして同定した。