【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20年3月13日(2008.3.13)

【公表番号】特表2003-526361(P2003-526361A)
【公表日】平成15年9月9日(2003.9.9)
【出願番号】特願2001-567302(P2001-567302)
【国際特許分類】
Ｃ１２Ｎ　15/09　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　1/15　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　1/19　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　1/21　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　9/50　(2006.01)
Ｃ１２Ｑ　1/37　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　5/10　(2006.01)
Ｃ１２Ｒ　1/92　(2006.01)
【ＦＩ】
Ｃ１２Ｎ　15/00　ＺＮＡＡ
Ｃ１２Ｎ　1/15
Ｃ１２Ｎ　1/19
Ｃ１２Ｎ　1/21
Ｃ１２Ｎ　9/50
Ｃ１２Ｑ　1/37
Ｃ１２Ｎ　5/00　Ａ
Ｃ１２Ｎ　9/50
Ｃ１２Ｒ　1:92
Ｃ１２Ｑ　1/37
Ｃ１２Ｒ　1:92

【手続補正書】
【提出日】平成20年1月15日(2008.1.15)
【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】　ＨＣＶ　ＮＳ２／３プロテアーゼのフラグメントから成るポリペプチドであって、前記プロテアーゼがＨＣＶ　ＮＳ２／３プロテアーゼ前駆体として天然に産生され、前記フラグメントが、ＨＣＶ　ＮＳ２／３プロテアーゼ前駆体の残基９０３－９１３の位置のアミノ酸をそのＮ末端残基として有しており、ＨＣＶ　ＮＳ２／３プロテアーゼ前駆体の残基１２０６－１６５７の位置のアミノ酸をそのＣ末端残基として有しており、前記ポリペプチドがホモダイマーであるときは自己タンパク質分解活性を有していることを特徴とするポリペプチド。
【請求項２】　フラグメントのＣ末端残基がＨＣＶ　ＮＳ２／３プロテアーゼ前駆体の１２０６位のアミノ酸であることを特徴とする請求項１に記載のポリペプチド。
【請求項３】　フラグメントのＮ末端残基がＨＣＶ　ＮＳ２／３プロテアーゼ前駆体の９０３位のアミノ酸であることを特徴とする請求項２に記載のポリペプチド。
【請求項４】　フラグメントのＮ末端残基がＨＣＶ　ＮＳ２／３プロテアーゼ前駆体の９０７位のアミノ酸であることを特徴とする請求項２に記載のポリペプチド。

【請求項５】　ＨＣＶ　ＮＳ２／３プロテアーゼのフラグメントに比較して全長で９０％の配列一致を有しているアミノ酸配列から成るポリペプチドであって、前記プロテアーゼがＨＣＶ　ＮＳ２／３プロテアーゼ前駆体として天然に産生され、前記フラグメントが、ＨＣＶ　ＮＳ２／３プロテアーゼ前駆体の残基９０３－９１３の位置のアミノ酸をそのＮ末端残基として有しており、ＨＣＶ　ＮＳ２／３プロテアーゼ前駆体の残基１２０６－１６５７の位置のアミノ酸をそのＣ末端残基として有しており、前記ポリペプチドがホモダイマーであるときは自己タンパク質分解活性を有しており、ＨＣＶ　ＮＳ２／３プロテアーゼ前駆体がＨＣＶ　Ｊ株（Ｇｅｎｂａｎｋ　Ａｃｃ．Ｎｏ．Ｄ９０２０８）、ＨＣＶ　Ｈ株（Ｇｅｎｂａｎｋ　Ａｃｃ．Ｎｏ．Ｍ６７４６３）またはＨＣＶ　Ｈ７７株（Ｇｅｎｂａｎｋ　Ａｃｃ．ＡＦ００９６０６）の内部の核酸によってコードされていることを特徴とするポリペプチド。

【請求項６】　１つまたは複数の異種アミノ酸残基に融合していることを特徴とする請求項１から５のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項７】　請求項１から６のいずれか一項に記載のポリペプチドをコードしている単離された核酸。

【請求項８】　前記ポリペプチドの発現調節配列に作動可能に結合されていることを特徴とする請求項７に記載の核酸を含む発現ベクター。

【請求項９】　請求項８に記載の発現ベクターによって形質転換された宿主細胞。

【請求項１０】　請求項８に記載の発現ベクターから発現を生じさせて前記ポリペプチドを産生することを特徴とするポリペプチドの産生方法。

【請求項１１】　前記発現ベクターによって形質転換された細胞を前記ポリペプチドが産生される条件下で培養する段階を含む請求項１０に記載の方法。

【請求項１２】　産生されたポリペプチドが不溶性封入体中に蓄積する条件下で宿主細胞を培養することを特徴とする請求項１１に記載の方法。

【請求項１３】　宿主細胞を亜鉛欠失培地で培養することを特徴とする請求項１２に記載の方法。

【請求項１４】　前記ポリペプチドを単離及び／または精製する段階を含む請求項１０から１３のいずれか一項に記載の方法。

【請求項１５】　ポリペプチドの再生又はリフォールディング段階を含む請求項１０から１４のいずれか一項に記載の方法。

【請求項１６】　ポリペプチドを自己タンパク質分解活性をもつホモダイマーに形成する段階を含む請求項１５に記載の方法。

【請求項１７】　請求項１６に記載の方法で得られたホモダイマー。

【請求項１８】　請求項１から６のいずれか一項に記載の２個のポリペプチドから成るホモダイマー。

【請求項１９】　ＨＣＶ　ＮＳ２／３プロテアーゼのフラグメントから成るポリペプチドを得る方法であって、前記プロテアーゼがＨＣＶ　ＮＳ２／３プロテアーゼ前駆体として天然に産生され、前記ポリペプチドがホモダイマーであるときは自己タンパク質分解活性を有しており、前記方法が、

ＨＣＶ　ＮＳ２／３プロテアーゼの１つまたは複数の欠損フラグメントを準備する段階と、

１つまたは複数の欠損フラグメントについて自己タンパク質分解活性をもつホモダイマー形成能力を試験して自己タンパク質分解活性をもつホモダイマーを同定する段階と、

を含み、それにより前記ポリペプチドが得られることを特徴とする方法。

【請求項２０】　１つまたは複数の欠損フラグメントがＮ末端残基としてＨＣＶ　ＮＳ２／３プロテアーゼ前駆体の残基９０３－９１３の位置のアミノ酸を有しており、Ｃ末端残基としてＨＣＶ　ＮＳ２／３プロテアーゼ前駆体の残基１２０６－１６５７の位置のアミノ酸を有していることを特徴とする請求項１９に記載の方法。

【請求項２１】　コーディング核酸から発現させることによって前記１つまたは複数の欠損フラグメントを産生することを特徴とする請求項１９または２０に記載の方法。

【請求項２２】　前記コーディング核酸で形質転換させた宿主細胞を前記１つまたは複数の欠損フラグメントの産生条件下で培養することによって生じた発現によって前記１つまたは複数の欠損フラグメントを産生することを特徴とする請求項２１に記載の方法。

【請求項２３】　産生されたポリペプチドが不溶性封入体中に蓄積する条件下で宿主細胞を培養することを特徴とする請求項２２に記載の方法。

【請求項２４】　宿主細胞を亜鉛欠失培地で培養することを特徴とする請求項２３に記載の方法。

【請求項２５】　請求項１９から２４のいずれか一項に記載の方法によって得られた２個のポリペプチドから成るホモダイマー。

【請求項２６】　ＨＣＶ　ＮＳ２／３プロテアーゼの活性を調節する薬剤の能力を試験するアッセイ方法であって、

（ａ）被験薬剤を請求項１から６のいずれかに記載のポリペプチドまたは２個の前記ポリペプチドから成るホモダイマーに接触させる段階と、

（ｂ）２個の前記ポリペプチドから成るホモダイマー及び／またはＨＣＶ　ＮＳ２／３プロテアーゼ活性の形成を判定する段階と、から成るアッセイ方法。

【請求項２７】　前記ポリペプチドのダイマー化を判定する段階を含む請求項２６に記載の方法。

【請求項２８】　ＨＣＶ　ＮＳ２／３プロテアーゼ活性を測定する段階を含む請求項２６または２７に記載の方法。

【請求項２９】　被験薬剤をＨＣＶ　ＮＳ２／３プロテアーゼの活性調節物質として同定する段階を含む請求項２６から２８のいずれか一項に記載の方法。

【請求項３０】　更に、ＨＣＶ　ＮＳ２／３プロテアーゼの活性を調節する前記物質、または場合によっては前記物質がペプチジルであるときは前記物質をコードしている核酸を、少なくとも１つの追加成分を含む組成物に配合する段階を含む請求項２９に記載の方法。

【請求項３１】　ＨＣＶ　ＮＳ２／３プロテアーゼ活性を調節する物質を同定または取得するための、請求項１から６のいずれか一項に記載のポリペプチドまたは２個の前記ポリペプチドから成るホモダイマーの使用。