

【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28年10月27日(2016.10.27)

【公表番号】特表2011-520466(P2011-520466A)

【公表日】平成23年7月21日(2011.7.21)

【年通号数】公開・登録公報2011-029

【出願番号】特願2011-510512(P2011-510512)

【国際特許分類】

C 12 N 15/09 (2006.01)

C 12 N 9/02 (2006.01)

C 07 K 19/00 (2006.01)

C 12 Q 1/66 (2006.01)

【F I】

C 12 N 15/00 Z N A A

C 12 N 9/02

C 07 K 19/00

C 12 Q 1/66

【誤訳訂正書】

【提出日】平成28年9月9日(2016.9.9)

【誤訳訂正1】

【訂正対象書類名】特許請求の範囲

【訂正対象項目名】全文

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

ルシフェラーゼ配列と、変異cAMP結合部位のための異種アミノ酸配列とを含む修飾ルシフェラーゼをコードするポリヌクレオチドであって、

前記修飾ルシフェラーゼにおけるルシフェラーゼ配列は、配列番号106のホタルルシフェラーゼに対して少なくとも90%のアミノ酸配列同一性を有する未修飾ルシフェラーゼと比較して、配列番号106のホタルルシフェラーゼの残基353～408に対応する領域におけるいずれかの位置において円順列変異がされているものであり、

前記修飾ルシフェラーゼが、前記未修飾ルシフェラーゼのC末端における配列に対応するルシフェラーゼ配列のC末端と、前記変異cAMP結合部位のための異種アミノ酸配列のN末端との間に存在するペプチドリンカーを含み、

前記変異cAMP結合部位のための異種アミノ酸配列が、前記ペプチドリンカーのC末端と、前記未修飾ルシフェラーゼのN末端における配列に対応するルシフェラーゼ配列のN末端との間に存在し、

前記修飾ルシフェラーゼが、前記未修飾ルシフェラーゼのN末端及びC末端から始まる15以下のアミノ酸残基に対応するアミノ酸残基の欠失を含んでもよく、

前記変異cAMP結合部位のための異種アミノ酸配列は、以下のアミノ酸置換：

E284AとV316Iの組合せ；E284AとV316IとA338Eの組合せ；E284AとV316IとE382Kの組合せ；及びE284AとV316IとF407Yの組合せ、

からなる群から選択されるアミノ酸置換が存在することを除いては配列番号4の残基266～414により表されるアミノ酸配列と同じであり、

前記アミノ酸置換が、配列番号112で示されるアミノ酸配列と比較して、

前記修飾ルシフェラーゼの発光シグナル、及び／又は

細胞内のcAMP量を改变する薬剤に対する前記修飾ルシフェラーゼの反応

を増強し、

前記ペプチドリンカーが、GSSGGSGGSAGG(配列番号41)、GSSSDSDSSAAG(配列番号42)、GSNDSSGGSEGG(配列番号43)、GSNGGFDSSEGG(配列番号44)、GSRGGSVYSEGG(配列番号46)、GSSEGDDFGGD(配列番号47)、GSIVVSCSSEGG(配列番号48)、GSNWDSGCSREG(配列番号49)、GSSGCTGDAGGS(配列番号51)、GSIAGCGDAGEG(配列番号126)、GSNWDSGCSRE(配列番号127)、GSIAGCGDAGEG(配列番号128)、GSNWDSGCSREG(配列番号129)、NWDSGCSREG(配列番号130)及びIAGCGDAGEG(配列番号131)からなる群から選択される、前記ポリヌクレオチド。

【請求項2】

請求項1に記載のポリヌクレオチドを含むベクター。

【請求項3】

請求項1に記載のポリヌクレオチド又は請求項2に記載のベクターによりコードされるポリペプチド。

【請求項4】

請求項3記載のポリペプチドを含む融合タンパク質。

【請求項5】

a)請求項1に記載のポリヌクレオチド、請求項2に記載のベクター、請求項3に記載のポリペプチド又は請求項4に記載の融合タンパク質と、発光反応試薬とを含む試料を提供すること;及び

b)混合物中の発光を検出または測定し、それによって、細胞内のcAMPの量または濃度を検出または測定すること

を含む、細胞内のサイクリックヌクレオチドの量または濃度の変化を検出する方法。

【請求項6】

請求項1に記載のポリヌクレオチド、請求項2に記載のベクター、請求項3に記載のポリペプチド又は請求項4に記載の融合タンパク質と、発光反応試薬とを含む、請求項5に記載の方法における使用のためのキット。

【誤訛訂正2】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0089

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0089】

表8

クローン	置換	配列番号
15C6	F369I, K541Q—Luc2.0における置換(配列番号106)	
16A2	F518L—Luc2.0における置換	60, 61
15H6	F433Y, M493V—Luc2.0における置換;修飾リンカー配列: GSNEWSGCSRGC	107, 108
4H7	F407Y—RII β bにおける置換	35, 36
16B3	S440N—Luc2.0における置換	72, 73
9G4	E382K—RII β bにおける置換	37, 38
1B3	A338E—RII β bにおける置換	33, 34

【誤訛訂正3】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0100

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0100】

すべての公報、特許および特許出願は、参照により本願に組み込まれる。前述の明細書において本発明をその特定の実施形態について説明し、多くの詳細を説明のために示してきたが、本発明は、さらなる実施形態が可能であり、本発明の基本原理から逸脱することなく本明細書の特定の詳細を少なからず変えうることは当業者には明らかであろう。

本発明の別の態様は、以下のとおりであってもよい。

[1] ルシフェラーゼ配列および変異cAMP結合部位の異種アミノ酸配列を含む修飾ルシフェラーゼのオーブンリーディングフレームを含む核酸配列を含むポリヌクレオチドであつて、1以上の置換を欠くcAMP結合部位を有する対応するルシフェラーゼと比較して、前記変異cAMP結合部位が、前記修飾ルシフェラーゼの発光シグナルを増強する1以上の置換、細胞内のcAMP量を改変する薬剤に対する前記修飾ルシフェラーゼの反応を増強する1以上の置換、野生型cAMP結合ドメインの親和性を低下させる1以上の置換またはそれらの組み合わせを有する前記ポリヌクレオチド。

[2] 前記修飾ルシフェラーゼにおけるルシフェラーゼ配列が、野生型ルシフェラーゼと比較して円順列変異された、前記[1]記載のポリペプチド。

[3] 前記修飾ルシフェラーゼにおけるルシフェラーゼ配列が、

- a. 甲虫ルシフェラーゼ配列、
- b. コメツキムシルシフェラーゼ配列、
- c. ホタルルシフェラーゼ配列、または
- d. 花虫類ルシフェラーゼ配列

である、前記[1]または[2]記載のポリヌクレオチド。

[4] 前記cAMP結合部位が、

- a. ホタルルシフェラーゼの残基2～12、残基32～53、残基70～88、残基102～126、残基139～165、残基183～203、残基220～247、残基262～273、残基303～313、残基353～408、残基485～495もしくは残基535～546、
- b. コメツキムシルシフェラーゼの残基15～30、残基112～122、残基352～362、残基371～384、残基393～414もしくは残基485～495、

c. レニラ(Renilla)ルシフェラーゼの残基2～12、残基26～47、残基64～74、残基86～116、残基147～157、残基223～234もしくは残基301～311、

d. ガウシア(Gaussia)ルシフェラーゼの残基43～53、残基63～73、残基79～89、残基95～105、残基105～115、残基109～119、残基121～131もしくは残基157～168、または

e. オプロフォラス(Oplophorus)ルシフェラーゼの残基45～55もしくは残基79～89

に対応する領域中に存在する、前記[1]～[3]のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド。

[5] 円順列変異が、

- a. ホタルルシフェラーゼの残基2～12、残基32～53、残基70～88、残基102～126、残基139～165、残基203～193、残基220～247、残基262～273、残基303～313、残基353～408、残基485～495、もしくは残基535～546、

b. コメツキムシルシフェラーゼの残基15～30、残基112～122、残基352～362、残基371～384、残基393～414もしくは残基485～495、

c. レニラルシフェラーゼの残基26～47、残基64～74、残基85～116、残基147～157、残基223～234もしくは残基301～311、

d. オプロフォラスルシフェラーゼの残基45～55もしくは残基79～89、または

e. ガウシアルシフェラーゼの残基43～53、残基63～73、残基79～89、残基95～105、残基105～115、残基109～119、残基121～131もしくは残基157～168

に対応する領域中に存在する、前記[2]記載のポリヌクレオチド。

[6] 前記変異cAMP結合部位が、変異RII B配列またはRI 配列を含む、前記[1]～[5]のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド。

[7] 前記置換のうちの1以上が、配列番号4を有するRII Bの残基266、282、284、286、296、316、333、338、382、389、404または407に対応する位置に存在する、前記[1]～

[6] のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド。

[8] 前記変異cAMP結合部位の前記オープンリーディングフレームが、ペプチドリンカーをコードする核酸配列と少なくとも1つの末端で隣接する、前記[1]～[7]のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド。

[9] 前記ペプチドリンカーが、GSSGGSGGSAGG(配列番号41)、GSSSDSDSSAGS(配列番号42)、GSNDSSGGSEGG(配列番号43)、GSNGGFDSSEGG(配列番号44)、GSIRWSGLSGGD(配列番号45)、GSRGGSVYSEGG(配列番号46)、GSSEGSSDFGGD(配列番号47)、GSIVVSCSSEGG(配列番号48)、GSNWDSGCSREG(配列番号49)、GSNWDSGCSREC(配列番号50)、GSSGCTGDAGGS(配列番号51)、GSNWDGCSRQC(配列番号52)、GSS/NS/D/GD/S/GS/FD/GS/GSA/EGS/G(配列番号53)、GSI/R/SR/G/EW/GSG/V/SL/Y/DS/FG/EGD/G(配列番号54)、GSI/N/SV/W/GV/D/CS/TC/GS/C/DS/AE/R/GG/EG/S(配列番号55)、GSI/SV/G/AV/GS/CG/DG/D/SS/AG/EG/EG/N(配列番号56)、GSI/N/SV/W/G/AV/D/C/GS/T/CC/GS/C/DS/AE/R/GG/EG/S(配列番号57)、GSIAGCGDAGEG(配列番号126)、GSNWDGCSRE(配列番号127)、GSNWDSGCSREG(配列番号129)、NWDSGCSREG(配列番号130)またはIAGCGDAGEG(配列番号131)を含む、前記[8]記載のポリヌクレオチド。

[10] 前記[1]～[10]のいずれか1項に記載のポリヌクレオチドを含むベクター。

[11] 前記[1]～[10]のいずれか1項に記載のポリヌクレオチドによりコードされるポリペプチド。

[12] 前記[11]記載のポリペプチドを含む融合タンパク質。

[13] a) 前記[1]～[10]のいずれか1項に記載のポリヌクレオチドおよび発光反応試薬を含む試料を提供すること;及び

b) 混合物中の発光を検出または測定し、それによって、細胞内のcAMPの量または濃度を検出または測定すること

を含む、細胞内のサイクリックヌクレオチドの量または濃度の変化を検出する方法。

[14] a) 1以上の試験薬剤、前記[1]～[10]のいずれか1項に記載のポリヌクレオチドおよび発光反応試薬を含む試料を提供すること;及び

b) 前記試料中の発光を検出または測定すること

を含む、Gタンパク質共役型受容体の1以上のモジュレーターを検出する方法。

[15] 修飾ルシフェラーゼのアミノ酸配列および変異cAMP結合部位の異種アミノ酸配列を含むポリペプチドであって、1以上の置換を欠くcAMP結合部位を有する対応するルシフェラーゼと比較して、前記変異cAMP結合部位が、前記修飾ルシフェラーゼの発光シグナルを増強する1以上の置換、細胞内のcAMP量を改変する薬剤に対する前記修飾ルシフェラーゼの反応を増強する1以上の置換、野生型cAMP結合ドメインの親和性を低下させる1以上の置換またはそれらの組み合わせを含む前記ポリペプチド。

[16] 前記修飾ルシフェラーゼのアミノ酸配列が、

a. 甲虫ルシフェラーゼ配列、

b. コメツキムシルシフェラーゼ配列、

c. ホタルルシフェラーゼ配列、または

d. 花虫類ルシフェラーゼ配列

である、前記[15]記載のポリペプチド。

[17] 前記置換のうちの1以上が、配列番号4を有するRII Bの残基266、282、284、286、296、316、333、338、382、389、404または407に対応する位置に存在する、前記[15]または[16]記載のポリペプチド。

[18] 前記[15]、[16]または[17]記載のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド。

[19] 前記[15]、[16]または[17]記載のポリペプチドを含む融合タンパク質。

[20] a) 前記[15]～[17]のいずれか1項に記載のポリペプチドおよび発光反応試薬を含む試料を提供すること;及び

b) 混合物中の発光を検出または測定し、それによって、細胞内のcAMPの量または濃度を検出または測定すること

を含む、細胞内のサイクリックヌクレオチドの量または濃度の変化を検出する方法。

[21] a) 1以上の試験薬剤、前記[15]～[17]のいずれか1項に記載のポリペプチドおよび発光反応試薬を含む試料を提供すること；及び

b) 前記試料中の発光を検出または測定すること

を含む、Gタンパク質共役型受容体の1以上のモジュレーターを検出する方法。

本発明のまた別の態様は、以下のとおりであってもよい。

[1'] ルシフェラーゼ配列および変異cAMP結合部位の異種アミノ酸配列を含む修飾ルシフェラーゼをコードするポリヌクレオチドであって、前記変異cAMP結合部位が、1以上の置換を有し、前記1以上の置換が、cAMP結合部位が前記1以上の置換を欠くことを除いては前記修飾ルシフェラーゼと同じアミノ酸配列を有する対応するルシフェラーゼと比較して、前記修飾ルシフェラーゼの発光シグナルを増強する、細胞内のcAMP量を改変する薬剤に対する前記修飾ルシフェラーゼの反応を増強する、若しくは野生型cAMP結合ドメインの親和性を低下させるものまたはそれらの組み合わせであり、前記置換のうちの1以上が、配列番号4を有するRII Bの残基266、282、284、286、296、316、333、338、382、389、404または407に対応する位置における、M266Q、F282S、E284A、L286N、V296T、V316I、V333N、V333G、V333P、A338E、E382K、M389K、M389Y、M389V、M389L、V404S及びF407Yからなる群から選択されるアミノ酸置換であり、前記変異cAMP結合部位のオープンリーディングフレームが、ペプチドリンカーをコードする核酸配列と少なくとも1つの末端で隣接し、前記ペプチドリンカーが、GSSGGSGGSAGG(配列番号41)、GSSSDSDSSAGS(配列番号42)、GSNDSSGGSEGG(配列番号43)、GSNGGFDSSEGG(配列番号44)、GSRGGSVYSEGG(配列番号46)、GSSEGSSDFGGD(配列番号47)、GSIVVSCSSEGG(配列番号48)、GSNWDSGCSREG(配列番号49)、GSSGCTGDAGGS(配列番号51)、GSIAGCGDAGEG(配列番号126)、GSNWDSGCSRE(配列番号127)、GSIAGCGDAGEG(配列番号128)、GSNWDSGCSREG(配列番号129)、NWDSGCSREG(配列番号130)及びIAGCGDAGEG(配列番号131)からなる群から選択される、前記ポリヌクレオチド。

[2'] 前記修飾ルシフェラーゼにおけるルシフェラーゼ配列が、野生型ルシフェラーゼと比較して円順列変異され、前記円順列変異が、

a. ホタルルシフェラーゼの残基2～12、残基32～53、残基70～88、残基102～126、残基139～165、残基203～193、残基220～247、残基262～273、残基303～313、残基353～408、残基485～495、もしくは残基535～546、

b. コメツキムシルシフェラーゼの残基15～30、残基112～122、残基352～362、残基371～384、残基393～414もしくは残基485～495、

c. レニラルシフェラーゼの残基26～47、残基64～74、残基85～116、残基147～157、残基223～234もしくは残基301～311、

d. オプロフォラスルシフェラーゼの残基45～55もしくは残基79～89、または

e. ガウシアルシフェラーゼの残基43～53、残基63～73、残基79～89、残基95～105、残基105～115、残基109～119、残基121～131もしくは残基157～168

に対応する領域中に存在する、前記[1']記載のポリヌクレオチド。

[3'] 前記修飾ルシフェラーゼにおけるルシフェラーゼ配列が、

a. 甲虫ルシフェラーゼ配列、

b. コメツキムシルシフェラーゼ配列、

c. ホタルルシフェラーゼ配列、または

d. 花虫類ルシフェラーゼ配列

である、前記[1']記載のポリヌクレオチド。

[4'] 前記cAMP結合部位が、

a. ホタルルシフェラーゼの残基2～12、残基32～53、残基70～88、残基102～126、残基139～165、残基183～203、残基220～247、残基262～273、残基303～313、残基353～408、残基485～495もしくは残基535～546、

b. コメツキムシルシフェラーゼの残基15～30、残基112～122、残基352～362、残基371～384、残基393～414もしくは残基485～495、

c. レニラ(Renilla)ルシフェラーゼの残基2～12、残基26～47、残基64～74、残基86～116、残基147～157、残基223～234もしくは残基301～311、

d. ガウシア(Gaussia)ルシフェラーゼの残基43～53、残基63～73、残基79～89、残基95～105、残基109～115、残基121～131もしくは残基157～168、または
e. オプロフォラス(Oplophorus)ルシフェラーゼの残基45～55もしくは残基79～89
に対応する領域中に存在する、前記〔1'〕～〔3'〕のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド。

〔5'〕前記〔1'〕～〔4'〕のいずれか1項に記載のポリヌクレオチドを含むベクター。
〔6'〕前記〔1'〕～〔4'〕のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド又は前記〔5'〕に記載のベクターによりコードされるポリペプチド。

〔7'〕前記〔6'〕記載のポリペプチドを含む融合タンパク質。

〔8'〕a)前記〔1'〕～〔4'〕のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド、前記〔5'〕に記載のベクター、前記〔6'〕に記載のポリペプチド又は前記〔7'〕に記載の融合タンパク質と、発光反応試薬とを含む試料を提供すること；及び

b)混合物中の発光を検出または測定し、それによって、細胞内のcAMPの量または濃度を検出または測定すること

を含む、細胞内のサイクリックヌクレオチドの量または濃度の変化を検出する方法。

〔9'〕a)1以上の試験薬剤と、前記〔1'〕～〔4'〕のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド、前記〔5'〕に記載のベクター、前記〔6'〕に記載のポリペプチド又は前記〔7'〕に記載の融合タンパク質と、発光反応試薬とを含む試料を提供すること；及び

b)前記試料中の発光を検出または測定すること

を含む、Gタンパク質共役型受容体の1以上のモジュレーターを検出する方法。

〔10'〕前記〔1'〕～〔4'〕のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド、前記〔5'〕に記載のベクター、前記〔6'〕に記載のポリペプチド又は前記〔7'〕に記載の融合タンパク質と、発光反応試薬とを含む、前記〔8'〕又は〔9'〕に記載の方法における使用のためのキット。

【誤訳訂正4】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】配列表

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【配列表】

2011520466000001.app

【誤訳訂正5】

【訂正対象書類名】図面

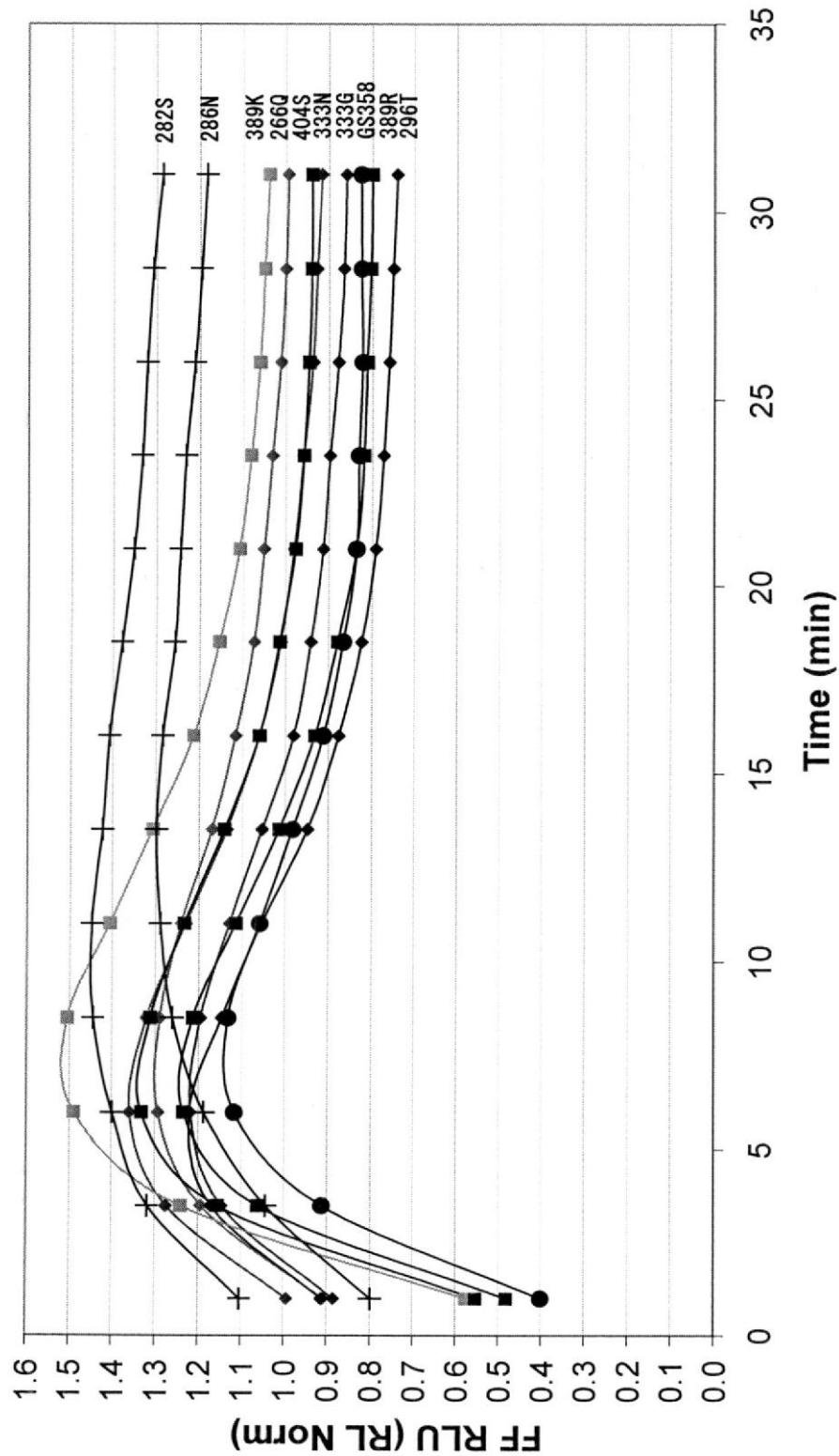
【訂正対象項目名】図2

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【図2】

Figure 2



【誤訛訂正6】

【訂正対象書類名】図面

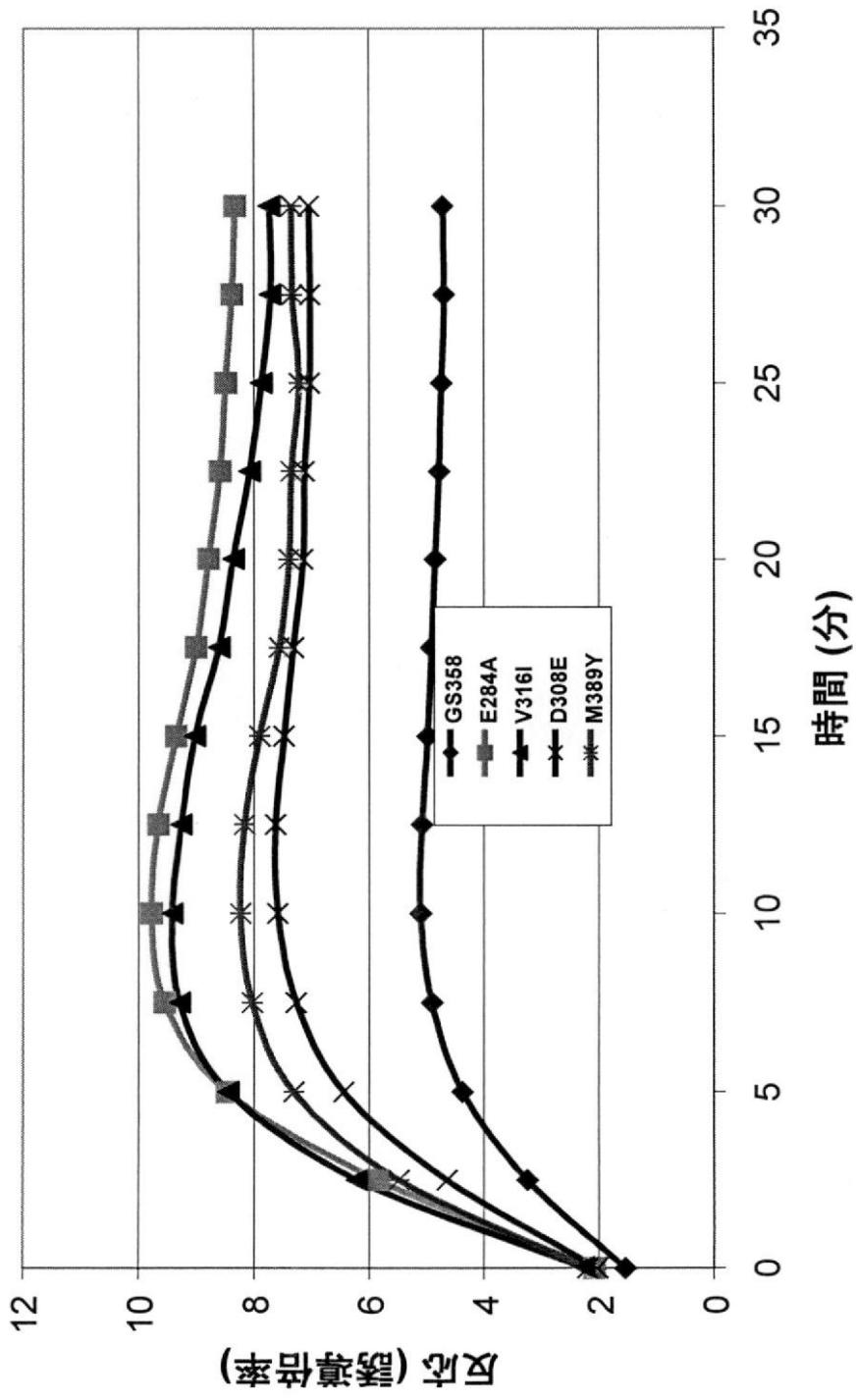
【訂正対象項目名】図3

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【図3】

Figure 3



【誤訳訂正7】

【訂正対象書類名】図面

【訂正対象項目名】図4

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【図4】

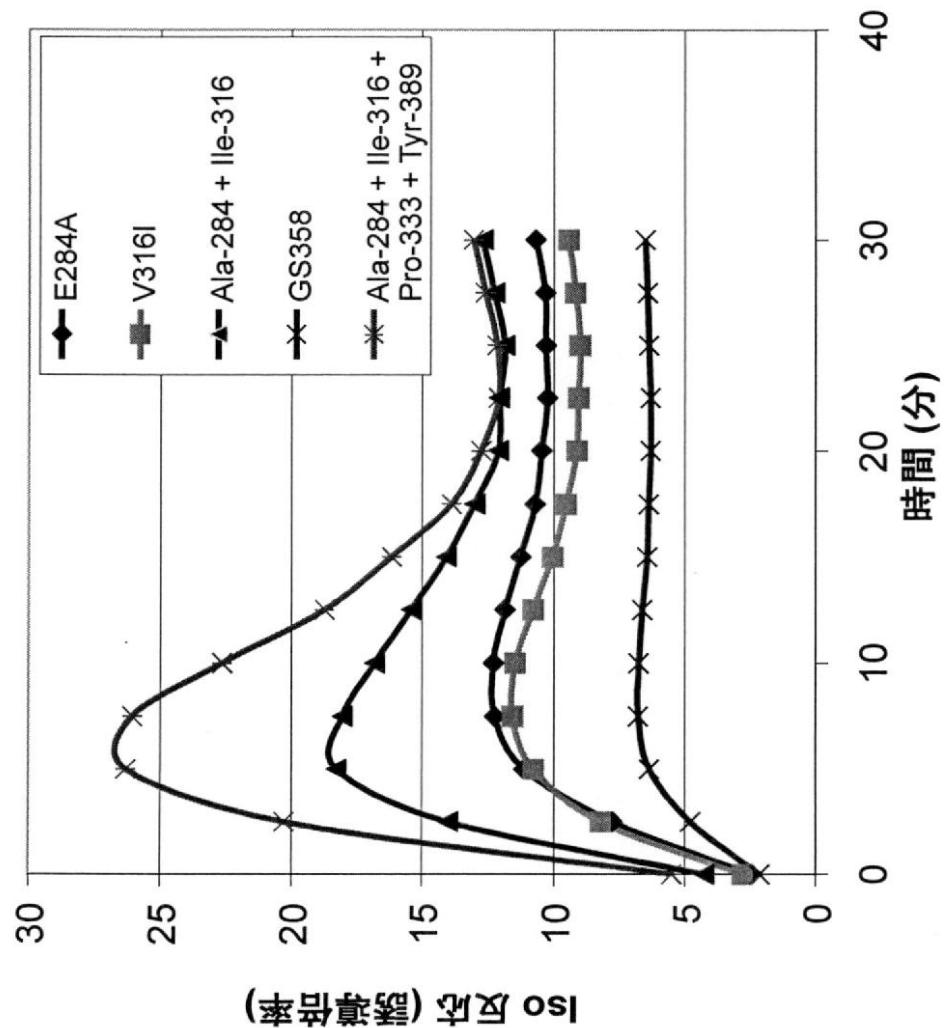


Figure 4

【誤訳訂正 8】

【訂正対象書類名】図面

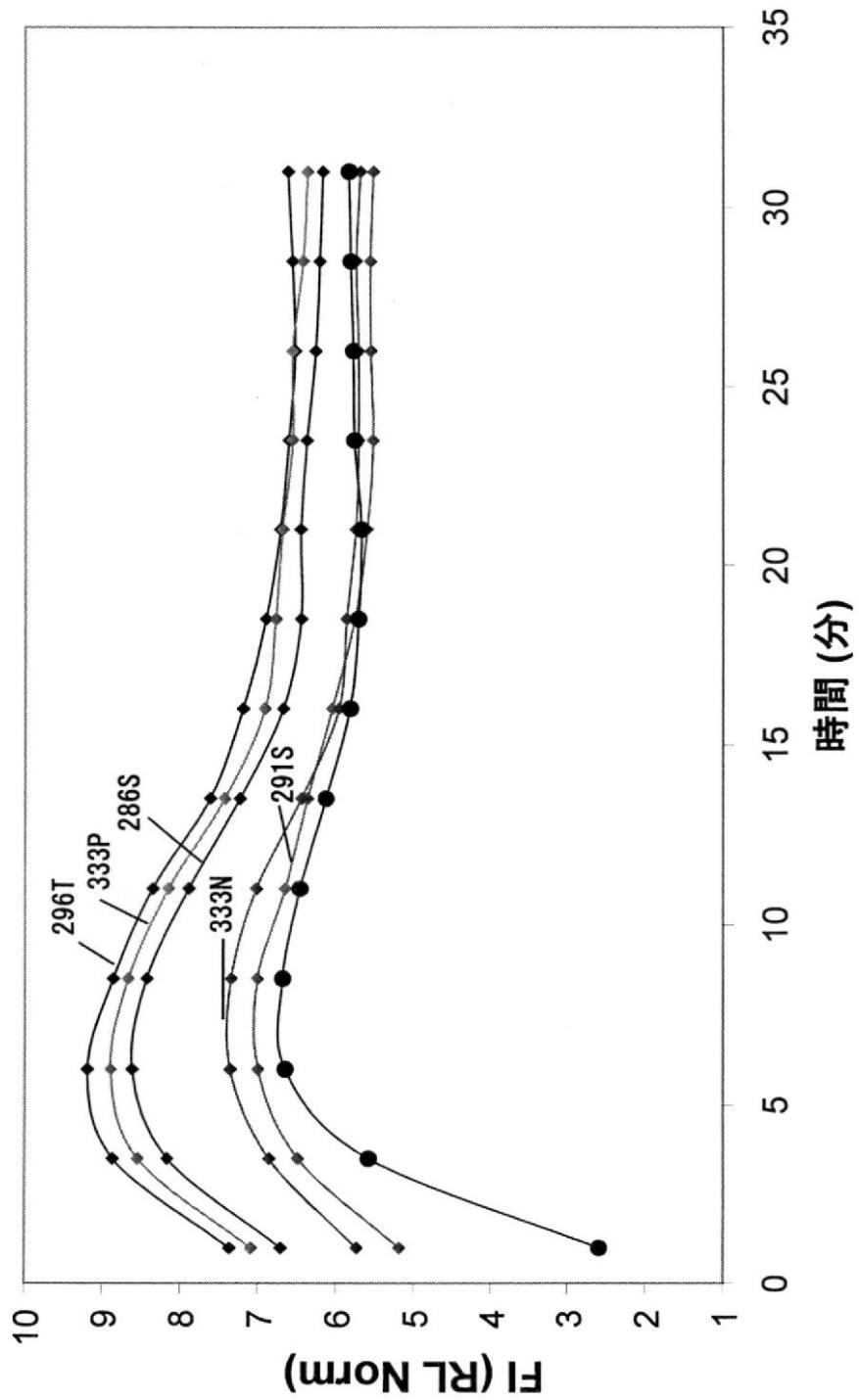
【訂正対象項目名】図 5

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【図 5】

Figure 5



【誤訛訂正 9】

【訂正対象書類名】図面

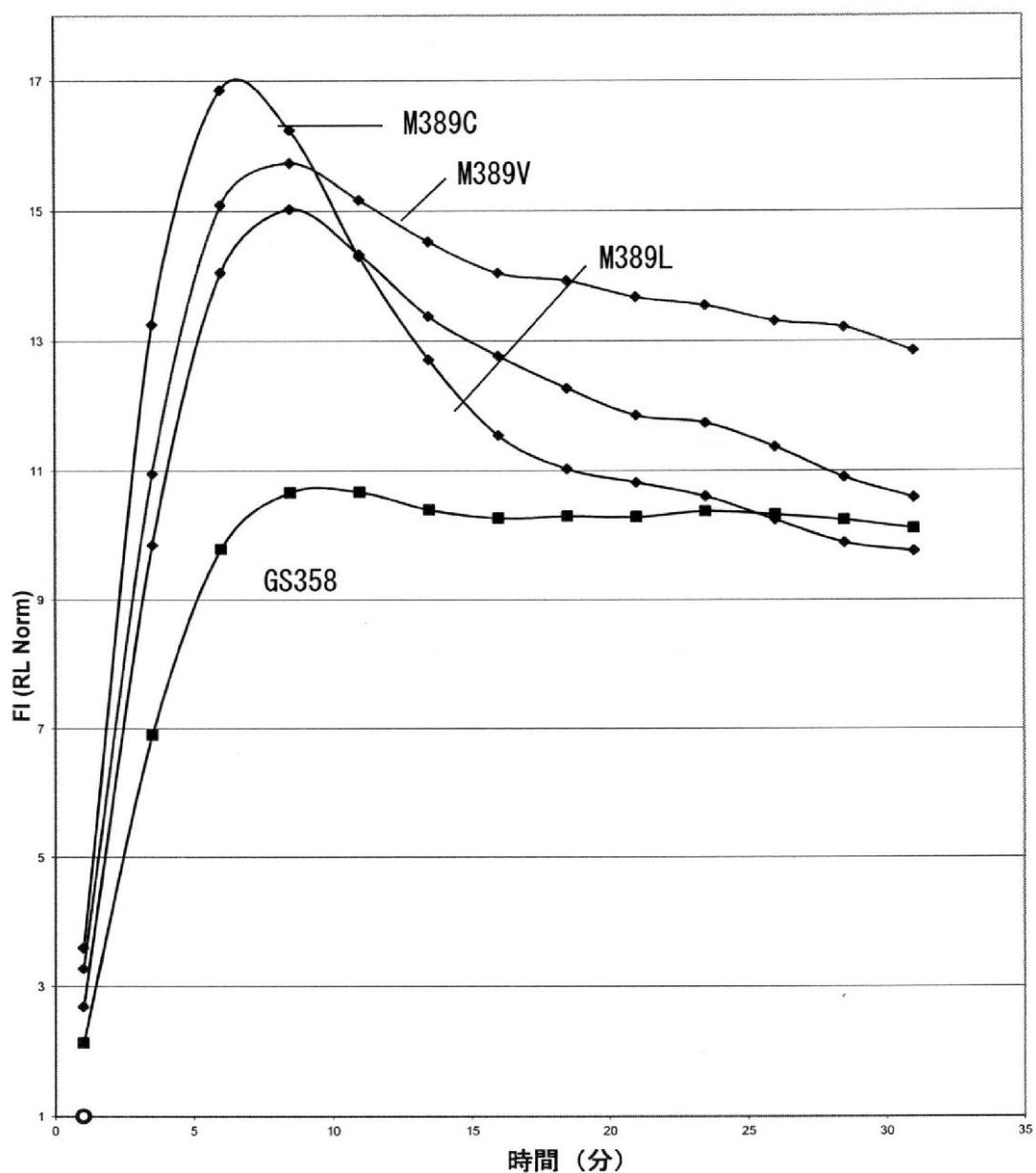
【訂正対象項目名】図 6

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【図 6】

Figure 6



【誤訛訂正 1 0】

【訂正対象書類名】図面

【訂正対象項目名】図 9 B

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【図 9 B】

meas. at 30°

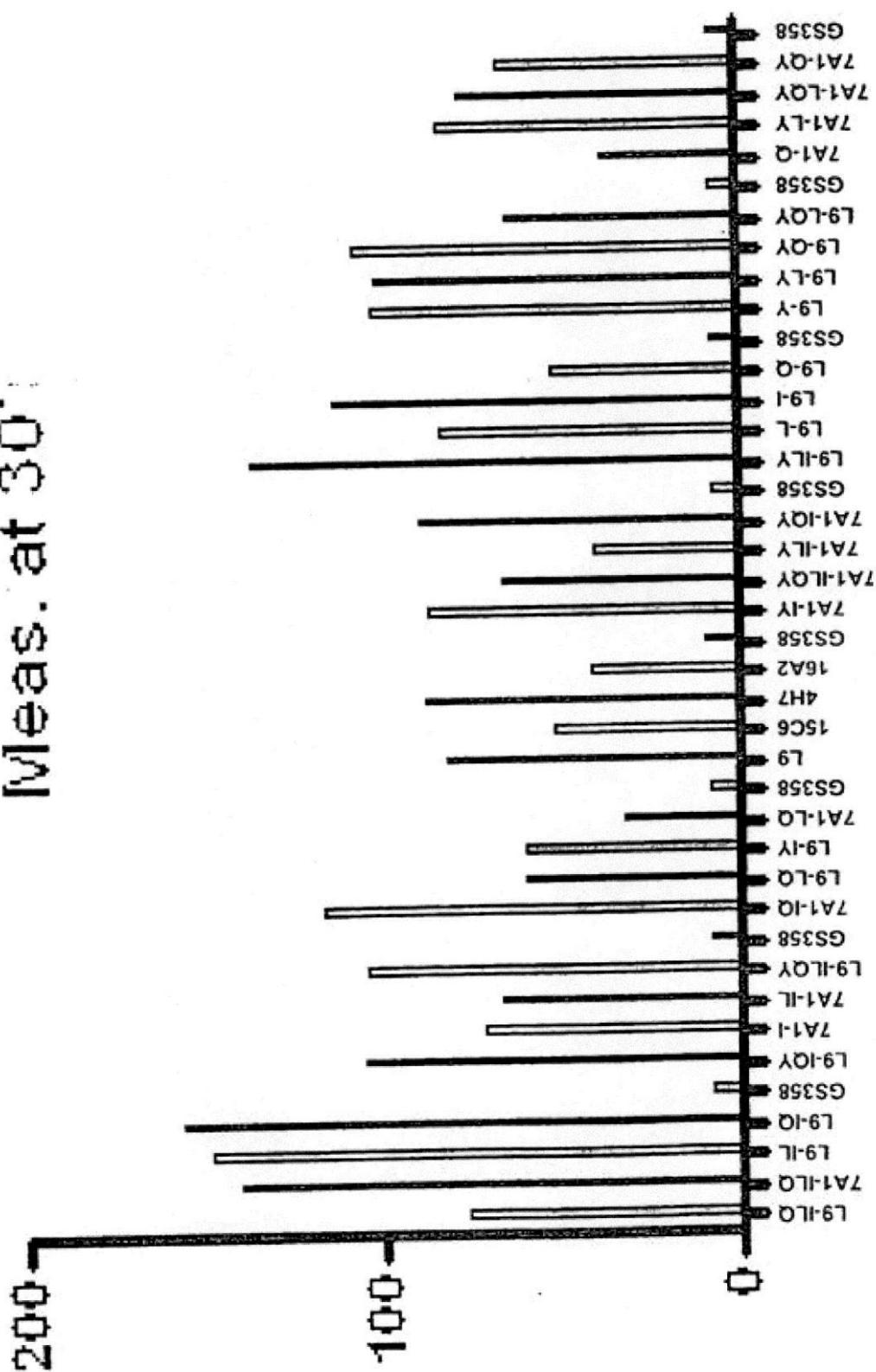


Figure 9B

【誤訛訂正 11】

【訂正対象書類名】図面

【訂正対象項目名】図 9 C

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【図 9 C】

levels. at 30°

125

100

75

50

25

0

C

【誤訳訂正 1 2】

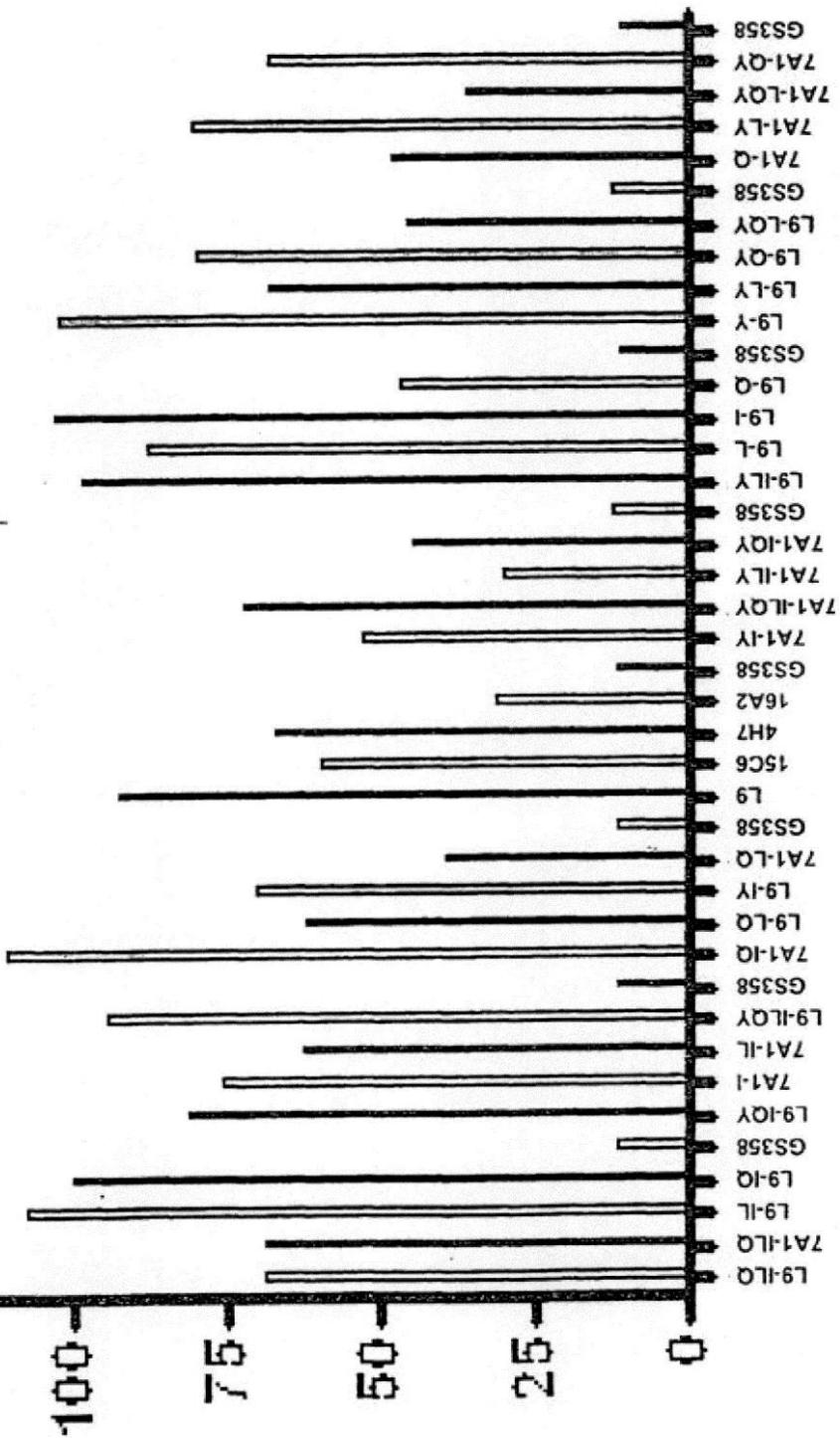
【訂正対象書類名】図面

【訂正対象項目名】図 10 B

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

Figure 9C



【図 10 B】

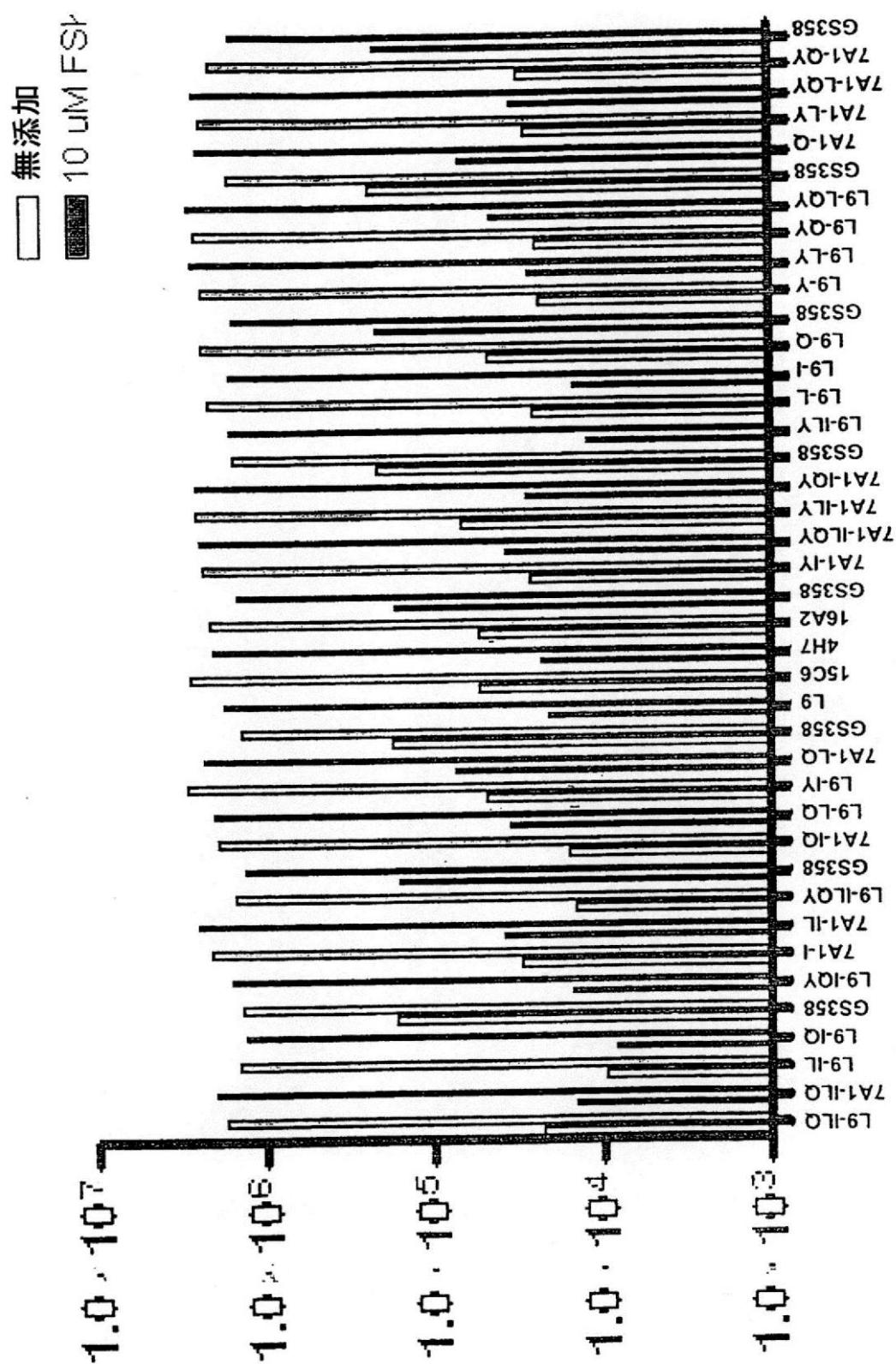


Figure 10B

【誤訛訂正 13】

【訂正対象書類名】図面

【訂正対象項目名】図 10 C

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【図 10 C】

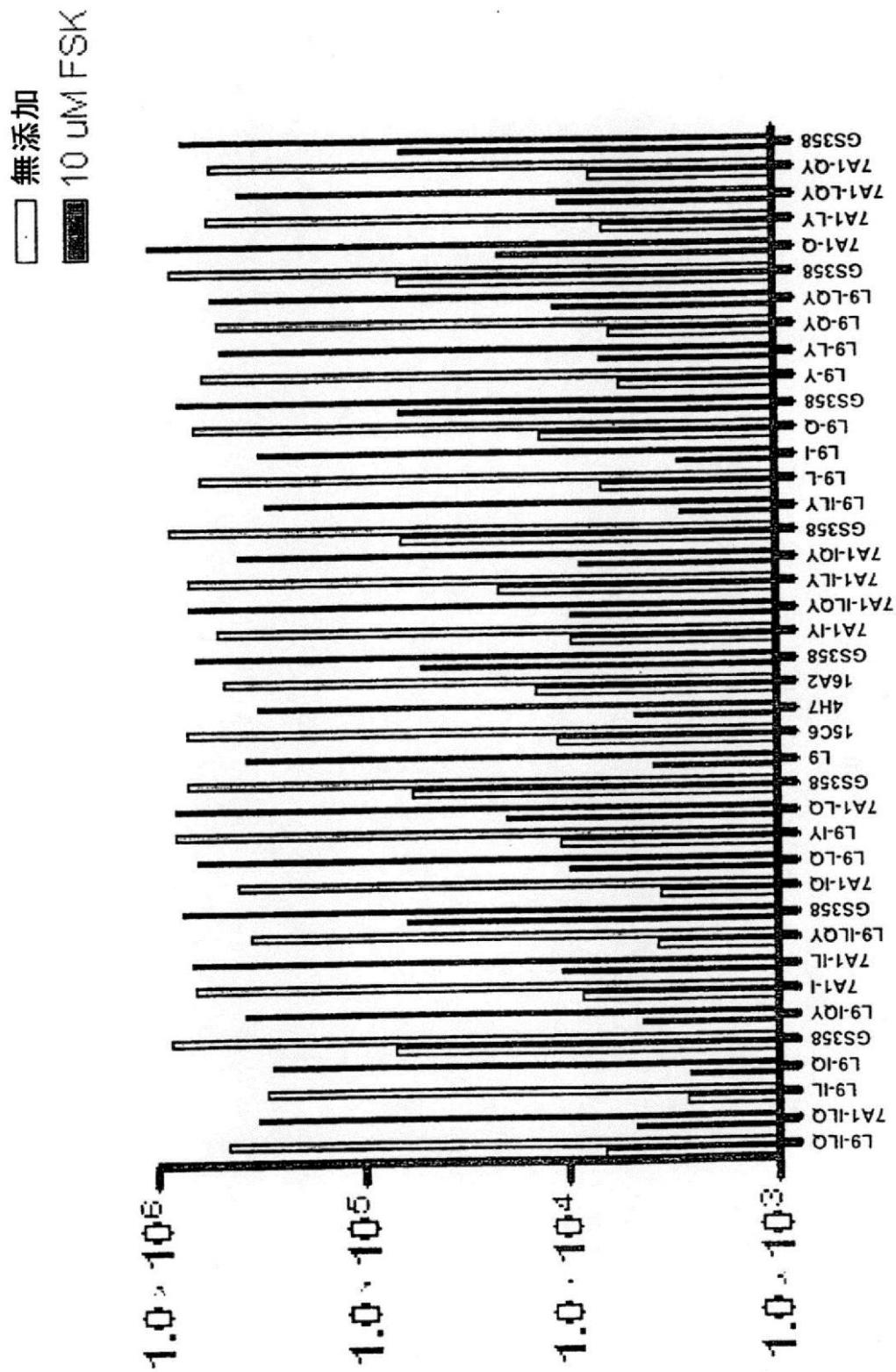


Figure 10C