

【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26年12月18日 (2014.12.18)

【公表番号】特表2014-500716(P2014-500716A)

【公表日】平成26年1月16日 (2014.1.16)

【年通号数】公開・登録公報2014-002

【出願番号】特願2013-537851(P2013-537851)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 1 2 N 5/0793 (2010.01)

G 0 1 N 33/50 (2006.01)

G 0 1 N 33/15 (2006.01)

G 0 1 N 33/58 (2006.01)

C 1 2 Q 1/02 (2006.01)

C 0 7 K 4/10 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 1 2 N 5/00 1 0 2

C 1 2 N 5/00 2 0 2 S

G 0 1 N 33/50 Z

G 0 1 N 33/15 Z

G 0 1 N 33/58 Z

C 1 2 Q 1/02

C 0 7 K 4/10

【手続補正書】

【提出日】平成26年10月31日 (2014.10.31)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

配列番号 1 に記載のアミノ酸配列に対して 90 % を超えるアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む光応答性キメラポリペプチド。

【請求項 2】

C 末端輸送シグナルをさらに含む、請求項 1 に記載のキメラポリペプチド。

【請求項 3】

輸送シグナルがアミノ酸配列 K S R I T S E G E Y I P L D Q I D I N V (配列番号 1 5) を含む、請求項 2 に記載のキメラポリペプチド。

【請求項 4】

配列番号 1 に記載のアミノ酸配列に対して 95 % を超えるアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 1 ～ 3 のいずれか一項に記載のキメラポリペプチド。

【請求項 5】

配列番号 1、3、5、または 7 に記載のアミノ酸配列を含む、請求項 4 に記載のキメラポリペプチド。

【請求項 6】

請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む単離ポリヌクレオチド。

【請求項 7】

ヌクレオチド配列が C a M K I I プロモータに作動可能に連結されている、請求項 6 記載の単離ポリヌクレオチド。

【請求項 8】

発現ベクターである、請求項 6 記載のポリヌクレオチド。

【請求項 9】

発現ベクターがウイルスベクターである、請求項 8 に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 10】

ウイルスベクターがレンチウイルスベクターである、請求項 9 に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 11】

請求項 6 ~ 10 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチドを含む細胞培養培地中に単離された動物細胞であって、光応答性キメラポリペプチドが細胞膜に存在する、動物細胞。

【請求項 12】

細胞膜に存在する第 2 の光活性化ポリペプチドをさらに含む、請求項 11 記載の動物細胞。

【請求項 13】

請求項 6 ~ 10 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチドを含む非ヒト動物。

【請求項 14】

前記ポリヌクレオチドが非ヒト動物の前頭前皮質の興奮性ニューロンに発現される、請求項 13 に記載の非ヒト動物。

【請求項 15】

請求項 13 又は 14 に記載の非ヒト動物の脳組織切片。

【請求項 16】

光活性化タンパク質を光で活性化することを含む、請求項 11 又は 12 に記載の細胞を使用する方法。

【請求項 17】

同じ微小回路内に存在する興奮性または抑制性ニューロンを選択的に脱分極化する方法であって、第 1 の光活性化タンパク質を含む興奮性ニューロンを選択的に脱分極化することであって、前記第 1 の光活性化タンパク質は、第 1 の波長を有する光に暴露されたときに脱分極化される、脱分極化と、または第 2 の光活性化タンパク質を含む抑制性ニューロンを選択的に脱分極化することであって、前記第 2 の光活性化タンパク質は、第 2 の波長を有する光に暴露されたときに脱分極化される、脱分極化と、を含み、前記第 1 または前記第 2 の光活性化タンパク質は、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドである、方法。

【請求項 18】

同じ微小回路内に存在する興奮性または抑制性ニューロンを選択的に脱分極化する方法であって、興奮性ニューロンに第 1 の光活性化タンパク質を発現することと、抑制性ニューロンに第 2 の光活性化タンパク質を発現することと、を含み、前記第 1 の光活性化タンパク質は、独立して、第 1 の波長を有する光に暴露されたときに脱分極化され、前記第 2 の光活性化タンパク質は、独立して、第 2 の波長を有する光に暴露されたときに脱分極化され、前記第 1 または前記第 2 の光活性化タンパク質は、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドである、方法。

【請求項 19】

同じ微小回路内に存在する興奮性または抑制性ニューロンの脱分極化を選択的に阻害する化合物を識別するための方法であって、

(a) 第 1 の波長を有する光で第 1 の光活性化タンパク質を含む興奮性ニューロンを選択的に脱分極化するか、または第 2 の波長を有する光で第 2 の光活性化タンパク質を含む抑

制性ニューロンを選択的に脱分極化することであって、前記第 1 または前記第 2 の光活性化タンパク質が請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載のキメラポリペプチドである、脱分極化することと、

(b) 第 1 の光活性化タンパク質を含む前記興奮性ニューロンを選択的に脱分極化することに応答して、興奮性シナプス後電位 (EPSP) を測定するか、または第 2 の光活性化タンパク質を含む抑制性ニューロンを選択的に脱分極化することに応答して、抑制性シナプス後電流 (IPSC) を測定することと、

(c) 前記興奮性ニューロンまたは前記抑制性ニューロンを化合物と接触させることと、

(d) 前記興奮性ニューロンまたは前記抑制性ニューロンのいずれかを前記化合物と接触させることが、いずれかのニューロンの前記脱分極化を選択的に阻害するかどうかを判定するために、前記興奮性シナプス後電位 (EPSP) を測定するか、または前記抑制性シナプス後電流 (IPSC) を測定することと、を含む、方法。

【請求項 20】

前記化合物が心臓活動電位に悪影響を及ぼすかどうかを判定するために、心臓組織で前記化合物をアッセイすることをさらに含む、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 21】

前記第 1 の光活性化タンパク質は、配列番号 1、3、5、または 7 で示される配列と少なくとも 95 % 同一であるアミノ酸配列を含み、前記第 2 の光活性化タンパク質は、配列番号 11、12、13、または 14 で示される配列と少なくとも 95 % 同一であるアミノ酸配列を含む、請求項 17 ~ 20 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 22】

前記抑制性および興奮性ニューロンが、生きている非ヒト動物中、又は、非ヒト動物からの生体脳切片中に存在する、請求項 17 ~ 20 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 23】

ニューロンを脱分極化する方法に使用するための、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の光応答性キメラポリペプチド又は請求項 6 ~ 10 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 24】

ニューロンが海馬ニューロンである、請求項 23 記載の光応答性キメラポリペプチド又はポリヌクレオチド。