

【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 18 年 6 月 1 日 (2006.6.1)

【公表番号】 特表 2006-512090 (P2006-512090A)
 【公表日】 平成 18 年 4 月 13 日 (2006.4.13)
 【年通号数】 公開・登録公報 2006-015
 【出願番号】 特願 2005-507928 (P2005-507928)
 【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)
C 0 7 K 14/705 (2006.01)
C 0 7 K 16/28 (2006.01)
C 1 2 N 1/15 (2006.01)
C 1 2 N 1/19 (2006.01)
C 1 2 N 1/21 (2006.01)
C 1 2 N 5/10 (2006.01)
C 1 2 Q 1/02 (2006.01)
A 6 1 K 45/00 (2006.01)
A 6 1 K 38/00 (2006.01)
A 6 1 K 31/7032 (2006.01)
A 6 1 K 39/395 (2006.01)
A 6 1 P 39/02 (2006.01)
G 0 1 N 33/569 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00	Z N A A
C 0 7 K 14/705	
C 0 7 K 16/28	
C 1 2 N 1/15	
C 1 2 N 1/19	
C 1 2 N 1/21	
C 1 2 N 5/00	A
C 1 2 Q 1/02	
A 6 1 K 45/00	
A 6 1 K 37/02	
A 6 1 K 31/7032	
A 6 1 K 39/395	D
A 6 1 K 39/395	N
A 6 1 P 39/02	
G 0 1 N 33/569	F

【手続補正書】

【提出日】 平成 18 年 3 月 24 日 (2006.3.24)

【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】

完全長のシナプトタグミン I をコードするポリヌクレオチドを含む核酸を除くことを条

件として、以下から成る群から選択されるポリヌクレオチドを含む単離核酸：

(1) 配列番号:2のアミノ酸32-52及び配列番号:5のアミノ酸33-53から成る群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも70%同一であるアミノ酸配列をコードする第一のポリヌクレオチド；

(2) 第一のポリヌクレオチドの全長にわたって前記第一のポリヌクレオチドと少なくとも80%同一である第二のポリヌクレオチド；

(3) ストリンジェントまたは中等度にストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で前記第一のポリヌクレオチドとハイブリダイズする第三のポリヌクレオチド；
および

(4) 前記第一、第二または第三のポリヌクレオチドと相補的である第四のポリヌクレオチド。

【請求項2】

前記核酸が、第一のポリヌクレオチドまたは第一のポリヌクレオチドの相補鎖を含み、前記第一のポリヌクレオチドが、配列番号:2のアミノ酸32-52及び配列番号:5のアミノ酸33-53から成る群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも80%同一であるアミノ酸配列をコードする、請求項1に記載の単離核酸。

【請求項3】

前記核酸が、第一のポリヌクレオチドまたは第一のポリヌクレオチドの相補鎖を含み、前記第一のポリヌクレオチドが、配列番号:2のアミノ酸32-52及び配列番号:5のアミノ酸33-53から成る群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも90%同一であるアミノ酸配列をコードする、請求項1に記載の単離核酸。

【請求項4】

前記核酸が、第一のポリヌクレオチドまたは第一のポリヌクレオチドの相補鎖を含み、前記第一のポリヌクレオチドが、配列番号:2のアミノ酸32-52及び配列番号:5のアミノ酸33-53から成る群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも95%同一であるアミノ酸配列をコードする、請求項1に記載の単離核酸。

【請求項5】

前記核酸が、第一のポリヌクレオチドまたは第一のポリヌクレオチドの相補鎖を含み、前記第一のポリヌクレオチドが、配列番号:2のアミノ酸32-52及び配列番号:5のアミノ酸33-53から成る群から選択されるアミノ酸配列をコードする、請求項1に記載の単離核酸。

【請求項6】

以下から成る群から選択されるポリヌクレオチドからなる単離核酸：

(1) Syt IIタンパク質のルミナールドメイン及びBoNT/B結合ドメインを含む該ルミナールドメインのフラグメント（BoNT/B結合ドメインは、配列番号:7のアミノ酸40-60、配列番号:9のアミノ酸40-60、および配列番号:10のアミノ酸37-57から成る群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも70%同一である）からなる群より選ばれるポリペプチドをコードする第一のポリヌクレオチド；

(2) 第一のポリヌクレオチドの全長にわたって前記第一のポリヌクレオチドと少なくとも80%同一である第二のポリヌクレオチド；

(3) ストリンジェントまたは中等度にストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で前記第一のポリヌクレオチドとハイブリダイズする第三のポリヌクレオチド；
および

(4) 前記第一、第二または第三のポリヌクレオチドと相補的である第四のポリヌクレオチド。

【請求項7】

本来のものではないプロモータに機能的に連結された請求項1又は6に記載のポリヌクレオチドを含むベクター。

【請求項8】

本来のものではないプロモータに機能的に連結された請求項1又は6に記載のポリヌ

レオチドを含む宿主細胞。

【請求項 9】

完全長のシナプトタグミン I を含むポリペプチドを除くことを条件として、配列番号:2 のアミノ酸 32-52 及び配列番号:5 のアミノ酸 33-53 から成る群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 70% 同一であるアミノ酸配列を含む単離ポリペプチド。

【請求項 10】

前記ポリペプチドが、配列番号:2 のアミノ酸 32-52 及び配列番号:5 のアミノ酸 33-53 から成る群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 80% 同一であるアミノ酸配列を含む、請求項 9 に記載の単離ポリペプチド。

【請求項 11】

前記ポリペプチドが、配列番号:2 のアミノ酸 32-52 及び配列番号:5 のアミノ酸 33-53 から成る群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 90% 同一であるアミノ酸配列を含む、請求項 9 に記載の単離ポリペプチド。

【請求項 12】

前記ポリペプチドが、配列番号:2 のアミノ酸 32-52 及び配列番号:5 のアミノ酸 33-53 から成る群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 95% 同一であるアミノ酸配列を含む、請求項 9 に記載の単離ポリペプチド。

【請求項 13】

前記ポリペプチドが、配列番号:2 のアミノ酸 32-52 及び配列番号:5 のアミノ酸 33-53 から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 9 に記載の単離ポリペプチド。

【請求項 14】

Syt II タンパク質のルミナールドメイン及び BoNT/B 結合ドメインを含む該ルミナールドメインのフラグメント（BoNT/B 結合ドメインは、配列番号:7 のアミノ酸 40-60、配列番号:9 のアミノ酸 40-60、および配列番号:10 のアミノ酸 37-57 から成る群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 70% 同一である）からなる群より選ばれるメンバーからなる単離ポリペプチド。

【請求項 15】

配列番号:2 のアミノ酸 32-52、配列番号:5 のアミノ酸 33-53、配列番号:7 のアミノ酸 40-60、配列番号:9 のアミノ酸 40-60、および配列番号:10 のアミノ酸 37-57 から成る群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 70% 同一であるアミノ酸配列と特異的に結合する抗体。

【請求項 16】

ヒトまたはヒト以外の対象動物で BoNT/B の毒性を緩和するための医薬組成物であって、BoNT/B と、配列番号:2 のアミノ酸 32-52、配列番号:5 のアミノ酸 33-53、配列番号:7 のアミノ酸 40-60、配列番号:9 のアミノ酸 40-60、および配列番号:10 のアミノ酸 37-57 から成る群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 70% 同一であるアミノ酸配列との間の結合を低下させる作用物質を含む、前記組成物。

【請求項 17】

前記対象動物がヒトである請求項 16 に記載の組成物。

【請求項 18】

前記作用物質が、配列番号:2 のアミノ酸 32-52、配列番号:5 のアミノ酸 33-53、配列番号:7 のアミノ酸 40-60、配列番号:9 のアミノ酸 40-60、および配列番号:10 のアミノ酸 37-57 から成る群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 70% 同一であるアミノ酸配列と BoNT/B との結合について競合することができる、請求項 16 に記載の組成物。

【請求項 19】

前記作用物質が、配列番号:2 のアミノ酸 32-79、配列番号:4 のアミノ酸 32-79、配列番号:5 のアミノ酸 33-80、配列番号:7 のアミノ酸 40-60、配列番号:9 のアミノ酸 40-60、および配列番号:10 のアミノ酸 37-57 から成る群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 70% 同一であるアミノ酸配列を含むポリペプチドである、請求項 18 に記載の組成物。

【請求項 20】

前記ポリペプチドが、配列番号:7のアミノ酸1-61、配列番号:7のアミノ酸1-87、配列番号:7のアミノ酸40-87、配列番号:7のアミノ酸40-267、配列番号:7のアミノ酸1-267、配列番号:7のアミノ酸1-422、配列番号:9のアミノ酸1-61、配列番号:9のアミノ酸1-87、配列番号:9のアミノ酸40-87、配列番号:9のアミノ酸40-267、配列番号:9のアミノ酸1-267、配列番号:9のアミノ酸1-422、配列番号:10のアミノ酸1-57、配列番号:10のアミノ酸1-84、配列番号:10のアミノ酸37-84、配列番号:10のアミノ酸37-264、配列番号:10のアミノ酸1-264、および配列番号:10のアミノ酸1-419から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項19に記載の組成物。

【請求項 2 1】

前記作用物質がさらにガングリオシドを含む、請求項19に記載の組成物。

【請求項 2 2】

前記ポリペプチドが、配列番号:7のアミノ酸40-87、配列番号:7のアミノ酸1-87、配列番号:7のアミノ酸40-267、配列番号:7のアミノ酸1-267、アミノ酸40-87、配列番号:9のアミノ酸1-87、配列番号:9のアミノ酸40-267、配列番号:9のアミノ酸1-267、配列番号:10のアミノ酸37-84、配列番号:10のアミノ酸1-84、配列番号:10のアミノ酸40-264、および配列番号:10のアミノ酸1-264から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項18に記載の組成物。

【請求項 2 3】

前記作用物質が、配列番号:2のアミノ酸32-52、配列番号:5のアミノ酸33-53、配列番号:7のアミノ酸40-60、配列番号:9のアミノ酸40-60、および配列番号:10のアミノ酸37-57から成る群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも70%同一であるアミノ酸配列との結合についてBoNT/Bと競合することができる、請求項16に記載の組成物。

【請求項 2 4】

前記作用物質が、配列番号:2のアミノ酸32-52、配列番号:5のアミノ酸33-53、配列番号:7のアミノ酸40-60、配列番号:9のアミノ酸40-60、および配列番号:10のアミノ酸37-57から成る群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも70%同一であるアミノ酸配列に特異的な抗体である、請求項23に記載の組成物。

【請求項 2 5】

前記作用物質が、シナプトタグミンIおよびIIの少なくとも1つの発現を対象動物で低下させることができる、請求項16に記載の組成物。

【請求項 2 6】

前記作用物質が、ガングリオシドと、配列番号:2のアミノ酸53-79、配列番号:4のアミノ酸53-79、配列番号:5のアミノ酸54-80、配列番号:7のアミノ酸61-87、配列番号:9のアミノ酸61-87、配列番号:10のアミノ酸58-84から成る群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも70%同一であるアミノ酸配列との間の結合を低下させることができる、請求項16に記載の組成物。

【請求項 2 7】

前記作用物質が、シナプトタグミンIおよびIIの少なくとも1つのガングリオシドドメインとの結合に利用できるガングリオシドの量を対象動物で低下させることができる、請求項26に記載の組成物。

【請求項 2 8】

前記作用物質が、配列番号:2のアミノ酸53-79、配列番号:4のアミノ酸53-79、配列番号:5のアミノ酸54-80、配列番号:7のアミノ酸61-87、配列番号:9のアミノ酸61-87、配列番号:10のアミノ酸58-84から成る群から選択されるアミノ酸配列から成る群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも70%同一であるアミノ酸配列との結合についてガングリオシドと競合することができる、請求項26に記載の組成物。

【請求項 2 9】

前記作用物質が、配列番号:2のアミノ酸53-79、配列番号:4のアミノ酸53-79、配列番号:5のアミノ酸54-80、配列番号:7のアミノ酸61-87、配列番号:9のアミノ酸61-87、配列番号:10のアミノ酸58-84から成る群から選択されるアミノ酸配列から成る群から選択

されるアミノ酸配列と少なくとも70%同一であるアミノ酸配列に特異的な抗体である、請求項28に記載の組成物。

【請求項30】

前記作用物質がドミナントネガティブシナプトタグミンIまたはIIである請求項16に記載の組成物。

【請求項31】

以下の工程を含む、BoNT/BとシナプトタグミンIまたはIIとの間の結合を阻止することができる作用物質を特定する方法：

テスト作用物質の存在下でBoNT/Bとポリペプチドとの間の結合を測定し、前記工程において、前記ポリペプチドは、完全長のシナプトタグミンIまたはIIを含むポリペプチドを除くことを条件として、配列番号:2のアミノ酸32-79、配列番号:4のアミノ酸32-79、配列番号:5のアミノ酸33-80、配列番号:7のアミノ酸40-60、配列番号:9のアミノ酸40-60、および配列番号:10のアミノ酸37-57から成る群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも70%同一であるアミノ酸配列を含み；さらに

前記結合を、テスト作用物質が存在しないことを除いて同じ条件下で測定されたコントロールの結合と比較し、コントロールより低い結合は、前記作用物質はBoNT/BとシナプトタグミンIまたはIIとの間の結合を阻止することができることを示す。

【請求項32】

前記ポリペプチドが、配列番号:2のアミノ酸32-79、配列番号:4のアミノ酸32-79、配列番号:5のアミノ酸33-80、配列番号:7のアミノ酸40-60、配列番号:9のアミノ酸40-60、および配列番号:10のアミノ酸37-57から成る群から選択されるアミノ酸配列から成る、請求項31に記載の方法。

【請求項33】

3つの全ての工程がin vitroで実施される、請求項31に記載の方法。

【請求項34】

前記ポリペプチドが細胞表面で提供され、前記細胞がテスト作用物質に暴露される、請求項31に記載の方法。

【請求項35】

BoNT/Bと前記ポリペプチドとの間の結合がBoNT/Bの細胞内侵入をモニターすることによって間接的に測定される、請求項34に記載の方法。

【請求項36】

以下の工程を含む、シナプトタグミンIまたはIIのBoNT/B結合ドメインと結合することができる作用物質を特定する方法：

テスト作用物質にポリペプチドを暴露し、前記工程において、前記ポリペプチドは、完全長のシナプトタグミンIまたはIIを含むポリペプチドを除くことを条件として、配列番号:2のアミノ酸32-52、配列番号:5のアミノ酸33-53、配列番号:7のアミノ酸40-60、配列番号:9のアミノ酸40-60、および配列番号:10のアミノ酸37-57から成る群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも70%同一であるアミノ酸配列を含み；さらに

前記作用物質が前記ポリペプチドと結合するか否かを決定する。

【請求項37】

前記ポリペプチドが、配列番号:2のアミノ酸32-52、配列番号:5のアミノ酸33-53、配列番号:7のアミノ酸40-60、配列番号:9のアミノ酸40-60、および配列番号:10のアミノ酸37-57から成る群から選択されるアミノ酸配列から成る、請求項36に記載の方法。

【請求項38】

3つの全ての工程がin vitroで実施される、請求項36に記載の方法。

【請求項39】

前記ポリペプチドが提供され、細胞内のテスト作用物質に暴露される、請求項36に記載の方法。

【請求項40】

以下の工程を含む、BoNT/Bまたはクロストリジウム・ボツリナムを検出する方法：

BoNT/Bを含むと思われるサンプルをポリペプチドに暴露し、前記工程において、前記ポリペプチドは、完全長のシナプトタグミンを含むポリペプチドを除くことを条件として、配列番号:2のアミノ酸32-79、配列番号:4のアミノ酸32-79及び配列番号:5のアミノ酸33-80から成る群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも70%同一であるアミノ酸配列を含み；

前記サンプルをガングリオシドに暴露し；さらに

前記ポリペプチドのBoNT/Bとの結合を検出する。

【請求項41】

以下の工程を含む、BoNT/Bまたはクロストリジウム・ボツリナムを検出する方法：

BoNT/Bを含むと思われるサンプルをポリペプチドに暴露し、前記工程において、前記ポリペプチドは、完全長のシナプトタグミンを含むポリペプチドを除くことを条件として、配列番号:7のアミノ酸40-60、配列番号:9のアミノ酸40-60、および配列番号:10のアミノ酸37-57から成る群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも70%同一であるアミノ酸配列を含み；さらに

前記ポリペプチドのBoNT/Bとの結合を検出する。

【請求項42】

前記暴露工程の後かつ前記検出工程の前に、前記サンプルをガングリオシドに暴露する工程をさらに含む、請求項41に記載の方法。

【請求項43】

リガンドとポリペプチドとの複合体であって、

前記ポリペプチドが、前記リガンドが結合するメンバーを含み、

前記メンバーは、以下(1)～(6)：

(1) マウスシナプトタグミンIのアミノ酸32-52にある、マウスシナプトタグミンIのBoNT/B結合ドメイン；

(2) マウスシナプトタグミンIIのアミノ酸40-60にある、マウスシナプトタグミンIIのBoNT/B結合ドメイン；

(3) マウスシナプトタグミンIホモログのBoNT/B結合ドメイン；

(4) マウスシナプトタグミンIIホモログのBoNT/B結合ドメイン；

(5) マウスシナプトタグミンIのアミノ酸32-52にあるマウスシナプトタグミンIのBoNT/B結合ドメインと少なくとも70%同一であるペプチド；及び

(6) マウスシナプトタグミンIIのアミノ酸40-60にあるマウスシナプトタグミンIIのBoNT/B結合ドメインと少なくとも70%同一であるペプチド

から成る群から選択され、

但し、前記ポリペプチドが完全長のシナプトタグミンであるとき、前記リガンドはボツリヌス毒素ではない、前記複合体。

【請求項44】

前記ポリペプチドが、以下(1)～(4)：

(1) マウスシナプトタグミンIのアミノ酸32-52にある、マウスシナプトタグミンIのBoNT/B結合ドメイン；

(2) マウスシナプトタグミンIIのアミノ酸40-60にある、マウスシナプトタグミンIIのBoNT/B結合ドメイン；

(3) マウスシナプトタグミンIホモログのBoNT/B結合ドメイン；及び

(4) マウスシナプトタグミンIIホモログのBoNT/B結合ドメイン；

から成る群から選択されるメンバーを含む、請求項43に記載の複合体。

【請求項45】

前記リガンドがボツリヌス神経毒Bであり、かつ、前記ポリペプチドが合成又は組換えペプチドである、請求項43に記載の複合体。

【請求項46】

前記ポリペプチドがマウスシナプトタグミンのルミナル部分と同一又は相同な配列を有する、請求項44に記載の複合体。

【請求項 47】

前記ポリペプチドがBoNT/B結合ドメインからなる、請求項44に記載の複合体。

【請求項 48】

前記ポリペプチドが更にアフィニティータグからなる、請求項47に記載の複合体。

【請求項 49】

前記リガンドが、BoNT/B結合ドメインに結合しかつボツリヌス神経毒Bの前記ペプチドへの結合を減少させる抗体又はボツリヌス毒素フラグメントである、請求項43に記載の複合体。

【請求項 50】

前記ポリペプチドが完全長のシナプトタグミンである、請求項43又は49のいずれかに記載の複合体。

【請求項 51】

前記ポリペプチドがin vivoに位置している、請求項49に記載の複合体。

【請求項 52】

前記ポリペプチドがガングリオシドに対する結合部位を更に含む、請求項43に記載の複合体。

【請求項 53】

前記ポリペプチドが組換えポリペプチドである、請求項43に記載の複合体。

【請求項 54】

前記ポリペプチドが、以下(1)～(2)：

(1) マウスシナプトタグミンIのアミノ酸32-52にあるマウスシナプトタグミンIのBoNT/B結合ドメインと少なくとも80%同一であるペプチド；及び

(2) マウスシナプトタグミンIIのアミノ酸40-60にあるマウスシナプトタグミンIIのBoNT/B結合ドメインと少なくとも80%同一であるペプチド
から成る群から選択されるメンバーを含む、請求項43に記載の複合体。