

【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1月5日(2006.1.5)

【公表番号】特表2005-507246(P2005-507246A)

【公表日】平成17年3月17日(2005.3.17)

【年通号数】公開・登録公報2005-011

【出願番号】特願2003-523490(P2003-523490)

【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 0 7 K 19/00 (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 P 21/02 (2006.01)

C 1 2 P 21/08 (2006.01)

G 0 1 N 33/15 (2006.01)

G 0 1 N 33/50 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 A

C 0 7 K 14/705 Z N A

C 0 7 K 16/28

C 0 7 K 19/00

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 P 21/02 C

C 1 2 P 21/08

G 0 1 N 33/15 Z

G 0 1 N 33/50 Z

C 1 2 N 5/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成17年6月16日(2005.6.16)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0025

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0025】

本明細書において「示差的発現遺伝子」とは、本明細書で開示される(例えば、配列番号1または配列番号24で示される)DNA配列の少なくとも1つを含む遺伝子；(b)本明細書で開示される(例えば、配列番号2または配列番号25で示される)DNA配列によりコードされるアミノ酸配列をコードするいずれかのDNA配列；または(c)本明細書で開示されるコード配列と実質的に同じいずれかのDNA配列をさす。例えば、本発明は多くの異なる種のNgRH2遺伝子およびそれらのコードするタンパク質を提供する。特定の実施形態では、これらNgRH2遺伝子およびタンパク質は脊椎動物、より詳しくは哺乳類由来のものである。本発明の

好ましい実施形態では、NgRH2遺伝子およびタンパク質はヒト由来ものである。その最も広い意味において「実質的に同じ」とは、本明細書でヌクレオチド配列に関しては、参照ヌクレオチド配列に相当するヌクレオチド配列を意味し、相当する配列とは参照ヌクレオチド配列によりコードされるポリペプチドと実質的に同じ構造および機能を有するポリペプチドをコードし、例えばそれらは全長(野生型)NgRH2タンパク質に関連する1以上の既知の機能的活性(例えば、脊髄または脳におけるニューロンの再生の阻害、基質に対する増殖制限特性の付与、神経細胞および腫瘍細胞の拡散および移動、背根神経節神経突起の発芽後成長の阻害、背根神経節成長円錐崩壊の誘導、in vitroにおけるNIH 3T3細胞の拡散遮断、PC12神経突起発芽後成長の遮断、柔軟性の制限)を示しうる。望ましくはこの実質的に同じヌクレオチド配列は、参照ヌクレオチド配列によりコードされるポリペプチドをコードする。実質的に同じヌクレオチド配列と参照ヌクレオチド配列の間の同一性%は望ましくは少なくとも80%、より望ましくは少なくとも85%、好ましくは少なくとも90%、より好ましくは少なくとも95、96、97、98%、いっそう好ましくは少なくとも99%である。配列比較はSmith-Waterman配列アライメントアルゴリズムを用いて行う(例えば、Waterman, M.S. Introduction to Computational Biology: Maps, sequences and genomes. Chapman & Hall. London: 1995. ISBN 0-412-99391-0参照)。参照ヌクレオチド配列と「実質的に同じ」ヌクレオチド配列は、50、7%ドデシル硫酸ナトリウム(SDS)、0.5M NaPO₄、1mM EDTA中で(50、2X SSC、0.1% SDSで洗浄)、より望ましくは50、7%ドデシル硫酸ナトリウム(SDS)、0.5M NaPO₄、1mM EDTA中で(50、1X SSC、0.1% SDSで洗浄)、いっそう望ましくは50、7%ドデシル硫酸ナトリウム(SDS)、0.5M NaPO₄、1mM EDTA中で(50、0.5X SSC、0.1% SDSで洗浄)、好ましくは50、7%ドデシル硫酸ナトリウム(SDS)、0.5M NaPO₄、1mM EDTA中で(50、0.1X SSC、0.1% SDSで洗浄)、より好ましくは50、7%ドデシル硫酸ナトリウム(SDS)、0.5M NaPO₄、1mM EDTA中で(65、0.1X SSC、0.1% SDSで洗浄)参照ヌクレオチド配列とハイブリダイズし、やはり機能的に同等な遺伝子産物をコードする。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0032

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0032】

2以上の配列の同一性および類似性を比較する方法は当技術分野で周知のものである。よって例えば、Wisconsin配列解析パッケージ、バージョン9.1 (Devereux J et al, Nucleic Acids Res, 12, 387-395, 1984, Genetics Computer Group, Madison, Wisconsin, USAから入手可能)で利用できるプログラム、例えばBESTFITおよびGAPプログラムを用いて2つのポリヌクレオチド間の同一性%、ならびに2つのポリペプチド配列間の同一性%および類似性%を求めることができる。BESTFITではSmith and Waterman (J Mol Biol, 147, 195-197, 1981, Advances in Applied Mathematics, 2, 482-489, 1981)の「ローカルホモロジー」アルゴリズムを用い、2つの配列間で最も類似性の高い1つの領域を見つけ出す。BESTFITは長さの異なる2つポリヌクレオチドまたは2つのポリペプチド配列の比較に適しており、このプログラムでは短い方の配列が長い方の配列の一部に相当すると仮定する。これに対して、GAPは2つの配列をアラインし、Neddleman and Wunsch (J Mol Biol, 48, 443-453, 1970)のアルゴリズムに従って「最大類似性」を探す。GAPはほぼ同じ長さの配列の比較に適しており、アライメントは全長にわたって予測する。好ましくは、各プログラムで用いるパラメーター「Gap Weight」および「Length Weight」はそれぞれポリヌクレオチド配列については50および3であり、ポリペプチド配列については12および4である。好ましくは、同一性%および類似性は比較する2つの配列が最適にアラインされたときに求められる。配列間の同一性および/または類似性を決定する他のプログラムも当技術分野で公知であり、例えばBLAST系のプログラム(Altschul S F et al, J Mol Biol, 215, 403-410, 1990, Altschul S F et al, Nucleic Acids Res., 25:389-3402, 1997、N

ational Center for Biotechnology Information (NCBI), Bethesda, Maryland, USAから入手可能であり、NCBIホームページ www.ncbi.nlm.nih.govにアクセスできる)およびFAST A (Pearson W R, Methods in Enzymology, 183, 63-99, 1990; Pearson W R and Lipman D J, Proc Nat Acad Sci USA, 85, 2444-2448, 1988、Wisconsin配列解析パッケージの一部として入手可能)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】0074

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0074】

このスクリーニング法では単に、候補化合物とポリペプチドとの、またはそのポリペプチドもしくはその融合タンパク質を含む細胞もしくは膜との結合を、候補化合物と直接または間接的に会合した標識の手段によって測定すればよい。あるいは、このスクリーニング法は標識競合物(例えばアゴニストまたはアンタゴニスト)に対する候補化合物とポリペプチドの競合的結合を測定または検出(定性的または定量的)することを含みうる。さらにこれらのスクリーニング法では、ポリペプチドを含む細胞に適切な検出系を用い、候補化合物がポリペプチドの活性化または阻害によって生成するシグナルを生じるかどうかを試験してもよい。活性化の阻害剤は一般には既知のアゴニストの存在下でアッセイし、候補化合物の存在による、アゴニストによる活性化における作用を観測する。さらに、これらのスクリーニング法は単に、候補化合物と、本発明のポリペプチドを含有する溶液とを混合して混合物とし、その混合物におけるNgRH2結合または活性を測定し、その混合物のNgRH2結合または活性を、候補化合物を含まない対照混合物と比較するステップを含んでもよい。本発明のポリペプチドは従来能力の低いスクリーニング法において用いてもよいし、ハイスループットスクリーニング(HTS)形式で用いてもよい。このようなHTS形式は十分確立されている96ウェル、さらに最近の384ウェルマイクロタイタープレートを含むだけでなく、Schullek et al, Anal Biochem., 246, 20-29, (1997)により記載されているナノウェル法などの新しい方法も含む。

【手続補正4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0109

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0109】

このように発明者らはこのタンパク質の特性決定に関して、最近記載されているNogo-66のレセプターのホモログであると同定したことを記載する。NgRH2は一次構造、生化学的特性および発現パターンの点でNgRとの関連が強い。上記に示した複数の系統の証拠は、NgRおよび新たに同定されたホモログNgRH2が新規なタンパク質ファミリーのメンバーであるという結論を支持するものである。