

【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 12 月 28 日 (2006.12.28)

【公表番号】特表 2002-529075 (P2002-529075A)

【公表日】平成 14 年 9 月 10 日 (2002.9.10)

【出願番号】特願 2000-581169 (P2000-581169)

【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 Q 1/02 (2006.01)

G 0 1 N 33/15 (2006.01)

G 0 1 N 33/50 (2006.01)

G 0 1 N 33/53 (2006.01)

G 0 1 N 33/566 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (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 Q 1/02

G 0 1 N 33/15 Z

G 0 1 N 33/50 Z

G 0 1 N 33/53 D

G 0 1 N 33/566

C 1 2 N 5/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成 18 年 11 月 2 日 (2006.11.2)

【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】

【化 1】

GCTGTCTTTC TTTGGTAACC TCTCTGGATT GTGAATTTAA AATGTGTTTT ACAGTAAATT
 TGCTGCCAAG ACAAGAGGTG AATTTCTCCA GCAATGAATT CCTCGTTTCA CCTGCATTTT
 TTGGATCTCA ACCTGAATGC CACAGAGGGC AACCTTTCAG GACCCAGTGT CAGAAACAAG
 TCTTCGCCCT GTGAAAACAT GGGCATGGCT GTGGAGGTGT TTCTCACTCT GGGTGCCATC
 AGCCTCGTGG AGAACATCTT GGTTATAGGG GCCATAGTGA AGAACAAAAA CCTGCACTGC
 CCCATGTACT TCTTCGTATG CAGCCTGGCG GTGGCCGACA TGCTGGTGAG CATGTCCAAC
 GCCTGGGAGA CCATCACCAT CTACCTGCTC AACAAACAAGC ACCTAGTGAT AGCAGACGCC
 TTTGTGCGCC ACATTGACAA CGTGTTTGAC TCCATGATCT GCATTTCCTG GGTGGCGTCC
 ATGTGCAGCT TGCTGGCCAT TGCGGTGGAT AGGTACGTCA CCGTCTTCTA TGCCCTGCGC
 TACCACCACA TCATGACGGC GAGGCGCTCG GGGGCCATCA TCGCCGGCAT CTGGGCTTTC
 TGCACCGGGT GCGGCATCGT CTTCATCCTG TACTCCGAGT CCACCTACGT CATCCTGTGC
 CTCATCTCCA TGTTCTTCAC GATGCTCTTC CTCCTGGTGT GTCTGTACAT ACACATGTTC
 CTCCTGGCGC GGAATCACGC CAAGCGGATG GCGGCTCTGC CCGGGGCCAG CTCTGCGCGG
 CAGAGGACCA GCGTGCAGGG CGCGGTCACC CTCACCATGC TGCTGGGCGT GTTCATCGTG
 TGCTGGGCCC CGTTCCTCCT GCATCTCATT TTAATGCTTT CTTGCCCTCA GAACCTCTAC
 TGCTCTTGCT TCATGTCTCA CTTCAATATG TACCTCATCC TCATCATGTG TAACTCCGTG
 GTGGACCCTC TCATATATGC CTTCCGCAGC CGGGAGATGC GCAAGACGTT TAAGGAGATT
 ATTTGCTGCC GAGGCTTCCG AATCGCCTGC AGCTGTCCCG GAAGGGATTA AGTACAAAGT

のヌクレオチド配列（配列番号１）を含むアカゲザルのメラノコルチン５受容体タンパク質をコードする精製された核酸分子。

【請求項２】 アカゲザルのメラノコルチン５受容体タンパク質をコードする精製されたDNA分子であって、配列番号２において３文字表記で示されているように、

【化２】

M N S S F H L H F L D L N L N A T E G N L S G P S V R N K S S P C E N
 M G M A V E V F L T L G A I S L V E N I L V I G A I V K N K N L H C P
 M Y F F V C S L A V A D M L V S M S N A W E T I T I Y L L N N K H L V
 I A D A F V R H I D N V F D S M I C I S V V A S M C S L L A I A V D R
 Y V T V F Y A L R Y H H I M T A R R S G A I I A G I W A F C T G C G I
 V F I L Y S E S T Y V I L C L I S M F F T M L F L L V C L Y I H M F L
 L A R T H A K R M A A L P G A S S A R Q R T S V Q G A V T L T M L L G

 V F I V C W A P F F L H L I L M L S C P Q N L Y C S C F M S H F N M Y
 L I L I M C N S V V D P L I Y A F R S R E M R K T F K E I I C C R G F
 R I A C S C P G R D

のアミノ酸配列から実質的になるタンパク質をコードするDNA分子。

【請求項３】 組換え宿主細胞においてアカゲザルのMC-5Rタンパク質を発現させるための発現ベクターであって、請求項２に記載されるアミノ酸配列をコードするDNA分子を含む発現ベクター。

【請求項４】 真核生物の発現ベクターである、請求項３に記載の発現ベクター。

【請求項５】 原核生物の発現ベクターである、請求項３に記載の発現ベクター。

【請求項６】 組換えアカゲザルMC-5Rタンパク質を発現する宿主細胞であって、請求項３に記載される発現ベクターを含む宿主細胞。

【請求項７】 組換えアカゲザルMC-5Rタンパク質を発現する宿主細胞であって、請求項４に記載される発現ベクターを含む宿主細胞。

【請求項 8】 組換えアカゲザル M C - 5 R タンパク質を発現する宿主細胞であって、請求項 5 に記載される発現ベクターを含む宿主細胞。

【請求項 9】 前記アカゲザル M C - 5 R タンパク質が前記発現ベクターから過剰発現される、請求項 6 に記載の宿主細胞。

【請求項 10】 前記アカゲザル M C - 5 R タンパク質が前記発現ベクターから過剰発現される、請求項 7 に記載の宿主細胞。

【請求項 11】 前記アカゲザル M C - 5 R タンパク質が前記発現ベクターから過剰発現される、請求項 8 に記載の宿主細胞。

【請求項 12】 組換えアカゲザル M C - 5 R タンパク質を含み、請求項 9 に記載される宿主細胞から得られる細胞膜画分。

【請求項 13】 組換えアカゲザル M C - 5 R タンパク質を含み、請求項 10 に記載される宿主細胞から得られる細胞膜画分。

【請求項 14】 組換えアカゲザル M C - 5 R タンパク質を含み、請求項 11 に記載される宿主細胞から得られる細胞膜画分。

【請求項 15】

【化 3】

```
GCTGTCCTTC TTTGGTAACC TCTCTGGATT GTGAATTTAA AATGTGTTTT ACAGTAAATT
TGCTGCCAAG ACAAGAGGTG AATTTCTCCA GCAATGAATT CCTCGTTTCA CCTGCATTTT
TTGGATCTCA ACCTGAATGC CACAGAGGGC AACCTTTCAG GACCCAGTGT CAGAAACAAG
TCTTCGCCCT GTGAAAACAT GGGCATGGCT GTGGAGGTGT TTCTCACTCT GGGTGCCATC
AGCCTCGTGG AGAACATCTT GGTTATAGGG GCCATAGTGA AGAACAAAAA CCTGCACTGC
CCCATGTACT TCTTCGTATG CAGCCTGGCG GTGGCCGACA TGCTGGTGAG CATGTCCAAC
GCCTGGGAGA CCATCACCAT CTACCTGCTC AACAACAAGC ACCTAGTGAT AGCAGACGCC
TTTGTGCGCC ACATTGACAA CGTGTGTTGAC TCCATGATCT GCATTTCCGT GGTGGCGTCC
ATGTGCAGCT TGCTGGCCAT TCGGGTGGAT AGGTACGTCA CCGTCTTCTA TGCCCTGCGC
TACCACCACA TCATGACGGC GAGGCGCTCG GGGGCCATCA TCGCCGGCAT CTGGGCTTTC
TGCACCGGGT GCGGCATCGT CTTTCATCCTG TACTCCGAGT CCACCTACGT CATCCTGTGC
CTCATCTCCA TGTTCTTCAC GATGCTCTTC CTCCTGGTGT GTCTGTACAT ACACATGTTC
CTCCTGGCGC GGAATCACGC CAAGCGGATG GCGGCTCTGC CCGGGGCCAG CTCTGCGCGG
CAGAGGACCA GCGTGCAGGG CGCGGTCACC CTCACCATGC TGCTGGGCGT GTTCATCGTG
TGCTGGGCCC CGTTCTTCCT GCATCTCATT TTAATGCTTT CTTGCCCTCA GAACCTCTAC
TGCTCTTGCT TCATGTCTCA CTTCAATATG TACCTCATCC TCATCATGTG TAACTCCGTG
GTGGACCCTC TCATATATGC CTTCCGCAGC CGGGAGATGC GCAAGACGTT TAAGGAGATT
ATTTGCTGCC GAGGCTTCCG AATCGCCTGC AGCTGTCCCG GAAGGGATTA AGTACAAAGT
```

のヌクレオチド配列（配列番号 1）からなる精製された DNA 分子。

【請求項 16】 配列番号 2 において 3 文字表記で示されているように、

【化 4】

```
M N S S F H L H F L D L N L N A T E G N L S G P S V R N K S S P C E N
M G M A V E V F L T L G A I S L V E N I L V I G A I V K N K N L H C P
M Y F F V C S L A V A D M L V S M S N A W E T I T I Y L L N N K H L V
```

I A D A F V R H I D N V F D S M I C I S V V A S M C S L L A I A V D R
Y V T V F Y A L R Y H H I M T A R R S G A I I A G I W A F C T G C G I
V F I L Y S E S T Y V I L C L I S M F F T M L F L L V C L Y I H M F L
L A R T H A K R M A A L P G A S S A R Q R T S V Q G A V T L T M L L G
V F I V C W A P F F L H L I L M L S C P Q N L Y C S C F M S H F N M Y
L I L I M C N S V V D P L I Y A F R S R E M R K T F K E I I C C R G F
R I A C S C P G R D

のアミノ酸配列からなるアカゲザルのメラノコルチン 5 受容体タンパク質をコードする精製された核酸分子。

【請求項 17】 配列番号 1 のヌクレオチド 94 ~ ヌクレオチド 1068 のヌクレオチド配列からなる、請求項 15 に記載の精製された DNA 分子。

【請求項 18】 組換え宿主細胞においてアカゲザルの MC - 5 R タンパク質を発現させるための発現ベクターであって、請求項 17 に記載される DNA 分子を含む発現ベクター。

【請求項 19】 真核生物の発現ベクターである、請求項 18 に記載の発現ベクター。

【請求項 20】 原核生物の発現ベクターである、請求項 18 に記載の発現ベクター。

【請求項 21】 組換えアカゲザル MC - 5 R タンパク質を発現する宿主細胞であって、請求項 19 に記載される発現ベクターを含む宿主細胞。

【請求項 22】 組換えアカゲザル MC - 5 R タンパク質を発現する宿主細胞であって、請求項 20 に記載される発現ベクターを含む宿主細胞。

【請求項 23】 組換えアカゲザル MC - 5 R タンパク質を発現する宿主細胞であって、請求項 21 に記載される発現ベクターを含む宿主細胞。

【請求項 24】 組換えアカゲザル MC - 5 R タンパク質を含み、請求項 22 に記載される宿主細胞から得られる細胞膜画分。

【請求項 25】 組換えアカゲザル MC - 5 R タンパク質を含み、請求項 23 に記載される宿主細胞から得られる細胞膜画分。

【請求項 26】 組換え宿主細胞においてアカゲザルの MC - 5 R タンパク質を発現させる方法であって、

(a) 請求項 3 に記載される発現ベクターを好適な宿主細胞にトランスフェクションすること；および

(b) 前記発現ベクターからのアカゲザルの MC - 5 R タンパク質の発現を可能にする条件下で工程 (a) の宿主細胞を培養することを含む方法。

【請求項 27】 配列番号 2 において 3 文字表記で示されているアミノ酸配列を含む【化 5】

M N S S F H L H F L D L N L N A T E G N L S G P S V R N K S S P C E N
M G M A V E V F L T L G A I S L V E N I L V I G A I V K N K N L H C P
M Y F F V C S L A V A D M L V S M S N A W E T I T I Y L L N N K H L V
I A D A F V R H I D N V F D S M I C I S V V A S M C S L L A I A V D R
Y V T V F Y A L R Y H H I M T A R R S G A I I A G I W A F C T G C G I
V F I L Y S E S T Y V I L C L I S M F F T M L F L L V C L Y I H M F L
L A R T H A K R M A A L P G A S S A R Q R T S V Q G A V T L T M L L G
V F I V C W A P F F L H L I L M L S C P Q N L Y C S C F M S H F N M Y
L I L I M C N S V V D P L I Y A F R S R E M R K T F K E I I C C R G F
R I A C S C P G R D

のアミノ酸配列を含むアカゲザルの精製されたメラノコルチン 5 受容体タンパク質。

【請求項 28】 配列番号 2 に示されているアミノ酸配列からなるアカゲザルの精製されたメラノコルチン 5 受容体タンパク質。

【請求項 29】 物質が r h M C - 5 R に結合し得るかどうかを明らかにする方法であって、

(a) 細胞内における r h M C - 5 R の発現を導く発現ベクターで細胞をトランスフェクションすることによって試験細胞を提供すること；

(b) 前記試験細胞を前記物質に曝すこと；

(c) r h M C - 5 R に対する前記物質の結合量を測定すること；

(d) 前記試験細胞における r h M C - 5 R に対する前記物質の結合量を、r h M C - 5 R でトランスフェクションされていないコントロール細胞に対する前記物質の結合量と比較すること

を含む方法。

【請求項 30】 物質が r h M C - 5 R を活性化し得るかどうかを明らかにする方法であって、

(a) 細胞内における r h M C - 5 R の発現を導く発現ベクターで細胞をトランスフェクションすることによって試験細胞を提供すること；

(b) 前記試験細胞を前記物質に曝すこと；

(c) 蓄積した細胞内 c A M P の量を測定すること；

(d) 前記物質に応答した前記試験細胞における c A M P の量を、前記物質に曝されていない試験細胞における c A M P の量と比較すること

を含む方法。

【請求項 31】 M C - 5 R 受容体活性を調節する物質を同定する方法であって、

(a) 配列番号 2 に示されるアミノ酸配列を含む M C - 5 R 受容体タンパク質の存在下および非存在下で試験物質と一緒にすること；および

(b) M C - 5 R 受容体タンパク質の存在下および非存在下における前記試験物質の作用を測定して比較すること

を含む方法。

【請求項 32】 物質が M C - 5 R の潜在的なアゴニストまたはアンタゴニストであるかどうかを明らかにする方法であって、

(a) 細胞内における M C - 5 R の発現を導く請求項 3 に記載される発現ベクターで細胞をトランスフェクションまたは形質転換して、試験細胞を得ること；

(b) M C - 5 R を発現させるために十分な時間にわたって前記試験細胞を生育させること；

(c) 前記物質の存在下および非存在下で M C - 5 R の標識リガンドに前記細胞を曝すこと；

(d) M C - 5 R に対する前記標識リガンドの結合を測定すること

を含む方法であって、この場合、前記標識リガンドの結合量が、前記物質の存在下におい

て、前記物質の非存在下のときよりも少ない場合、前記物質は、MC-5Rの潜在的なアゴニストまたはアンタゴニストである、方法。

【請求項33】 物質がMC-5Rに結合し得るかどうかを明らかにする方法であって、

(a) 細胞内におけるMC-5Rの発現を導く請求項3に記載される発現ベクターで細胞をトランスフェクションまたは形質転換して、試験細胞を得ること；

(b) 前記試験細胞を前記物質に曝すこと；

(c) MC-5Rに対する前記物質の結合量を測定すること；

(d) 前記試験細胞におけるMC-5Rに対する前記物質の結合量を、MC-5Rでトランスフェクションされていないコントロール細胞に対する前記物質の結合量と比較すること

を含む方法であって、この場合、前記物質の結合量が、コントロール細胞と比較して前記試験細胞において大きい場合、前記物質はMC-5Rに結合し得る、方法。

【請求項34】 物質がMC-5Rに結合し得るかどうかを明らかにする方法であって、

(a) 細胞内におけるMC-5Rの発現を導く請求項3に記載される発現ベクターで細胞をトランスフェクションまたは形質転換して、試験細胞を得ること；

(b) 前記試験細胞からMC-5Rを含む膜を調製して、リガンドが前記膜内のMC-5Rに結合するような条件下で前記膜をMC-5Rのリガンドに曝すこと；

(c) 工程(b)に引き続き、あるいは工程(b)と同時に、前記試験細胞から得られた膜を物質に曝すこと；

(d) 前記物質の存在下および非存在下において前記膜内のMC-5Rに対する前記リガンドの結合量を測定すること；

(e) 前記物質の存在下および非存在下において前記膜内のMC-5Rに対する前記リガンドの結合量を比較すること

を含む方法であって、この場合、前記物質の存在下における前記膜内のMC-5Rに対する前記リガンドの結合量の減少は、前記物質がMC-5Rに結合し得ることを示す、方法。

【請求項35】 物質がMC-5Rに結合し得るかどうかを明らかにする方法であって、

(a) 細胞内におけるMC-5Rの発現を導く請求項3に記載される発現ベクターで細胞をトランスフェクションまたは形質転換して、試験細胞を得ること；

(b) 前記試験細胞からMC-5Rを含む膜を調製して、前記試験細胞から得られた膜を前記物質に曝すこと；

(c) 前記試験細胞から得られた膜内のMC-5Rに対する前記物質の結合量を測定すること；

(d) 前記試験細胞から得られた膜内のMC-5Rに対する前記物質の結合量を、MC-5Rでトランスフェクションされていないコントロール細胞から得られた膜に対する前記物質の結合量と比較すること

を含む方法であって、この場合、前記試験細胞から得られた膜内のMC-5Rに対する前記物質の結合量が、前記コントロール細胞から得られた膜に対する前記物質の結合量よりも大きい場合、前記物質はMC-5Rに結合し得る、方法。

【請求項36】 MC-5Rのアゴニストを同定する方法であって、

(a) MC-5Rの発現を導く請求項3に記載される第1の発現ベクターおよびプロミスカスGタンパク質の発現を導く第2の発現ベクターで細胞をトランスフェクションまたは形質転換して、試験細胞を得ること；

(b) 前記試験細胞を、MC-5Rのアゴニストと考えられる物質に曝すこと；

(c) 細胞内のイノシトールリン酸のレベルを測定すること

を含む方法であって、この場合、アゴニストと考えられる前記物質の非存在下における細胞内のイノシトールリン酸レベルと比較して、細胞内のイノシトールリン酸レベルの増大

は、前記物質がMC-5Rのアゴニストであることを示す、方法。

【請求項37】 MC-5Rのアンタゴニストを同定する方法であって、

(a) MC-5Rの発現を導く請求項3に記載される第1の発現ベクターおよびプロミスカスGタンパク質の発現を導く第2の発現ベクターで細胞をトランスフェクションまたは形質転換して、試験細胞を得ること；

(b) 前記試験細胞を、MC-5Rのアンタゴニストである物質に曝すこと；

(c) 工程(b)に引き続き、あるいは工程(b)と同時に、前記試験細胞を、MC-5Rのアンタゴニストと考えられる物質に曝すこと；

(d) 細胞内のイノシトールリン酸のレベルを測定すること

を含む方法であって、この場合、アンタゴニストと考えられる前記物質の非存在下における細胞内のイノシトールリン酸レベルと比較して、アンタゴニストと考えられる前記物質の存在下における細胞内のイノシトールリン酸レベルの低下は、前記物質がMC-5Rのアンタゴニストであることを示す、方法。

【請求項38】 工程(a)における前記第1および第2の発現ベクターが、MC-5Rタンパク質のC末端においてプロミスカスGタンパク質に融合したキメラMC-5Rタンパク質を発現する単一の発現ベクターに置換されている、請求項37に記載されるMC-5Rのアンタゴニストを同定する方法。

【請求項39】 配列番号2に示されるアミノ酸配列を含むMC-5R受容体タンパク質に特異的に結合する抗体。