

【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4月24日(2014.4.24)

【公表番号】特表2013-521786(P2013-521786A)

【公表日】平成25年6月13日(2013.6.13)

【年通号数】公開・登録公報2013-030

【出願番号】特願2012-557443(P2012-557443)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/09	(2006.01)
C 0 7 K	14/11	(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	1/34	(2006.01)
C 0 7 K	16/10	(2006.01)
A 6 1 K	39/395	(2006.01)
A 6 1 P	31/16	(2006.01)
G 0 1 N	33/15	(2006.01)
G 0 1 N	33/50	(2006.01)
G 0 1 N	37/00	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	15/00	A
C 0 7 K	14/11	Z N A
C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	5/00	1 0 1
C 1 2 Q	1/34	
C 0 7 K	16/10	
A 6 1 K	39/395	S
A 6 1 P	31/16	
A 6 1 K	39/395	D
A 6 1 K	39/395	P
G 0 1 N	33/15	Z
G 0 1 N	33/50	Z
G 0 1 N	37/00	1 0 3

【手続補正書】

【提出日】平成26年3月6日(2014.3.6)

【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】

エンドヌクレアーゼ活性を有するウイルスRNA依存性RNAポリメラーゼのPAサブユニットのアミノ末端断片を含むポリペプチド断片であって、前記PAサブユニットが、

配列番号 2 に示されるインフルエンザ A 2 0 0 9 パンデミック H 1 N 1 ウイルス由来のものであり、N 末端が、配列番号 2 に示される P A サブユニットのアミノ酸配列の 1 位のアミノ酸と同一若しくはこれに対応するものであり、且つ、C 末端が、配列番号 2 に示される P A サブユニットのアミノ酸配列の 1 9 0 位～1 9 8 位から選択される位置のアミノ酸と同一若しくはこれに対応するポリペプチド断片、又は前記ポリペプチド断片の変異体であり、前記変異体は、配列番号 2 に示されるアミノ酸位置 1 8 6 又はそれに対応するアミノ酸位置にアミノ酸セリンを含み、エンドヌクレアーゼ活性を保持している、ポリペプチド断片。

【請求項 2】

可溶性及び／又は結晶化可能なポリペプチド断片である、請求項 1 に記載のポリペプチド断片。

【請求項 3】

ポリペプチド断片は 2 つの二価の陽イオンが結合するものであり、該二価の陽イオンがマンガン及び／又はマグネシウムである、請求項 1 又は 2 に記載のポリペプチド断片。

【請求項 4】

(a) 配列番号 2 に示されるアミノ酸配列のアミノ酸 1 ～ 1 9 8 からなるポリペプチド断片か、若しくは該ポリペプチド断片とアミノ酸配列 M G S G M A (配列番号 3) からなるアミノ末端リンカーを含むポリペプチド断片からなり、(i) 図 1 に示される構造座標、(i i) 図 2 に示される構造座標、(i i i) 図 3 に示される構造座標、(i v) 図 4 に示される構造座標、若しくは(v) 図 5 に示される構造座標によって規定される構造を有するか、又は

(b) 配列番号 2 に示されるアミノ酸配列のアミノ酸 1 ～ 1 9 8 のうち配列番号 2 に示されるアミノ酸配列のアミノ酸 5 2 ～ 6 4 がアミノ酸グリシンによって置き換えられるアミノ酸配列からなるポリペプチド断片、若しくは該ポリペプチド断片とアミノ酸配列 M G S G M A (配列番号 3) からなるアミノ末端リンカーを含むポリペプチド断片からなり、(v i) 図 1 5 に示される構造座標、若しくは(v i i) 図 1 6 に示される構造座標によって規定される構造を有する。

請求項 1 ～ 3 のいずれか一項に記載のポリペプチド断片。

【請求項 5】

(i) によって規定される構造を有するポリペプチド断片が、空間群 C 2 及び $a = 2.6 \text{ nm} \pm 0.5 \text{ nm}$ 、 $b = 6.62 \text{ nm} \pm 0.3 \text{ nm}$ 、 $c = 6.63 \text{ nm} \pm 0.3 \text{ nm}$ 、 $\alpha = 90^\circ$ 、 $\beta = 96^\circ \pm 2^\circ$ 、 $\gamma = 90^\circ$ の単位格子寸法を有する結晶形態を有し、

(i i) ～ (v) によって規定される構造を有するポリペプチド断片が、空間群 P 2 1 2 1 2 1 及び $a = 5.46 \text{ nm} \pm 0.3 \text{ nm}$ 、 $b = 12.25 \text{ nm} \pm 0.4 \text{ nm}$ 、 $c = 13.0 \text{ nm} \pm 0.3 \text{ nm}$ 、 $\alpha = 90^\circ$ 、 $\beta = 90^\circ$ 、 $\gamma = 90^\circ$ の単位格子寸法を有する結晶形態を有し、(v i) によって規定される構造を有するポリペプチド断片が、空間群 P 6 2 2 2 及び $a = 7.50 \text{ nm} \pm 0.3 \text{ nm}$ 、 $b = 7.50 \text{ nm} \pm 0.3 \text{ nm}$ 、 $c = 12.00 \text{ nm} \pm 0.5 \text{ nm}$ 、 $\alpha = 90^\circ$ 、 $\beta = 90^\circ$ 、 $\gamma = 120^\circ$ の単位格子寸法を有する結晶形態を有し、又は

(v i i) によって規定される構造を有する該ポリペプチド断片が、空間群 P 6 4 2 2 及び $a = 9.99 \text{ nm} \pm 0.5 \text{ nm}$ 、 $b = 9.99 \text{ nm} \pm 0.5 \text{ nm}$ 、 $c = 8.27 \text{ nm} \pm 0.3 \text{ nm}$ 、 $\alpha = 90^\circ$ 、 $\beta = 90^\circ$ 、 $\gamma = 120^\circ$ の単位格子寸法を有する結晶形態を有する、請求項 4 に記載のポリペプチド断片。

【請求項 6】

結晶が、2.6 以上、又は 2.1 以上、若しくは 1.9 以上の分解能まで X 線を回折する、請求項 5 に記載のポリペプチド断片。

【請求項 7】

請求項 1 ～ 6 のいずれか一項に記載の単離ポリペプチド断片をコードする単離ポリヌクレオチド。

【請求項 8】

請求項7に記載の単離ポリヌクレオチドを含む組換えベクター。

【請求項 9】

請求項7に記載の単離ポリヌクレオチド又は請求項8に記載の組換えベクターを含む組換え宿主細胞。

【請求項 10】

インフルエンザA 2009パンデミックH1N1ウイルス由来のRNA依存性RNAポリメラーゼのPAサブユニット又はその変異体のエンドヌクレアーゼ活性を調節する化合物を同定する方法であって、

(a) (i) 図1に示される請求項5に記載のポリペプチド断片の構造座標、(ii) 図2に示される請求項5に記載のポリペプチド断片の構造座標、(iii) 図3に示される請求項5に記載のポリペプチド断片の構造座標、(iv) 図4に示される請求項5に記載のポリペプチド断片の構造座標、(v) 図5に示される請求項5に記載のポリペプチド断片の構造座標、(vi) 図15に示される請求項5に記載のポリペプチド断片の構造座標、又は(vii) 図16に示される請求項5に記載のポリペプチド断片の構造座標によって規定される活性部位のコンピュータモデルを構築する工程、

(b) 有望な活性調節化合物を選択する工程であって、

(i) 分子断片を集合化させて前記化合物とすること、

(ii) 小分子に関するデータベースから化合物を選択すること、及び

(iii) 前記化合物の新規リガンドを設計すること、

からなる群から選択される方法によって、有望な活性調節化合物を選択する工程、

(c) 計算手段を利用する工程であって、活性部位における前記化合物のエネルギーを最小化した立体配置を提供するために、前記化合物と前記活性部位とのコンピュータモデル間のフィッティングプログラム操作を行う、計算手段を利用する工程、並びに

(d) 前記フィッティング操作の結果を評価する工程であって、前記化合物と活性部位モデルとの間の会合を定量化することによって前記活性部位と会合する前記化合物の能力を評価する、結果を評価する工程、

を含む、化合物を同定する方法。

【請求項 11】

活性部位が、配列番号2に示されるPAサブユニットのアミノ酸配列のアミノ酸Glu80、Glu119、Asp108、Ile120及びHis41、又はそれに対応するアミノ酸を含む、及び/又は

活性部位が、配列番号2に示されるPAサブユニットのアミノ酸配列のアミノ酸Lys34、Tyr24、Arg84、Phe105、Tyr130、Ile38及びArg124、又はそれに対応するアミノ酸を更に含む、及び/又は

活性部位が、配列番号2に示されるPAサブユニットのアミノ酸配列のアミノ酸Glu26、Lys134、Leu106及びLys137、又はそれに対応するアミノ酸を更に含む、

請求項10に記載の方法。

【請求項 12】

活性部位が、図1～図5に示されるPAサブユニット(配列番号2)のアミノ酸Glu80、Glu119、Asp108、Ile120及びHis41の構造座標によって規定される、又は図15若しくは図16に示される配列番号2のアミノ酸Glu80、Glu119、Asp108、Ile120及びHis41にそれぞれ対応するPAサブユニットのアミノ酸Glu、Glu、Asp、Ile及びHisの構造座標によって規定される、及び/又は

活性部位が、図1～図5に示されるPAサブユニット(配列番号2)のアミノ酸Lys34、Tyr24、Arg84、Phe105、Tyr130、Ile38及びArg124の構造座標によって規定される、又は図15若しくは図16に示される配列番号2のアミノ酸Lys34、Tyr24、Arg84、Phe105、Tyr130、Ile38

及び Arg 124 にそれぞれ対応する PA サブユニットのアミノ酸 Lys、Tyr、Arg、Phe、Tyr、Ile 及び Arg の構造座標によって更に規定される、及び / 又は活性部位が、図 1 ~ 図 5 に示される PA サブユニット（配列番号 2）のアミノ酸 Glu 26、Lys 134、Leu 106 及び Lys 137 の構造座標によって規定される、又は図 15 若しくは図 16 に示される配列番号 2 のアミノ酸 Glu 26、Lys 134、Leu 106 及び Lys 137 にそれぞれ対応する PA サブユニットのアミノ酸 Glu、Lys、Leu 及び Lys の構造座標によって更に規定される、

請求項 11 に記載の方法。

【請求項 13】

(a) 請求項 10 ~ 12 のいずれか一項に記載の方法により化合物を同定する工程、及び
(b) 前記化合物を合成する工程、又は前記化合物を合成し、1つ若しくは複数の薬学的に許容可能な添加物及び / 若しくは担体とともに前記化合物若しくはその薬学的に許容可能な塩を配合する工程、

を含む、化合物を生産する方法、又は

上記 (a) 及び (b) の工程とともに

(c) 化合物と請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載のポリペプチド断片若しくはその変異体又は請求項 9 に記載の組換え宿主細胞とを接触させ、PA サブユニットポリペプチド断片若しくはその変異体のエンドヌクレアーゼ活性を調節する前記化合物の能力を決定する工程、

を更に含む、化合物を生産する方法。

【請求項 14】

インフルエンザ A 2009 パンデミック H1N1 ウイルス由来の RNA 依存性 RNA ポリメラーゼの PA サブユニット又はその変異体のエンドヌクレアーゼ活性を調節する化合物を同定する方法であって、

(i) 請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載のポリペプチド断片若しくはその変異体又は請求項 9 に記載の組換え宿主細胞を試験化合物と接触させる工程、及び

(ii) 前記 PA サブユニットポリペプチド断片又はその変異体のエンドヌクレアーゼ活性を調節する前記試験化合物の能力を分析する工程、

を含む、化合物を同定する方法。

【請求項 15】

PA サブユニットポリペプチド断片又はその変異体のエンドヌクレアーゼ活性を阻害する試験化合物の能力を分析する、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 16】

ハイスループット設定において行う、請求項 14 又は 15 に記載の方法。

【請求項 17】

試験化合物が小分子及び / 又はペプチド若しくはタンパク質である、請求項 14 ~ 16 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 18】

1つ又は複数の薬学的に許容可能な添加物及び / 又は担体とともに化合物又はその薬学的に許容可能な塩を配合する工程を更に含む、請求項 14 ~ 17 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 19】

配列番号 2 に示されるインフルエンザ A 2009 パンデミック H1N1 ウイルスの PA サブユニット又はその変異体の活性部位を認識する抗体であって、前記変異体は、配列番号 2 に示されるアミノ酸位置 186 に又はそれに対応するアミノ酸位置にアミノ酸セリンを含むものである、抗体。

【請求項 20】

抗体が、配列番号 2 に示されるアミノ酸配列の 5 個 ~ 15 個のアミノ酸の長さのポリペプチド断片を認識し、該ポリペプチド断片が、Lys 34、Glu 26、Ile 38、Tyr 24、His 41、Glu 80、Arg 84、Leu 106、Asp 108、Glu

119、Ile120、Tyr130、Lys134、Phe105、Lys137及びArg124からなる群から選択される1つ又は複数のアミノ酸残基を含む、請求項19に記載の抗体。

【請求項21】

オルトミクソウイルス科、ブニヤウイルス科及び／若しくはアレナウイルス科のウイルスによるウイルス感染によって引き起こされるか、又はインフルエンザA2009パンデミックH1N1ウイルスによるウイルス感染によって引き起こされる疾患状態を治療、改善又は予防するための薬剤であって、請求項19若しくは20に記載の抗体を有効成分として含む薬剤。