

【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10月2日 (2014.10.2)

【公表番号】特表2013-544494(P2013-544494A)

【公表日】平成25年12月19日 (2013.12.19)

【年通号数】公開・登録公報2013-068

【出願番号】特願2013-527595(P2013-527595)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 0 7 K 14/47 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 1 2 N 1/19 (2006.01)

C 1 2 Q 1/02 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 P 27/02 (2006.01)

A 6 1 K 31/713 (2006.01)

A 6 1 K 35/44 (2006.01)

A 6 1 K 38/00 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 0 7 K 14/47

C 1 2 N 5/00 1 0 2

C 1 2 N 1/19

C 1 2 Q 1/02

A 6 1 K 48/00

A 6 1 P 27/02

A 6 1 K 31/713

A 6 1 K 35/44

A 6 1 K 37/02

【手続補正書】

【提出日】平成26年8月13日 (2014.8.13)

【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 (C H O P - 2) の 1 - 3 0 9 位置に示されるアミノ酸配列と少なくとも 7 0 % の相同性を有するアミノ酸配列を含み、かつ配列番号 1 において L 1 3 2 に相当する位置での置換を含む光誘起イオンチャネルであって、該置換がチャネルの極性を増加するものである、光誘起イオンチャネル。

【請求項 2】

L 1 3 2 の置換を除いて、配列番号 1 (C H O P - 2) の 1 - 3 0 9 位置に示されるアミノ酸配列を含む、好ましくはからなる、請求項 1 に記載の光誘起イオンチャネルであって、該置換がチャネルの極性を増加するものである、光誘起イオンチャネル。

【請求項 3】

置換が、L 1 3 2 C、L 1 3 2 S、L 1 3 2 E、L 1 3 2 D および L 1 3 2 T から選択

され、好ましくは置換が L 1 3 2 C である、請求項 1 または 2 に記載の光誘起イオンチャネル。

【請求項 4】

a) 光感受性が、海馬ニューロンにおいて W T C H O P - 2 と比較して 5 倍より多く、好ましくは 10 倍より多く、より好ましくは 20 倍より多く、例えば 30 倍より多く、さらにより好ましくは 40 倍より多く、例えば 50 倍より多く、もっとも好ましくは 60 倍より多く、または 70 倍より多く増加する；かつ／または

b) H E K 2 9 3 細胞での F u r a - 2 - イメージングによって測定される、カルシウム伝導度が、W T C H O P - 2 と比較して少なくとも 2 倍、好ましくは少なくとも 3 倍、より好ましくは少なくとも 4 倍増加される；かつ／または

c) 海馬ニューロンにおいて全細胞電気生理学的記録により測定した刺激頻度が、W T C H O P - 2 と比較して、少なくとも 1.5 倍、より好ましくは 2 倍、またはさらにより好ましくは 2.5 倍の増加を示す、

請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の光誘起イオンチャネル。

【請求項 5】

さらに、少なくとも 1 個の以下のアミノ酸残基：配列番号 1 の位置 2 5 3 に対応する位置のアスパラギン酸；配列番号 1 の位置 2 5 7 に対応する位置のリジン；配列番号 1 の位置 2 6 0 に対応する位置のトリプトファン；配列番号 1 の位置 1 2 3 に対応する位置のグルタミン酸；配列番号 1 の位置 1 3 4 に対応する位置のヒスチジンまたはアルギニン、好ましくはアルギニン；配列番号 1 の位置 1 2 8 に対応する位置のトレオニン、セリン、またはアラニン；および／または配列番号 1 の位置 1 5 6 に対応する位置のアラニン、を含む、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の光誘起イオンチャネル。

【請求項 6】

共通モチーフ、L (I) D x x x K x x W (F , Y) を含む、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の光誘起イオンチャネル。

【請求項 7】

請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の光誘起イオンチャネル、およびレチナールまたはレチナール誘導体を含む、チャンネルロドプシンであって、好ましくはレチナール誘導体は 3 , 4 - デヒドロレチナール、1 3 - エチルレチナール、9 - d m - レチナール、3 - ヒドロキシレチナール、4 - ヒドロキシレチナール、ナフチルレチナール；3 , 7 , 1 1 - トリメチル - ドデカ - 2 , 4 , 6 , 8 , 1 0 ペンタエナール；3 , 7 ジメチル - デカ - 2 , 4 , 6 , 8 - テトラエナール；3 , 7 - ジメチル - オクタ - 2 , 4 , 6 - トリエナール；および 6 - 7 回転阻止レチナール、8 - 9 回転阻止レチナール、および 1 0 - 1 1 回転阻止レチナールからなる群から選択される、チャンネルロドプシン。

【請求項 8】

請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の光誘起イオンチャネルをコードする核酸配列を含む、核酸構成体。

【請求項 9】

請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の光誘起イオンチャネルをコードする核酸配列または請求項 8 に記載の核酸構成体を含む発現ベクターであって、好ましくは該ベクターは遺伝子治療、特にウイルス媒介性の遺伝子導入に好適である、発現ベクター。

【請求項 10】

請求項 7 に記載のチャンネルロドプシン、請求項 8 に記載の核酸構成体または請求項 9 に記載の発現ベクターを含む、細胞。

【請求項 11】

哺乳動物細胞または昆虫細胞、または酵母細胞、好ましくはサッカロマイセス・セレビシエ、シゾサッカロミセス・ポンベまたはピチア・パストリスからの酵母細胞である、請求項 10 に記載の細胞。

【請求項 12】

哺乳動物細胞が、

(a) 光受容細胞、網膜桿状体細胞、網膜錐体細胞、網膜神経節細胞、双極ニューロン、神経節細胞、偽単極ニューロン、多極ニューロン、ピラミッド状ニューロン、プルキンエ細胞、または、顆粒細胞；または

(b) メラノーマ細胞、COS細胞；BHK細胞；HEK293細胞；CHO細胞；骨髄腫細胞；またはMDCK細胞、
である、請求項11に記載の細胞

【請求項13】

薬剤としての使用のための、請求項1～6のいずれか1項に記載の光誘起イオンチャネル、または請求項7に記載のチャネルロドプシン、または請求項8に記載の核酸構成体、または請求項9に記載の発現ベクター、または請求項10に記載の細胞。

【請求項14】

遺伝子治療における使用のための、請求項10に記載の発現ベクター。

【請求項15】

失明または視力減少の治療における使用のための、請求項1～6のいずれか1項に記載の光誘起イオンチャネル、または請求項7に記載のチャネルロドプシン、または請求項8に記載の核酸構成体、または請求項9に記載の発現ベクター、または請求項10に記載の細胞。

【請求項16】

がん細胞、好ましくは黒色腫のがん細胞の切除における使用のための、配列番号1の位置128に相当する位置にスレオニン、セリンまたはアラニンを有し、かつ/または配列番号1の位置156に相当する位置にアラニンを有する、請求項5に記載の光誘起イオンチャネル。

【請求項17】

請求項1～6のいずれか1項に記載の光誘起イオンチャネル、または請求項7に記載のチャネルロドプシン、または請求項10に記載の細胞の、高スループットのスクリーニングにおける使用。

【請求項18】

配列番号1 (CHOP-2) の1-309位置に示されるアミノ酸配列と少なくとも70%の相同性を有するアミノ酸配列を含み、かつ配列番号1においてL132に相当する位置での置換を含む光誘起イオンチャネルであって、該置換がチャネルの極性を増加し、HEK293細胞でのFura-2-イメージングによって測定されるカルシウム伝導度が、WT CHOP-2と比較して少なくとも2倍増加されるものである、光誘起イオンチャネル。

【請求項19】

配列番号1 (CHOP-2) の1-309位置に示されるアミノ酸配列と少なくとも70%の相同性を有するアミノ酸配列を含み、かつ配列番号1においてL132に相当する位置で、L132C、L132S、L132E、L132DおよびL132Tから選択される置換を含む、光誘起イオンチャネル。