

【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17年6月23日(2005.6.23)

【公表番号】特表2004-514459(P2004-514459A)

【公表日】平成16年5月20日(2004.5.20)

【年通号数】公開・登録公報2004-019

【出願番号】特願2002-550090(P2002-550090)

【国際特許分類第7版】

C 1 2 N 9/50

C 1 2 Q 1/37

G 0 1 N 33/15

G 0 1 N 33/50

【F I】

C 1 2 N 9/50 Z N A

C 1 2 Q 1/37

G 0 1 N 33/15 Z

G 0 1 N 33/50 Z

【手続補正書】

【提出日】平成15年9月4日(2003.9.4)

【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】

リフォールディングされた不活性型HCV NS2/3プロテアーゼを作製する方法であって、  
a) グアニジン-HCl、グアニジン及び尿素からなる群より選択されるカオトロピック試薬の存在下で前記プロテアーゼを単離する工程；

b) 濃度を低下させた前記カオトロピック試薬又は極性添加物の存在下で還元試薬及びラウリルジエチルアミンオキシド(LDAO)と接触させることによって前記単離プロテアーゼをリフォールディングさせる工程であって、前記LDAOの最終濃度が臨界ミセル濃度以上であり、前記カオトロピック試薬又は前記極性添加物がグアニジン、グアニジン-HCl、尿素及びアルギニン-HClからなる群より選択され、前記還元試薬がTCEP及びDTTからなる群より選択され、前記NS2/3プロテアーゼが完全長NS2/3プロテアーゼ又はN末端残基としてアミノ酸810～アミノ酸906のいずれか一つを有するNS2/3プロテアーゼ短縮片である前記工程；を含む前記方法。

【請求項2】

NS2/3プロテアーゼが、HCV 1b-40完全長NS2/3プロテアーゼの904～1206残基の最小アミノ酸配列を有する、請求項1記載の方法。

【請求項3】

NS2/3プロテアーゼが、配列番号10によって規定する短縮NS2/3プロテアーゼからなる、請求項2記載の方法。

【請求項4】

c) 請求項1で定義するリフォールディングされた不活性型NS2/3プロテアーゼを活性化界面活性剤を含む媒体中に希釈し、前記NS2/3プロテアーゼの自己切断を誘導する工程であって、LDAOの最終濃度が0.1%以下に希釈され、前記活性化界面活性剤がCHAPS、トライトンX-100、NP-40及びn-ドデシル-D-マルトシドからなる群より選択されて最終濃度0.

1%～1%である前記工程：を含む活性型NS2/3プロテアーゼを作製する方法。

【請求項5】

NS2/3プロテアーゼの自己切断活性を測定する方法であって、

d)請求項4の方法によって作製した活性型NS2/3プロテアーゼを、NS2/3プロテアーゼの自己切断を誘導して切断生成物又はそのフラグメントを作製するのに十分な時間インキュベートすること；及び

e)未切断NS2/3プロテアーゼ、切断生成物又はそのフラグメントの有無を測定すること；を含む前記方法。

【請求項6】

活性型NS2/3プロテアーゼの自己切断活性の潜在的阻害剤をスクリーニングするアッセイであって、

潜在的阻害剤の存在下又は非存在下で、請求項5記載の方法を行うこと；

潜在的阻害剤の存在下又は非存在下で、未切断NS2/3プロテアーゼ、切断生成物又はそのフラグメントの量を比較すること；を含む前記アッセイ。

【請求項7】

完全長NS2/3プロテアーゼ又はN末端残基としてアミノ酸810～アミノ酸906のいずれか一つを有するNS2/3プロテアーゼ短縮片からなる、単離ポリペプチド。

【請求項8】

HCV 1b-40完全長NS2/3プロテアーゼの904～1206残基の最小アミノ酸配列を有するHCV NS2/3プロテアーゼ短縮片からなる、単離ポリペプチド。

【請求項9】

配列番号4又は10によって規定する短縮NS2/3プロテアーゼからなる、単離ポリペプチド。

【請求項10】

配列番号11、12、13、14及び15によって規定する配列からなる群より選択される短縮NS2/3プロテアーゼからなる、単離ポリペプチド。

【請求項11】

完全長NS2/3プロテアーゼ、NS2/3プロテアーゼ短縮片又は配列番号2、4、10、11、12、13、14及び15によって規定する配列より選択される単離HCV NS2/3プロテアーゼを含む組成物であって、前記プロテアーゼが自己切断を阻害するのに十分な濃度のLDAOを含む溶液中に存在する前記組成物。