

【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8月10日(2006.8.10)

【公表番号】特表2002-519060(P2002-519060A)

【公表日】平成14年7月2日(2002.7.2)

【出願番号】特願2000-558201(P2000-558201)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

A 6 1 K 31/7088 (2006.01)

A 6 1 K 39/395 (2006.01)

A 6 1 K 45/00 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

C 0 7 K 14/47 (2006.01)

C 0 7 K 16/18 (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)

A 6 1 K 38/00 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

G 0 6 F 17/30 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

A 6 1 K 31/7088

A 6 1 K 39/395 D

A 6 1 K 39/395 N

A 6 1 K 45/00

A 6 1 K 48/00

A 6 1 P 43/00 1 1 1

C 0 7 K 14/47

C 0 7 K 16/18

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

A 6 1 K 37/02

C 1 2 N 5/00 A

G 0 6 F 17/30 1 7 0 F

【手続補正書】

【提出日】平成18年6月15日(2006.6.15)

【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】ヘテロマーカリウムチャンネルのサブユニットを含むポリペプチドモノマーをコードする、単離された核酸であって、該ポリペプチドモノマーは、以下：

(i) 少なくとも1つのさらなるKvサブユニットとともに、電位ゲート制御の特徴

を有するヘテロマーカリウムチャネルを形成する能力を有し；

( i i ) K v 6 . 2 サブユニット会合領域に対して約 7 0 % を超えるアミノ酸配列同一性を有するモノマーサブユニット会合領域を有し；そして

( i i i ) 配列番号 1 または配列番号 1 7 に対して生成されたポリクローナル抗体に特異的に結合する、単離された核酸。

【請求項 2】 前記核酸がヒト K v 6 . 2 をコードする、請求項 1 に記載の単離された核酸。

【請求項 3】 前記核酸がマウス K v 6 . 2 をコードする、請求項 1 に記載の単離された核酸。

【請求項 4】 前記核酸が、配列番号 1 または配列番号 1 7 をコードする、請求項 1 に記載の単離された核酸。

【請求項 5】 前記核酸が、配列番号 2 または配列番号 1 8 のヌクレオチド配列を有する、請求項 1 に記載の単離された核酸。

【請求項 6】 前記核酸が、以下：

【化 1】

ATGCCCATGTCTTCCAGAGACAGG ( 配列番号 3 ),  
 GATGTCTAGAGGGAGTTACATGTAGCG ( 配列番号 4 ) および  
 GGCCTACGCATCCTCTACGTAATGCGC ( 配列番号 5 ),  
 GATGATGGCCCACCAATAGGATGCGG ( 配列番号 6 ) および  
 ATGCCCATGCCTTCCAGAGACGG ( 配列番号 7 ),  
 TTACATGTGCATGATAGGCAAGGCTG ( 配列番号 8 ) および  
 GTCCAGGCCCAAGACAAGTGTCAG ( 配列番号 9 ),  
 GGGAGAAGGTGTGGAAGATAGACG ( 配列番号 10 ).

からなる群より選択されるプライマーセットと同じ配列に対して、ストリンジェントなハイブリゼーション条件下で選択的にハイブリダイズするプライマーによって増幅される、請求項 1 に記載の単離された核酸。

【請求項 7】 前記核酸が、約 5 3 k D a と約 6 5 k D a との間の分子量を有するポリペプチドモノマーをコードする、請求項 1 に記載の単離された核酸。

【請求項 8】 ヘテロマーカリウムチャネルの サブユニットを含むポリペプチドモノマーをコードする、単離された核酸であって、該ポリペプチドモノマーは、以下：

( i ) 少なくとも 1 つのさらなる K v サブユニットとともに、電位ゲート制御の特徴を有するヘテロマーカリウムチャネルを形成する能力を有し；

( i i ) K v 6 . 2 S 4 - S 6 領域に対して約 8 5 % を超えるアミノ酸配列同一性を有する S 4 - S 6 領域を有し；そして

( i i i ) 配列番号 1 または配列番号 1 7 に対して生成されたポリクローナル抗体に特異的に結合する、単離された核酸。

【請求項 9】 配列番号 2 または配列番号 1 8 に対してストリンジェントな条件下で特異的にハイブリダイズするポリペプチドモノマーをコードする、単離された核酸。

【請求項 1 0】 前記核酸が、配列番号 2 または配列番号 1 8 のヌクレオチド配列に対して、中程度のストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で、選択的にハイブリダイズする、請求項 1 または 8 に記載の単離された核酸。

【請求項 11】 ヘテロマーカリウムチャンネルの サブユニットを含む、単離されたポリペプチドモノマーであって、該ポリペプチドモノマーは、以下：

(i) 少なくとも1つのさらなるKv サブユニットとともに、電位ゲート制御の特徴を有するヘテロマーカリウムチャンネルを形成する能力を有し；

(ii) Kv6.2 サブユニット会合領域に対して70%を超えるアミノ酸配列同一性を有するモノマーサブユニット会合領域を有し；そして

(iv) 配列番号1または配列番号17に対して生成されたポリクローナル抗体に特異的に結合する、単離されたポリペプチドモノマー。

【請求項 12】 前記ポリペプチドモノマーがヒトKv6.2のアミノ酸配列を有する、請求項11に記載の単離されたポリペプチドモノマー。

【請求項 13】 前記ポリペプチドモノマーがマウスKv6.2のアミノ酸配列を有する、請求項11に記載の単離されたポリペプチドモノマー。

【請求項 14】 前記ポリペプチドモノマーが配列番号1または配列番号17のアミノ酸配列を有する、請求項11に記載の単離されたポリペプチドモノマー。

【請求項 15】 ヘテロマーカリウムチャンネルの サブユニットを含む、単離されたポリペプチドモノマーであって、該ポリペプチドモノマーは、以下：

(i) 少なくとも1つのさらなるKv サブユニットとともに、電位ゲート制御の特徴を有するヘテロマーカリウムチャンネルを形成する能力を有し；

(ii) Kv6.2 S4-S6領域に対して85%を超えるアミノ酸配列同一性を有するS4-S6領域を有し；そして

(iii) 配列番号1または配列番号17に対して生成されたポリクローナル抗体に特異的に結合する、単離されたポリペプチドモノマー。

【請求項 16】 請求項11または請求項15に記載のポリペプチドモノマーに選択的に結合する、抗体。

【請求項 17】 前記ポリペプチドモノマーが、配列番号1または配列番号17のアミノ酸配列を有する、請求項16に記載の抗体。

【請求項 18】 請求項1に記載の核酸を含む、発現ベクター。

【請求項 19】 請求項18に記載のベクターを用いてトランスフェクトされた、宿主細胞。

【請求項 20】 ヘテロマー電位ゲート制御カリウムチャンネルを通じたイオンフラックスを増加もしくは減少させる化合物を同定するための方法であって、該方法は、以下の工程：

(i) 該化合物を、真核生物宿主細胞または細胞膜に接触させる工程であって、該宿主細胞もしくは細胞膜において、ヘテロマーカリウムチャンネルの サブユニットを含むポリペプチドモノマーが発現されており、ここで、該ポリペプチドモノマーは、以下：

(a) 少なくとも1つのさらなるKv サブユニットとともに、電位ゲート制御の特徴を有するヘテロマーカリウムチャンネルを形成する能力を有し；

(b) Kv6.2 サブユニット会合領域に対して70%を超えるアミノ酸配列同一性を有するモノマーサブユニット会合領域を有し；そして

(c) 配列番号1または配列番号17に対して生成されたポリクローナル抗体に特異的に結合する、工程；ならびに

(ii) カリウムチャンネルを発現する、該細胞または細胞膜に対する該化合物の機能的効果を決定する工程、を包含する、方法。

【請求項 21】 前記イオンフラックスの増加または減少が、電流または電位の変化を測定することによって決定される、請求項20に記載の方法。

【請求項 22】 前記カリウムチャンネルモノマーポリペプチドが組換え体である、請求項20に記載の方法。

【請求項 23】 前記カリウムチャンネルモノマーポリペプチドが、ヒト K v 6 . 2 である、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 24】 前記カリウムチャンネルモノマーポリペプチドが、マウス K v 6 . 2 である、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 25】 前記カリウムチャンネルモノマーポリペプチドが、配列番号 1 または配列番号 17 のアミノ酸配列を有する、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 26】 ヘテロマー電位ゲート制御カリウムチャンネルを通じたイオンフラックスを増加もしくは減少させる化合物を同定するための方法であって、該方法は、以下の工程：

( i ) 該化合物を、真核生物宿主細胞または細胞膜に接触させる工程であって、該宿主細胞もしくは細胞膜において、ヘテロマーカリウムチャンネルの サブユニットを含むポリペプチドモノマーが発現されており、ここで、該ポリペプチドモノマーは、以下：

( a ) 少なくとも 1 つのさらなる K v サブユニットとともに、電位ゲート制御の特徴を有するヘテロマーカリウムチャンネルを形成する能力を有し；

( b ) K v 6 . 2 S 4 - S 6 領域に対して 85 % を超えるアミノ酸配列同一性を有する S 4 - S 6 領域を有し；そして

( c ) 配列番号 1 または配列番号 17 に対して生成されたポリクローナル抗体に特異的に結合する、工程；ならびに

( i i ) 該カリウムチャンネルを発現する、該細胞または細胞膜に対する該化合物の機能的効果を決定する工程、を包含する、方法。

【請求項 27】 K v 6 . 2 の存在を哺乳動物組織において検出する方法であって、該方法は、以下の工程：

( i ) 哺乳動物から単離された生物学的サンプルを、K v 6 . 2 と選択的に会合する K v 6 . 2 特異的試薬と接触させる工程；および

( i i ) 該サンプルと選択的に会合した K v 6 . 2 特異的試薬のレベルを検出する工程、を包含する、方法。

【請求項 28】 前記 K v 6 . 2 特異的試薬が、K v 6 . 2 特異的抗体、K v 6 . 2 特異的オリゴヌクレオチドプライマー、および K v 6 . 2 核酸プローブからなる群より選択される、請求項 27 に記載の方法。

【請求項 29】 前記サンプルがヒト由来である、請求項 27 に記載の方法。

【請求項 30】 コンピュータシステムにおいて、ヒト K v 6 . 2 遺伝子の変異についてスクリーニングする方法であって、該方法は、以下の工程：

( i ) 該コンピュータに、配列番号 2 のヌクレオチド配列、配列番号 18 のヌクレオチド配列、およびそれらの保存的改変版を有する電位ゲート制御カリウムチャンネルポリペプチドモノマーをコードする第一の核酸配列を入力する工程；

( i i ) 該第一の核酸配列と、該第一の核酸配列と実質的な同一性を有する第二の核酸配列とを比較する工程；および

( i i i ) 該第一の核酸配列と該第二の核酸配列との間のヌクレオチドの相違を同定する工程、を包含する、方法。

【請求項 31】 前記第二の核酸配列が、疾患状態に関連する、請求項 30 に記載の方法。

【請求項 32】 コンピュータシステムにおいて、K v 6 . 2 ポリペプチドモノマーの三次元構造を同定するための方法であって、該方法は、以下の工程：

( i ) 該コンピュータシステムに、カリウムチャンネルポリペプチドモノマーの少なくとも 25 アミノ酸のアミノ酸配列または該ポリペプチドモノマーをコードする遺伝子の少なくとも 75 ヌクレオチドを入力する工程であって、該ポリペプチドモノマーは、配列番号 1、配列番号 17 のアミノ酸配列またはそれらの保存的改変版を有する、工程；ならびに

( i i ) 該アミノ酸配列によってコードされるポリペプチドモノマーの三次元構造を生成する工程、  
を包含する、方法。

【請求項 3 3】 前記アミノ酸配列が一次構造であり、ここで、前記生成工程が、以下の工程：

( i ) 該一次構造から決定されるエネルギー項を用いて、該一次構造から二次構造を形成する工程；および

( i i ) 該二次構造から決定されるエネルギー項を用いて、該二次構造から三次構造を形成する工程、  
を包含する、請求項 3 2 に記載の方法。

【請求項 3 4】 前記生成工程が、前記三次構造によって決定される非等方性項を用いて、該三次構造から四次構造を形成する工程をさらに包含する、請求項 3 3 に記載の方法。

【請求項 3 5】 リガンドに結合する、K v 6 . 2 カリウムチャネルタンパク質の三次元構造の領域を同定する工程、および該領域を用いて該カリウムチャネルタンパク質に結合するリガンドを同定する工程、  
をさらに包含する、請求項 3 1 に記載の方法。