

【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20年5月1日(2008.5.1)

【公表番号】特表2004-513608(P2004-513608A)

【公表日】平成16年5月13日(2004.5.13)

【年通号数】公開・登録公報2004-018

【出願番号】特願2001-565728(P2001-565728)

【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 0 7 K 19/00 (2006.01)

C 1 2 M 1/00 (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 1/68 (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)

G 0 1 N 37/00 (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 0 7 K 19/00

C 1 2 M 1/00 A

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 Q 1/68 A

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 33/53 M

G 0 1 N 33/566

G 0 1 N 37/00 1 0 2

C 1 2 N 15/00 F

C 1 2 N 5/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成20年3月6日(2008.3.6)

【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】 以下から選択される核酸配列：

(i) 味覚受容体ポリペプチドをコードする遺伝子であって、配列番号 20 もしくは配列番号 13 に含有されるか、または配列番号 20 もしくは配列番号 13 に含有される核酸配列にストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下でハイブリダイズする、遺伝子；

(i i) 配列番号 4 または配列番号 14 に含有される T1R3 味覚受容体ポリペプチドに少なくとも 90% は同一である味覚受容体ポリペプチドをコードする核酸配列；

(i i i) (i) または (i i) に記載される味覚受容体遺伝子の膜貫通領域または細胞外領域をコードする核酸配列。

【請求項 2】 以下から選択される核酸配列：

(i) 配列番号 15 もしくは配列番号 16 に含有されるか、または配列番号 15 もしくは配列番号 16 に含有される核酸配列にストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下でハイブリダイズする、味覚受容体遺伝子；

(i i) 配列番号 17 に含有される T1R1 味覚受容体ポリペプチドに少なくとも 90% は同一である味覚受容体ポリペプチドをコードする核酸配列；

(i i i) (i) または (i i) に記載される味覚受容体遺伝子の膜貫通領域または細胞外領域をコードする核酸配列。

【請求項 3】 請求項 1 または 2 に記載の核酸配列によってコードされる味覚受容体ポリペプチド。

【請求項 4】 標識または検出可能な部位に付着した請求項 3 記載の味覚受容体ポリペプチド。

【請求項 5】 固相に付着した請求項 3 記載の味覚受容体ポリペプチド。

【請求項 6】 請求項 1 または 2 に記載の核酸配列によってコードされる味覚受容体ポリペプチドを発現する組換え細胞。

【請求項 7】 バクテリア細胞、酵母細胞、アフリカツメガエル卵母細胞および哺乳動物細胞から選択される請求項 6 記載の細胞。

【請求項 8】 CHO 細胞、HEK 細胞、COS 細胞または BHK 細胞である請求項 7 記載の細胞。

【請求項 9】 さらに G タンパク質を発現する請求項 6 記載の細胞。

【請求項 10】 該ポリペプチドが細胞表面上に発現される請求項 6 記載の細胞。

【請求項 11】 該味覚受容体ポリペプチドの産生および単離のための請求項 6 記載の細胞を使用する方法。

【請求項 12】 味覚を調節する化合物のスクリーニング方法であって：

(i) 化合物と、味覚刺激に応答する請求項 3 記載の味覚受容体ポリペプチドとを接触させ；そして

(i i) 該化合物が、該味覚受容体に結合するかどうかおよび / または該味覚受容体の活性に影響するかどうかを測定する、
工程を含む、方法。

【請求項 13】 請求項 3 記載の味覚受容体ポリペプチドへの化合物の結合および / または化合物による請求項 3 記載の味覚受容体ポリペプチドの活性化を増大または阻害する化合物のスクリーニング方法であって：

(i) 該味覚受容体ポリペプチドと該化合物とを接触させ、そして該味覚受容体ポリペプチドとそれに特異的に結合するリガンドとをさらに接触させ；そして

(i i) 該味覚受容体ポリペプチドへの該リガンドの結合および / または該味覚受容体ポリペプチドの活性に対する該化合物の効果を測定する、
工程を含む、方法。

【請求項 14】 味覚受容体ポリペプチドが膜上に構成される請求項 12 または 13 に記載の方法。

【請求項 15】 味覚受容体ポリペプチドが細胞によって発現される請求項 12 また

は 13 に記載の方法。

【請求項 16】 細胞が、バクテリア細胞、酵母細胞、昆虫細胞、哺乳動物細胞、両生類の細胞および寄生虫細胞からなる群から選択される、請求項 15 記載の方法。

【請求項 17】 味覚受容体ポリペプチドが哺乳動物細胞によって発現される請求項 5 記載の方法。

【請求項 18】 哺乳動物細胞が、CHO 細胞、HeLa 細胞および HEK-293 細胞からなる群から選択される、請求項 17 記載の方法。

【請求項 19】 味覚受容体ポリペプチドが固相に連結している請求項 12 または 13 に記載の方法。

【請求項 20】 味覚受容体ポリペプチドが、該受容体に共有結合している細胞外ドメインを含む、請求項 12 または 13 に記載の方法。

【請求項 21】 味覚受容体ポリペプチドが、該受容体に共有結合している細胞外ドメインを含む、請求項 12 または 13 に記載の方法。

【請求項 22】 細胞が、該味覚受容体ポリペプチドに結合する G タンパク質をさらに発現する、請求項 15 記載の方法。

【請求項 23】 G タンパク質が G₁₅ または G₁₆ である請求項 22 記載の方法。

【請求項 24】 該味覚受容体の活性が、細胞内 Ca^{2+} レベルにおける変化を検出することによって測定される、請求項 12 または 13 に記載の方法。

【請求項 25】 Ca^{2+} レベルが、イオン感受性色素または膜電圧蛍光指示物質を用いて検出される、請求項 21 記載の方法。

【請求項 26】 味覚受容体活性が、蛍光偏光における変化をモニターすることによって検出される、請求項 12 または 13 に記載の方法。

【請求項 27】 味覚受容体活性が、第 2 メッセンジャーレベルにおける変化を検出することによって測定される、請求項 1 記載の方法。

【請求項 28】 第 2 メッセンジャーが IP₃ である請求項 27 記載の方法。

【請求項 29】 味覚受容体活性が、細胞内の環状ヌクレオチドにおける変化を検出することによって測定される、請求項 12 または 13 に記載の方法。

【請求項 30】 環状ヌクレオチドが cAMP または cGMP である請求項 29 記載の方法。

【請求項 31】 味覚受容体活性が、蛍光イメージングによって Ca^{2+} レベルにおける変化を測定することによって検出される、請求項 12 または 13 に記載の方法。

【請求項 32】 味覚受容体活性における変化が、GTP_S の G タンパク質結合における変化を測定することによって検出される、請求項 12 または 13 に記載の方法。

【請求項 33】 高処理のスクリーニングアッセイである請求項 1 記載の方法。

【請求項 34】 味覚受容体ポリペプチドが、配列番号 4 または配列番号 14 に含有される T1R3 ポリペプチドに少なくとも 95%、96%、97%、98% または 99% は同一である、請求項 12 または 13 に記載の方法。

【請求項 35】 味覚受容体ポリペプチドが、配列番号 17 に含有される T1R1 ポリペプチドに少なくとも 95%、96%、97%、98% または 99% は同一である、請求項 12 または 13 に記載の方法。

【請求項 36】 味覚受容体ポリペプチドとそれに結合する G タンパク質を発現する細胞を用いる請求項 34 または 35 に記載の方法。

【請求項 37】 ヒト T1R3 ポリペプチドと少なくとも 90% の配列同一性または配列番号 9、13 もしくは 20 に含有される核酸配列によってコードされる T1R3 ポリペプチドの対応する断片または配列番号 4、10 もしくは 14 に含有されるヒト T1R3 ポリペプチド配列あるいはその一部に対して 90% を有するポリペプチド配列またはその断片を含有するヒトまたは齧歯類の T1R3 ポリペプチドを含む味覚受容体であって、

該 T1R3 ポリペプチドまたはその断片を含有するこのような味覚受容体は、配列番号 4、10 または 14 に含有される天然のヒトまたは齧歯類の T1R3 ポリペプチドを含有

する味覚受容体に特異的に結合するおよび／またはその機能を調節するリガンドに特異的に結合するおよび／または機能的に応答する、味覚受容体。

【請求項 38】 ヒト T1R3 ポリペプチドが、配列番号 4 に含有されるかまたは配列番号 20 によってコードされる核酸配列によってコードされるヒト T1R3 ポリペプチドと少なくとも 95 % の配列同一性を有する、請求項 37 記載の味覚受容体。

【請求項 39】 ヒト T1R3 ポリペプチドが、配列番号 4 に含有されるかまたは配列番号 20 によってコードされる核酸配列によってコードされるヒト T1R3 ポリペプチドと少なくとも 96 % の配列同一性を有する、請求項 37 記載の味覚受容体。

【請求項 40】 ヒト T1R3 ポリペプチドが、配列番号 4 に含有されるかまたは配列番号 20 によってコードされる核酸配列によってコードされるヒト T1R3 ポリペプチドと少なくとも 97 % の配列同一性を有する、請求項 37 記載の味覚受容体。

【請求項 41】 ヒト T1R3 ポリペプチドが、配列番号 4 に含有されるかまたは配列番号 20 によってコードされる核酸配列によってコードされるヒト T1R3 ポリペプチドと少なくとも 98 % の配列同一性を有する、請求項 37 記載の味覚受容体。

【請求項 42】 ヒト T1R3 ポリペプチドが、配列番号 4 に含有されるかまたは配列番号 20 によってコードされる核酸配列によってコードされるヒト T1R3 ポリペプチドと少なくとも 99 % の配列同一性を有する、請求項 37 記載の味覚受容体。

【請求項 43】 ヒト T1R3 ポリペプチドが、配列番号 4 に含有される核酸配列によってコードされるヒト T1R3 ポリペプチドと 100 % の配列同一性を有する、請求項 37 記載の味覚受容体。

【請求項 44】 請求項 37 ~ 43 のいずれか一項に記載のヒトまたは齧歯類の T1R3 ポリペプチドをコードする核酸配列。

【請求項 45】 検出可能な標識をコードする配列をさらに含む請求項 44 記載の核酸配列。

【請求項 46】 検出可能な標識が酵素または緑色蛍光ポリペプチドである請求項 45 記載の核酸配列。

【請求項 47】 請求項 44、45 または 46 に記載の核酸配列を含むベクター。

【請求項 48】 プラスミドである請求項 47 記載のベクター。

【請求項 49】 請求項 46、47 または 48 に記載の核酸配列またはベクターを含む組換え細胞。

【請求項 50】 バクテリア細胞、酵母細胞、昆虫細胞またはアフリカツメガエルの細胞である請求項 49 記載の組換え細胞。

【請求項 51】 哺乳動物細胞である請求項 50 記載の組換え細胞。

【請求項 52】 HEK 細胞、CHO 細胞、COS 細胞および BHK 細胞から選択される請求項 51 記載の組換え細胞。

【請求項 53】 G タンパク質も発現する請求項 49、50、51 または 52 に記載の組換え細胞。

【請求項 54】 G タンパク質が G15 または G16 である請求項 53 記載の組換え細胞。

【請求項 55】 該ヒト T1R3 ポリペプチドに結合またはその機能を調節するリガンドの検出を提供する標識を発現する請求項 49 ~ 53 のいずれか一項に記載の組換え細胞。

【請求項 56】 標識が、放射性核種、フルオロフォア、酵素または緑色蛍光ポリペプチドである、請求項 55 記載の組換え細胞。

【請求項 57】 請求項 37 ~ 43 のいずれか一項に記載のヒトまたは齧歯類 T1R3 ポリペプチドを含む受容体に特異的に結合するおよび／または該受容体へのリガンドの特異的結合を調節するリガンド化合物を検出するアッセイ。

【請求項 58】 ヒトまたは齧歯類の T1R3 ポリペプチドが組換え細胞によって発現される請求項 57 記載のアッセイ。

【請求項 59】 細胞が、哺乳動物細胞、昆虫細胞、酵母細胞、バクテリア細胞またはアフリカツメガエルの細胞である、請求項 58 記載のアッセイ。

【請求項 60】 細胞が哺乳動物細胞である請求項 59 記載のアッセイ。

【請求項 61】 細胞が、HEK 細胞、CHO 細胞、COS 細胞またはBHK 細胞である、請求項 60 記載のアッセイ。

【請求項 62】 細胞がGタンパク質をさらに発現する請求項 58 記載のアッセイ。

【請求項 63】 Gタンパク質がG 15またはG 16である請求項 62 記載のアッセイ。

【請求項 64】 細胞が、ヒトまたは齧歯類のT1R3ポリペプチドに特異的に結合するまたは該受容体へのリガンドの特異的結合を調節するリガンドの検出を促進する検出可能な標識を含む、請求項 58 記載のアッセイ。

【請求項 65】 標識が、酵素、フルオロフォア、放射性核種または緑色蛍光ポリペプチドである、請求項 64 記載のアッセイ。

【請求項 66】 検出されたりガンドの味覚に対する効果が上昇する次の味覚試験をさらに含む、請求項 58 記載のアッセイ。

【請求項 67】 請求項 37 ~ 43 のいずれか一項に記載のヒトまたは齧歯類のT1R3ポリペプチドを含む受容体の特異的に調節するおよび/または該受容体に対する別のリガンドの効果を調節するリガンド化合物を検出する機能的アッセイ。

【請求項 68】 ヒトまたは齧歯類のT1R3ポリペプチドが組換え細胞によって発現される請求項 67 記載のアッセイ。

【請求項 69】 細胞が、哺乳動物細胞、昆虫細胞、酵母細胞、バクテリア細胞またはアフリカツメガエルの細胞である、請求項 68 記載のアッセイ。

【請求項 70】 細胞が哺乳動物細胞である請求項 69 記載のアッセイ。

【請求項 71】 細胞が、HEK 細胞、CHO 細胞、COS 細胞またはBHK 細胞である請求項 70 記載のアッセイ。

【請求項 72】 細胞がGタンパク質をさらに発現する請求項 68 記載のアッセイ。

【請求項 73】 Gタンパク質がG 15またはG 16である請求項 72 記載のアッセイ。

【請求項 74】 細胞が、ヒトまたは齧歯類のT1R3ポリペプチドの機能的活性を特異的に調節するまたは該活性に対する別のリガンドの効果を調節するリガンドの検出を促進する検出可能な標識を含む、請求項 68 記載のアッセイ。

【請求項 75】 標識が、細胞内イオンを検出する標識である、請求項 64 記載のアッセイ。

【請求項 76】 標識が、カルシウムまたはナトリウムに特異的な色素またはフルオロフォアまたは電圧特異的な色素である、請求項 75 記載のアッセイ。

【請求項 77】 細胞内イオンの量を調節する化合物をスクリーニングする請求項 68 記載のアッセイ。

【請求項 78】 イオンがカルシウムまたはナトリウムである請求項 77 記載のアッセイ。

【請求項 79】 第2メッセンジャーの量を調節する化合物をスクリーニングする請求項 68 記載のアッセイ。

【請求項 80】 ヒトまたは齧歯類のT1R3ポリペプチドのコンフォーメーションを調節する化合物をスクリーニングする請求項 68 記載のアッセイ。

【請求項 81】 自動イメージングまたは電圧検出機器を使用する請求項 68 記載のアッセイ。

【請求項 82】 ヒトまたは齧歯類のT1R3ポリペプチドに結合するGタンパク質を調節する化合物をスクリーニングする請求項 68 記載のアッセイ。

【請求項 83】 検出されたりガンドの味覚に対する効果が上昇する次の味覚試験をさらに含む請求項 68 記載のアッセイ。