

【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2月27日(2014.2.27)

【公表番号】特表2010-536327(P2010-536327A)

【公表日】平成22年12月2日(2010.12.2)

【年通号数】公開・登録公報2010-048

【出願番号】特願2010-519932(P2010-519932)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/09	(2006.01)
C 0 7 K	14/635	(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	1/02	(2006.01)
A 6 1 K	38/00	(2006.01)
A 6 1 P	43/00	(2006.01)
A 6 1 P	19/10	(2006.01)
A 6 1 P	19/08	(2006.01)
A 6 1 P	19/02	(2006.01)
A 6 1 P	7/04	(2006.01)
A 6 1 P	5/18	(2006.01)
A 6 1 P	3/12	(2006.01)
C 4 0 B	30/06	(2006.01)
G 0 1 N	33/15	(2006.01)
G 0 1 N	33/50	(2006.01)
C 1 2 P	21/02	(2006.01)
G 0 1 N	33/84	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	15/00	Z N A A
C 0 7 K	14/635	
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	1/02	
A 6 1 K	37/02	
A 6 1 P	43/00	1 1 1
A 6 1 P	19/10	
A 6 1 P	19/08	
A 6 1 P	19/02	
A 6 1 P	7/04	
A 6 1 P	5/18	
A 6 1 P	3/12	
C 4 0 B	30/06	
G 0 1 N	33/15	Z
G 0 1 N	33/50	Z
C 1 2 P	21/02	C
G 0 1 N	33/84	Z

【誤訳訂正書】**【提出日】**平成26年1月8日(2014.1.8)**【誤訳訂正1】****【訂正対象書類名】**明細書**【訂正対象項目名】**0012**【訂正方法】**変更**【訂正の内容】****【0012】**

第1の局面では、本発明は、候補化合物がGタンパク質共役受容体(GPCR)の長時間作用性アゴニストであるかどうかを決定するための方法を提供する。この方法は、(a) RG形態であるGPCRを化合物と接触させる工程、(b) RG形態のGPCRに対する化合物の親和性を測定する工程、(c) R⁰形態であるGPCRを化合物と接触させる工程、および(d) R⁰形態のGPCRに対する化合物の親和性を測定し、(i) RG形態のGPCRに対して、GPCRに対する内因性アゴニストの少なくとも1% (たとえば5、10、25、30、50、60、75、90、100、125、150、200、150、300、400、500、750、または1000%) の親和性を有し、且つ(ii) R⁰形態のGPCRに対して内因性アゴニストよりも高い親和性 (たとえば1、5、10、25、50、100、200、500、1000、2000、5000、または10,000%高い) を有する化合物を、GPCRの長時間作用性アゴニストとして同定する工程を含む。前記方法は、(e) 候補化合物を動物に投与する工程、および(f) 化合物に対する動物の少なくとも1つの生理的応答を測定する工程をさらに含み得る。受容体はヒト受容体であり得る。GPCRは、セクレチンファミリーの受容体 (たとえば、ヒトPTH/PTHrP受容体などのPTH/PTHrP受容体) であり得る。受容体がカルシウムホメオスタシスまたは輸送に関与するとき、測定工程(b)または(f)は、細胞内または血中カルシウムレベルを測定することによって実施し得る。任意のGPCRに関して、親和性を測定する工程(b)または工程(d)は、競合結合アッセイを用いて実施し得る。競合結合アッセイは、RG形態のGPCRに特異的であるまたはR⁰形態のGPCRに特異的であるリガンドを使用し得る。測定工程(b)は、遅延型(delayed)cAMPアッセイ (たとえば本明細書で述べるような) を用いて実施し得る。R⁰形態のGPCRは、非加水分解性ヌクレオチド類似体 (たとえばGTP S) を用いて増加させ得る。RG形態のGPCRは、ドミナントネガティブGタンパク質を用いて増加させ得る。受容体は、細胞上または膜内に存在し得る。候補化合物は、ペプチドを含み得るかまたは化学物質ライブラリーもしくは天然産物ライブラリー由来であり得る。

【誤訳訂正2】**【訂正対象書類名】**明細書**【訂正対象項目名】**0013**【訂正方法】**変更**【訂正の内容】****【0013】**

もう1つの局面では、本発明はまた、本発明は、候補化合物がGタンパク質共役受容体(GPCR)の短時間作用性アゴニストであるかどうかを決定するための方法を特徴とする。この方法は、(a) RG形態であるGPCRを化合物と接触させる工程、(b) RG形態のGPCRに対する化合物の親和性を測定する工程、(c) R⁰形態であるGPCRを化合物と接触させる工程、および(d) R⁰形態のGPCRに対する化合物の親和性を測定し、(i) RG形態のGPCRに対して、GPCRに対する内因性アゴニストの少なくとも1% (たとえば5、10、25、30、50、60、75、90、100、125、150、200、150、300、400、500、750、または1000%) の親和性を有し、且つ(ii) R⁰形態のGPCRに対して内因性アゴニストよりも低い親和性 (たとえば99、95、90、85、75、65、55、50、40、30、25、15、10、5、1、0.5、0.1、0.05、0.01、0.005、0.001、0.0005、または0.0001%) を有する化合物を、GPCRの短時間作用性アゴニストとして同定する工程を含む。受容体はヒト受容体であり得る。前記方法は、(e) 候補化合物を動物に投与する工程、および(f) 化合物に対する動物の少なくとも1つの生理的応

答を測定する工程をさらに含み得る。GPCRは、セクレチンファミリーの受容体（たとえば、ヒトPTH/PTHrP受容体などのPTH/PTHrP受容体）であり得る。受容体がカルシウムホメオスタシスまたは輸送に関与するとき、測定工程（b）は、細胞内カルシウムレベルを測定することによって実施し得る。任意のGPCRに関して、測定工程（b）または工程（d）は、競合結合アッセイ（たとえば、RG形態のGPCRに特異的であるまたはR⁰形態のGPCRに特異的であるリガンドを使用して）を用いて実施される。測定工程（b）は、遅延型cAMPアッセイを用いて実施し得る。ある種の態様では、R⁰形態のGPCRは、非加水分解性ヌクレオチド類似体（たとえばGTP S）を用いて増加させ得る。RG形態のGPCRは、ドミナントネガティブGタンパク質を用いて増加させ得る。受容体は、細胞上または膜内に存在し得る。候補化合物は、ペプチドを含み得るかまたは化学物質ライブラリーもしくは天然産物ライブラリー由来であり得る。

【誤訳訂正3】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0029

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0029】

GPCRの「RG形態」とは、Gタンパク質が結合している受容体の立体配座を意味する。RG形態のGPCRは、たとえば、GPCRのGタンパク質結合の增加によって誘導され得る。本発明のアッセイでは、RG形態に対する親和性を測定したとき、受容体の少なくとも1%、5%、10%、25%、50%、75%、90%、95%、または99%がRG形態である。

【誤訳訂正4】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0079

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0079】

RG形態のGPCRを安定化するために、ドミナントネガティブGタンパク質が利用できる。これらのタンパク質はGPCRに安定に結合し、それゆえRG立体配座を増加させる。

【誤訳訂正5】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0105

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0105】

次に、PTHおよびPTHrPリガンドがPTHRのRGおよびR⁰受容体立体配座に結合する相対的親和性を分析するために競合的方法を使用した。RGへの結合を評価するため、125I-[Aib1,3,M]PTH(1~15)は、主としてRGに結合するのでこのペプチドをトレーサ放射性リガンドとして使用した。hPTHRと、以前に述べられているように(Dean et al., Mol. Endocrinol. 20:931-943 (2006); Berlot, C.H., J. Biol. Chem. 277:21080-21085 (2002); Dean et al., J. Biol. Chem. 281:32485-32495 (2006))、RおよびR⁰に関連するRGに富むネガティブドミナントG Sサブユニット(G SND)とで共トランスフェクトしたCOS-7細胞から膜を調製した。R⁰への結合を評価するため、125I-PTH(1~34)を放射性リガンド（主としてR⁰に結合する）として使用した。hPTHR単独でトランスフェクトしたCOS-7細胞から膜を調製した。受容体-ヘテロ三量体Gタンパク質複合体を機能的に脱共役し、それによってRGに比べてR⁰（およびR）立体配座を増加させるために、GTP S(1×10⁻⁵)を結合反応物に添加した。次に、リガンドの各々がR⁰とRG PTHR立体配座に結合した選択性を評価するため、いくつかの非標識PTHおよびPTHrPリガンドに関して得られた相対的な見かけ上の親和性を、これら2つのアッセイにおいて比較した。

【誤訳訂正6】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0 1 3 1

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0 1 3 1】

様々な非標識ペプチドリガンドの非Gタンパク質共役およびGタンパク質共役PTHR立体配座（それぞれR⁰およびRG）に結合する能力を評価するため、一過性にトランスフェクトしたCOS-7細胞から以下のアッセイ条件で膜を調製した。R⁰への結合を評価するため、PTHRでトランスフェクトした細胞から膜を調製し、トレーサ放射性リガンドとしての125I-PTH（1～34）、およびGTP S（1×10⁻⁵M）を結合反応物に添加した。この結合形式は、125I-PTH（1～34）が主としてPTHRのR⁰立体配座に結合し、GTP Sの存在により、この立体配座がRGに比べて膜内で増加するという前提に基づく(Hoare et al., J. Biol. Chem. 276:77 41-53 (2001); Dean et al., Mol Endocrinol (2006))。RGへの結合を評価するため、PTH RとネガティブドミナントG Sサブユニット（G SND）で共トランスフェクトした細胞から調製した膜を使用し、125I-[Aib1,3,M] PTH（1～15）をトレーサ放射性リガンドとして使用した。この結合形式は、125I-[Aib1,3,M] PTH（1～15）が主としてPTHRのRG立体配座に結合し、G SNDの存在により、この立体配座がRまたはR⁰に比べて膜内で増加するという前提に基づく(Hoare, S. J. Biol. Chem. (2001); Berlot, C. H. J. Biol. Chem. (2002); Dean, T. et al., J Biol. Chem. (2006))。膜調製物中に存在する任意の低親和性PTHR立体配座（R）への結合の分析は、反応物中の低濃度（約25pM）のトレーサ放射性リガンドによって妨げられる。